

スインプロイク錠 0.2 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.4 薬物動態試験の概要文

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表.....	6
2.6.4 薬物動態の概要文.....	8
2.6.4.1 まとめ.....	8
2.6.4.2 分析法.....	10
2.6.4.2.1 化合物.....	10
2.6.4.2.1.1 非標識化合物.....	10
2.6.4.2.1.2 標識化合物及び放射能測定法.....	10
2.6.4.2.2 定量法.....	12
2.6.4.3 吸収.....	14
2.6.4.3.1 ラットにおける吸収試験.....	14
2.6.4.3.1.1 ラットにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度.....	14
2.6.4.3.1.2 ラットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度.....	14
2.6.4.3.1.3 ラットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩反復経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度.....	15
2.6.4.3.1.4 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回静脈内投与後の用量相関性.....	16
2.6.4.3.1.5 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の用量相関性.....	17
2.6.4.3.1.6 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の食餌の影響.....	17
2.6.4.3.2 薬効評価モデルラットにおける薬物動態.....	18
2.6.4.3.2.1 モルヒネ皮下投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中濃度.....	18
2.6.4.3.2.2 ヒマシ油経口投与及びモルヒネ皮下投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中濃度.....	18
2.6.4.3.2.3 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中ナルデメジン及びその代謝物濃度.....	19
2.6.4.3.2.4 モルヒネ皮下投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中及び脳内ナルデメジン及びその代謝物濃度.....	20
2.6.4.3.2.5 モルヒネ経口投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中ナルデメジン及びモルヒネ濃度.....	22
2.6.4.3.3 イヌにおける吸収試験.....	22
2.6.4.3.3.1 イヌにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回静脈内又は経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度.....	22
2.6.4.3.3.2 イヌにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度.....	23
2.6.4.3.3.3 イヌにおけるナルデメジントシル酸塩単回静脈内投与後の用量相関性.....	24
2.6.4.3.3.4 イヌにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の用量相関性.....	25

2.6.4.3.3.5 イヌにおけるナルデメジントシル酸塩を単回経口投与後の食餌の影響	25
2.6.4.3.4 フェレットにおける吸収試験	26
2.6.4.3.4.1 モルヒネ皮下投与フェレットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与 後の用量相関性	26
2.6.4.3.4.2 モルヒネ経口投与フェレットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与 後の血漿中ナルデメジン及びモルヒネ濃度	26
2.6.4.4 分布	28
2.6.4.4.1 <i>In vitro</i> 試験	28
2.6.4.4.1.1 たん白結合	28
2.6.4.4.1.2 血球移行性	28
2.6.4.4.2 ラットにおける分布試験	28
2.6.4.4.2.1 ラットにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の 組織分布	28
2.6.4.4.2.2 ラットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の組 織分布	29
2.6.4.4.2.3 ラットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩反復経口投与後の組 織分布	30
2.6.4.4.2.4 有色ラットにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩又は [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の組織分布	30
2.6.4.4.2.5 妊娠ラットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の 組織分布	31
2.6.4.4.2.6 ラットにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩又は [carbonyl- ¹⁴ C]- ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血球移行性	31
2.6.4.4.3 イヌにおける分布試験	31
2.6.4.4.3.1 イヌにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩又は [carbonyl- ¹⁴ C]-ナ ルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血球移行性	31
2.6.4.5 代謝	33
2.6.4.5.1 <i>In vitro</i> 試験	33
2.6.4.5.1.1 凍結ヒト肝細胞を用いた <i>in vitro</i> 代謝物検索	33
2.6.4.5.1.2 責任代謝酵素	33
2.6.4.5.2 マウスにおける <i>in vivo</i> 代謝試験	34
2.6.4.5.2.1 マウスにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後のナ ルデメジントシル酸塩の代謝物検索	34
2.6.4.5.3 ラットにおける <i>in vivo</i> 代謝試験	34
2.6.4.5.3.1 ラットにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の ナルデメジントシル酸塩の代謝物検索	34
2.6.4.5.3.2 ラットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後のナ ルデメジントシル酸塩の代謝物検索	35

2.6.4.5.3.3	ラットにおけるナルデメジントシル酸塩反復経口投与後のナルデメジン (7R)-7-水酸化体の予備的測定.....	35
2.6.4.5.4	ウサギにおける <i>in vivo</i> 代謝試験.....	36
2.6.4.5.4.1	ウサギにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与後の ナルデメジントシル酸塩の代謝物検索.....	36
2.6.4.5.5	イヌにおける <i>in vivo</i> 代謝試験.....	36
2.6.4.5.5.1	イヌにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後のナ ルデメジントシル酸塩の代謝物検索.....	36
2.6.4.5.5.2	イヌにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与後のナ ルデメジントシル酸塩の代謝物検索.....	36
2.6.4.5.5.3	イヌにおけるナルデメジントシル酸塩反復経口投与後のナルデメジン (7R)-7-水酸化体の予備的測定.....	37
2.6.4.5.6	フェレットにおける <i>in vivo</i> 代謝試験.....	38
2.6.4.5.6.1	フェレットにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与 後のナルデメジントシル酸塩の代謝物検索.....	38
2.6.4.5.6.2	フェレットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後 のナルデメジントシル酸塩の代謝物検索.....	38
2.6.4.5.7	推定代謝経路.....	39
2.6.4.6	排泄.....	40
2.6.4.6.1	ラットにおける排泄試験.....	40
2.6.4.6.1.1	ラットにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の 尿, 糞及び胆汁中排泄.....	40
2.6.4.6.1.2	ラットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の尿, 糞及び胆汁中排泄.....	40
2.6.4.6.1.3	ラットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩反復経口投与後の尿 及び糞中排泄.....	41
2.6.4.6.1.4	ラットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の腸 肝循環.....	41
2.6.4.6.1.5	授乳ラットにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後 の乳汁移行性.....	41
2.6.4.6.2	イヌにおける排泄試験.....	42
2.6.4.6.2.1	イヌにおける [oxadiazole- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回静脈内, 経口及び 十二指腸内投与後の尿, 糞及び胆汁中排泄.....	42
2.6.4.6.2.2	イヌにおける [carbonyl- ¹⁴ C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口及び十二指腸 内投与後の尿, 糞及び胆汁中排泄.....	42
2.6.4.7	薬物動態学的薬物相互作用.....	44
2.6.4.7.1	<i>In vitro</i> 試験.....	44
2.6.4.7.1.1	ヒト CYP 酵素に対するナルデメジントシル酸塩の阻害作用.....	44

2.6.4.7.1.2	ヒト CYP 酵素に対する nor-ナルデメジンの阻害作用	44
2.6.4.7.1.3	ヒト肝薬物代謝酵素系に対するナルデメジントシル酸塩の誘導能	45
2.6.4.7.1.4	ヒト肝薬物代謝酵素系に対する nor-ナルデメジンの誘導能 (予備的検討)	45
2.6.4.7.1.5	P-gp を介したナルデメジントシル酸塩の薬物相互作用 (基質及び阻害評価)	46
2.6.4.7.1.6	その他のヒトトランスポーターに対するナルデメジントシル酸塩の基質評価	46
2.6.4.7.1.7	その他のヒトトランスポーターに対するナルデメジントシル酸塩の阻害評価	47
2.6.4.7.1.8	ヒトトランスポーターに対する nor-ナルデメジンの阻害評価	47
2.6.4.7.1.9	たん白結合サイト	47
2.6.4.7.2	<i>In vivo</i> 試験	48
2.6.4.7.2.1	ラット肝薬物代謝酵素系に対する影響	48
2.6.4.7.2.2	イヌ肝薬物代謝酵素系に対する影響	48
2.6.4.8	その他の薬物動態試験	50
2.6.4.8.1	<i>In vitro</i> 溶解性	50
2.6.4.8.2	<i>In vitro</i> 膜透過性	50
2.6.4.9	考察	51
2.6.4.10	図表	55
2.6.4.11	参考文献	56

2.6.4 略号及び用語定義一覧表

略号	用語定義
AUC	濃度－時間曲線下面積 (area under the concentration-time curve)
AUC _{0-24hr}	時間 0 から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積 (area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours)
AUC _{0-inf}	時間 0 から無限大時間までの濃度－時間曲線下面積 (area under the concentration-time curve from time 0 to infinity)
BA	バイオアベイラビリティ (bioavailability)
BBB	血液脳関門 (blood-brain barrier)
BCRP	breast cancer resistance protein
BCS	Biopharmaceutics Classification System
CL _{tot}	全身クリアランス (total clearance)
C _{max}	最高血漿中濃度 (maximum plasma concentration)
CPT-B1 細胞	BCRP をノックダウンした Caco-2 細胞 (Caco-2 cells to generate BCRP knockdown)
CYP	チトクローム P450 (cytochrome P450)
DDI	薬物相互作用 (drug-drug interaction)
DMA	<i>N,N</i> -ジメチルアセトアミド (<i>N,N</i> -dimethylacetamide)
HSA	ヒト血清アルブミン (human serum albumin)
IC ₅₀	50%阻害濃度 (50% inhibitory concentration)
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析法 (high performance liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry)
MC	メチルセルロース (methylcellulose)
mRNA	メッセンジャーリボ核酸 (messenger ribonucleic acid)
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 (reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)
OAT	有機アニオントランスポーター (organic anion transporter)
OATP	有機アニオントランスポーターポリペプチド (organic anion transporting polypeptide)
OCT	有機カチオントランスポーター (organic cation transporter)
P-gp	P 糖たん白質 (P-glycoprotein)
PK	薬物動態 (pharmacokinetics)
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィ (quantitative whole-body autoradiography)
Radio-HPLC	放射能検出器を備えた高速液体クロマトグラフィ (high performance liquid chromatography with radiodetector)

RT-PCR	逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (reverse transcriptase-polymerase chain reaction)
$t_{1/2,z}$	終末相消失半減期 (terminal elimination half-life)
$T_{\max}$	最高血漿中濃度到達時間 (time to maximum plasma concentration)
UDP	ウリジン 2 リン酸 (uridine diphosphate)
UGT	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 (uridine diphospho-glucuronosyl transferase)
$V_{d_{ss}}$	定常状態分布容積 (volume of distribution at steady state)
ナルデメジン 3-G	ナルデメジン 3- <i>O</i> -β-D-グルクロナイド (naldemedine 3- <i>O</i> -β-D-glucuronide)
ナルデメジン 6-G	ナルデメジン 6- <i>O</i> -β-D-グルクロナイド (naldemedine 6- <i>O</i> -β-D-glucuronide)
ナルデメジン-CA	ナルデメジン-カルボン酸体 (naldemedine carboxylic acid)

2.6.4 薬物動態の概要文

2.6.4.1 まとめ

薬理試験及び/又は毒性試験で用いた種であるラット、イヌ、マウス、ウサギ及びフェレットにおけるナルデメジントシル酸塩の薬物動態試験を実施した。ナルデメジンのオキサジアゾール環は体内で開裂する可能性が考えられたため、開裂後の2つの代謝物の体内動態を明らかにするために、2種類の放射性同位体標識ナルデメジントシル酸塩 ([oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩及び [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩) を用いた。また、有色ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィ (QWBA) により、メラニン含有組織における放射能分布を検討した。さらに、妊娠ラットにおける放射能の胎盤通過及び授乳ラットにおける放射能の乳汁排泄についても検討した。ナルデメジントシル酸塩の薬物相互作用試験の一環として、*in vitro* 試験にて、ナルデメジントシル酸塩によるチトクローム P450 (CYP)、UGT の阻害/誘導及びトランスポーターの阻害を検討し、ナルデメジントシル酸塩の体内動態を制御する代謝酵素及びトランスポーターを同定した。また、ヒト血漿中における主代謝物 nor-ナルデメジンの薬物相互作用を検討するために、CYP の阻害/誘導及びトランスポーターの阻害に関する *in vitro* 試験を実施した。薬物動態の概要文では、特に明記しない限り、試験は日本の信頼性基準下で実施し、ナルデメジントシル酸塩の投与量はナルデメジン (フリー体) の量で示した。

ナルデメジントシル酸塩は速やかに経口吸収され、イヌでは高い経口吸収性 [バイオアベイラビリティ (BA) : 59.5%] を示したが、ラットではイヌより低い経口吸収性 (BA : 24.5%) を示した。また、非絶食ラットにおける経口投与後の血漿中ナルデメジン濃度は、絶食ラットより低下した。ラット及びイヌでは、経口吸収後、ナルデメジンは肝臓で代謝され、主代謝物として、nor-ナルデメジン、ナルデメジン 3-O-β-D-グルクロナイド (ナルデメジン 3-G) 及びナルデメジン 6-O-β-D-グルクロナイド (ナルデメジン 6-G) が検出された。さらに、腸内細菌により生成され小腸下部から吸収されたベンズアミジンも、ラット及びイヌにおける血漿中の主代謝物であった。一方、ヒト血漿では、nor-ナルデメジンが最も多い代謝物であり、ナルデメジン (7R)-7-水酸化体及びナルデメジン 3-G がマイナーな代謝物として検出された。ヒトにおけるナルデメジントシル酸塩反復投与後の nor-ナルデメジンの血漿中曝露がナルデメジンの血漿中曝露の10%を超えていたことから、FDA のガイダンス [1] に従い、非臨床で nor-ナルデメジンの安全性評価が必要であることが示された。しかし、予定臨床用量 (0.2 mg) のナルデメジントシル酸塩を経口投与後の nor-ナルデメジンの安全性は、ラット、イヌ及びウサギを用いた毒性試験の結果により評価されていると考えられる。また、ナルデメジン及びその代謝物は主として胆汁経路で糞中に排泄されたが、腸内細菌により生成されたと推測されるベンズジアミンは、小腸下部から吸収され、尿に排泄された。

[Oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩又は [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩をラットに単回経口投与した場合、放射能は脳以外の組織に幅広く分布した。[Carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩をラットに反復経口投与した場合、いずれの組織においても放射能の蓄積はなかった。また、[¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与した有色ラットにおいて、放射能はメラニン含有組織に移行したが、残留しないことが示された。さらに、[carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与した妊娠ラットにおいて、放射能は胎盤を通過し、授乳ラッ

トにおいて乳汁に排泄されたが、胎児組織中における放射能濃度は低かった。

ナルデメジントシル酸塩による CYP (CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4/5 及び CYP4A11) の阻害能並びに代謝酵素 (CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4, UGT1A2, UGT1A6 及び UGT2B7) の誘導能は低かった。また、ナルデメジントシル酸塩による P-糖たん白 (P-gp), 有機アニオントランスポーターポリペプチド (OATP) 1B1, OATP1B3, 有機カチオントランスポーター (OCT) 1, OCT2, 有機アニオントランスポーター (OAT) 1, OAT3 及び breast cancer resistance protein (BCRP) の阻害能も低かった。したがって、ナルデメジントシル酸塩が、これらの代謝酵素又はトランスポーターの基質となる併用薬の体内動態に影響する可能性は低いと考えられる。また、ナルデメジントシル酸塩のヒト血漿中主代謝物である nor-ナルデメジンによる CYP 分子種の阻害能及び誘導能並びにトランスポーターの阻害能も低かったことから、nor-ナルデメジンもこれらの代謝酵素又はトランスポーターの基質となる併用薬の体内動態に影響する可能性は低いと考えられる。一方、ナルデメジントシル酸塩は、主に CYP3A4 により代謝されるとともに、P-gp の基質でもあった。したがって、CYP3A の誘導剤/阻害剤及び P-gp の阻害剤は血漿中ナルデメジン濃度に影響を及ぼすことが示唆される。しかし、ナルデメジントシル酸塩は OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3 及び BCRP の基質ではなかった。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 化合物

2.6.4.2.1.1 非標識化合物

試験に用いたナルデメジントシル酸塩及び代謝物の標品の名称及び供給源を表 2.6.4.2-1 に示す。

表 2.6.4.2-1 非標識化合物の名称及び供給源

名称	供給源
ナルデメジントシル酸塩	塩野義製薬
Nor-ナルデメジン	塩野義製薬
ナルデメジン 3-G	塩野義製薬
ナルデメジン 6-G	塩野義製薬
ナルデメジン-カルボン酸体 (ナルデメジン-CA)	塩野義製薬
ナルデメジン (7S)-7-水酸化体	塩野義製薬
ナルデメジン (7R)-7-水酸化体	塩野義製薬
ベンズアミジン	塩野義製薬

2.6.4.2.1.2 標識化合物及び放射能測定法

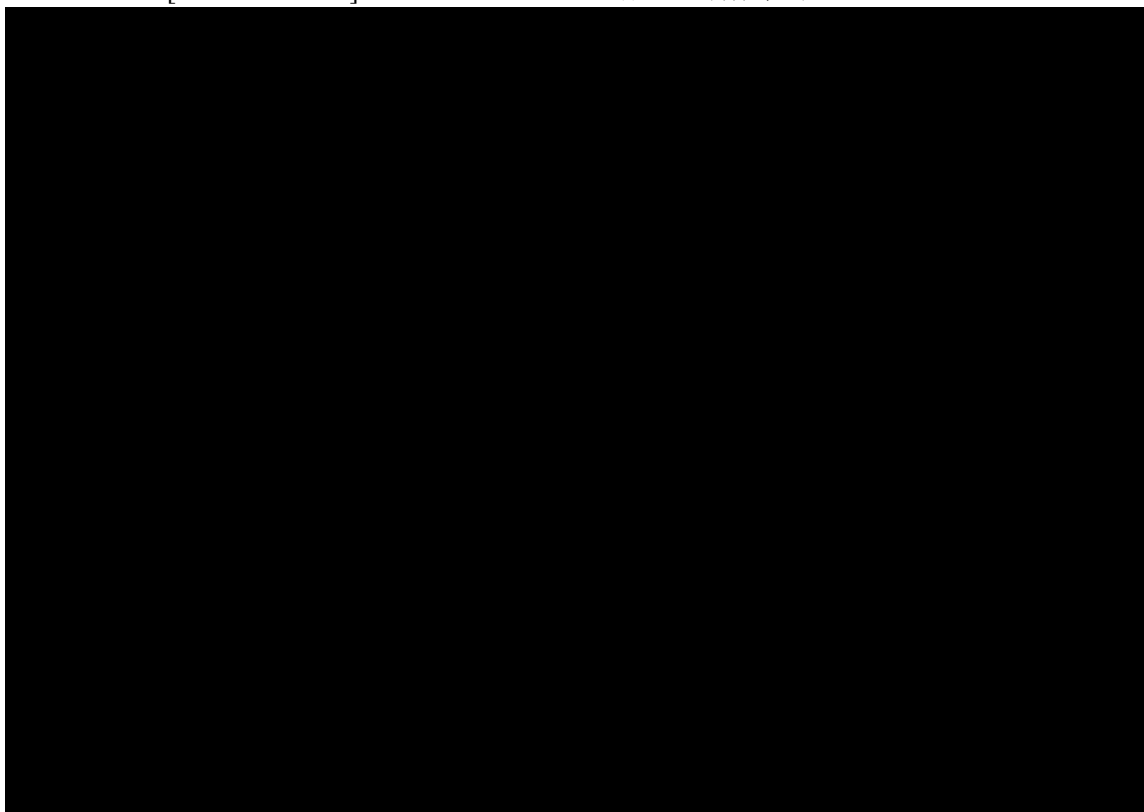
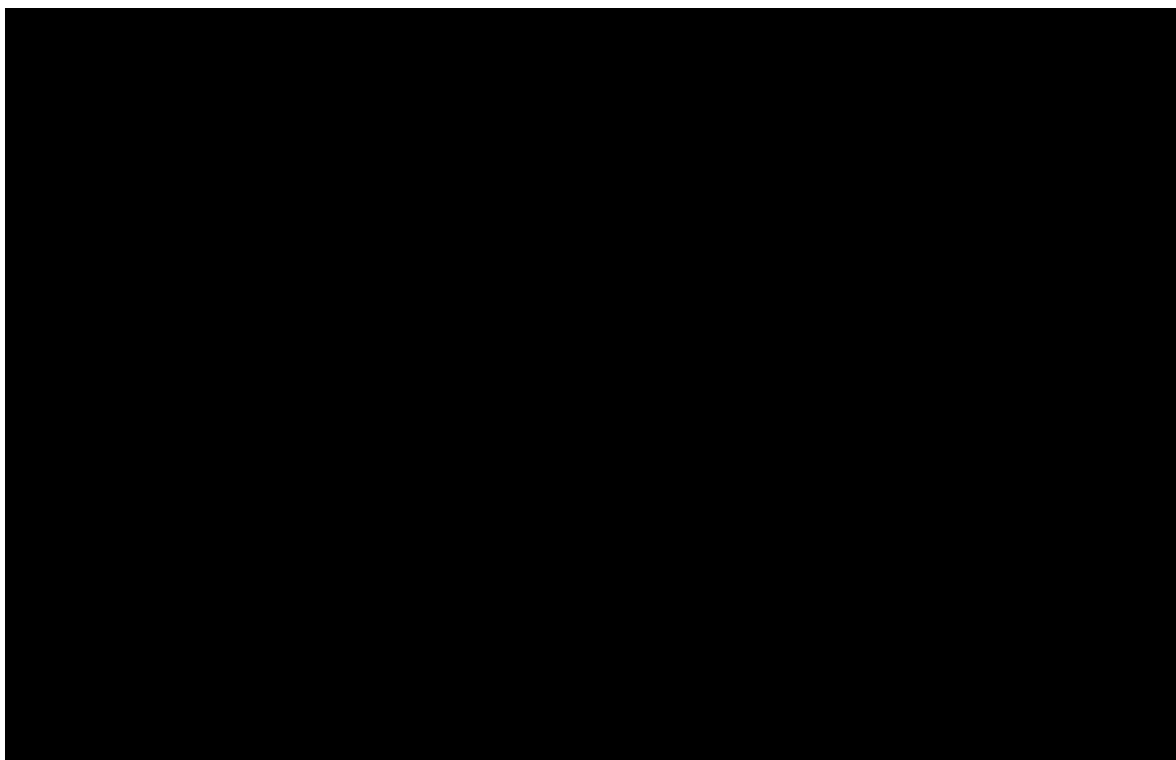
評価資料：4.2.2.1-01, 4.2.2.1-02, 4.2.2.1-03, 4.2.2.1-04

概要表：2.6.5.2.1

ナルデメジントシル酸塩の代謝試験において、腸内細菌によりオキサジアゾール環が開裂することが明らかとなり、開裂断片として得られる各代謝物の体内動態を詳細に検討するために、2種類の放射能標識化合物（オキサジアゾール環を標識した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩及びモルフィナン骨格近傍のカルボニル基を標識した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩）を薬物動態試験に用いた。[oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩及び [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩は、図 2.6.4.2-1 及び図 2.6.4.2-2 に示す経路で合成し、それぞれナルデメジントシル酸塩における 1,2,4-オキサジアゾール環の 3 位及びカルボニル基を ¹⁴C 標識した。標識化合物の特性（比放射能、放射化学的純度、化学的純度、性状及び供給源）を表 2.6.4.2-2 に示す。

表 2.6.4.2-2 [¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の特性

標識位置	オキサジアゾール環		カルボニル基		
ロット番号	■-0412-022-01	■-0217-011-01	■-0214-023-01	■-0214-062-01	■-0350-046-01
比放射能	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)	2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg)	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)	1.41 MBq/mg (38.1 µCi/mg)
放射化学的純度	≥ 97.7%	98.7%	99.9%	≥ 98.3%	≥ 99.0%
化学的純度	≥ 99.4%	99.7%	99.8%	99.9%	99.9%
性状	結晶	結晶	結晶	結晶	結晶
供給源	塩野義製薬	塩野義製薬	塩野義製薬	塩野義製薬	塩野義製薬

図 2.6.4.2-1 [Oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の合成経路図 2.6.4.2-2 [Carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の合成経路

[Oxadiazole- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩又は [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を投与した各種動物から採取した試料中放射能を測定するために、以下のように各試料を処理した。血漿、胆汁及び尿は、シンチレーションカクテルと混合した。[Oxadiazole- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を投与した動物から採取した血液は、組織溶解剤により溶解し、脱色後、シンチレーションカクテルと混合した。また、糞又は腸管内容物は、50%メタノールと混合し、ホモジナイザーによりホモジナイズした上で、ホモジネートを組織溶解剤により溶解し、脱色後、シンチレーションカクテルと混合した。一方、[carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を投与した動物から採取した血液は、燃焼法にて処理した後、シンチレーションカクテルと混合した。また、糞又は腸管内容物は 50%メタノールと混合し、ホモジナイザーによりホモジナイズした上で、燃焼法にて処理した後、シンチレーションカクテルと混合した。さらに、屍体は、6 mol/L の塩酸中の還流により溶解した上で、その溶液を組織溶解剤により溶解し、脱色後、シンチレーションカクテルと混合した。各試料中放射能は、液体シンチレーションカウンターにより測定し、検出下限を 10 dpm/sample に設定した。分布試験では、ラジオルミノグラフィ法によりイメージングプレートを電子画像化し、電子画像を専用ソフトにより解析した。また、画像に組み込まれた放射能濃度の異なる ^{14}C 標準品から検量線を作成し、組織中放射能濃度を算出した。

2.6.4.2.2 定量法

薬物動態試験及び毒性試験において、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及び/又はフェレット血漿中ナルデメジン及びその代謝物を液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) で定量した (表 2.6.4.2-3)。血漿試料は除たん白抽出後、測定した。定量下限は、試験により 0.01 ~ 50 ng/mL の範囲で設定した。すべての薬物動態試験及び毒性試験用測定法は、定量範囲内で選択性、回収率、精度、真度及び各種条件の安定性に関してバリデートされた。なお、バリデーション試験は、GLP 又は信頼性基準下で実施した。

ラット及びフェレット血漿中の参照物質であるモルヒネ濃度の LC/MS/MS 定量法は、5 ng/mL の定量下限でバリデートされた (表 2.6.4.2-3)。血漿試料は、除たん白抽出後、測定した。

ラット脳中ナルデメジン及びその代謝物を LC/MS/MS で定量した (表 2.6.4.2-3)。脳試料は、ホモジナイズした上で、脳ホモジネートを除たん白抽出後、固相抽出処理した。ナルデメジン及びその代謝物の定量下限は、それぞれ 0.01 ng/mL 及び 0.04 ng/mL に設定した。

これらの定量法及び定量下限は、ナルデメジン、その代謝物及び参照物質の動態解析に十分な選択性及び感度を示していた。

表 2.6.4.2-3 ナルデメジン，その代謝物及び参照物質の定量法

測定試料	測定物質	評価資料	概要表
マウス血漿	ナルデメジン	4.2.2.1-05	2.6.5.2.2
マウス及びラット血漿	ナルデメジン，nor-ナルデメジン，ナルデメジン 3-G，ナルデメジン 6-G 及びベンズアミジン	4.2.2.1-06	2.6.5.2.3
ラット血漿	ナルデメジン	4.2.2.1-07	2.6.5.2.4
	ナルデメジン，nor-ナルデメジン，ナルデメジン 3-G 及びナルデメジン 6-G	4.2.2.1-08	2.6.5.2.5
	ナルデメジン	4.2.2.1-09	2.6.5.2.6
	ナルデメジン，nor-ナルデメジン，ナルデメジン 3-G，ナルデメジン 6-G 及びナルデメジン-CA	4.2.2.1-10	2.6.5.2.7
ラット及びイヌ血漿	ナルデメジン	4.2.2.1-11	2.6.5.2.8
ウサギ血漿	ナルデメジン	4.2.2.1-12	2.6.5.2.9
	ナルデメジン，nor-ナルデメジン，ナルデメジン 3-G 及びナルデメジン 6-G	4.2.2.1-13	2.6.5.2.10
イヌ血漿	ナルデメジン，nor-ナルデメジン，ナルデメジン 3-G 及びナルデメジン 6-G	4.2.2.1-14	2.6.5.2.11
	ナルデメジン	4.2.2.1-15	2.6.5.2.12
	ナルデメジン及びベンズアミジン	4.2.2.1-16	2.6.5.2.13
フェレット血漿	ナルデメジン	4.2.2.1-17	2.6.5.2.14
ラット及びフェレット血漿	モルヒネ	4.2.2.1-18	2.6.5.2.15
ラット脳	ナルデメジン，nor-ナルデメジン，ナルデメジン 3-G，ナルデメジン 6-G 及びナルデメジン-CA	4.2.2.1-19	2.6.5.2.16

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 ラットにおける吸収試験

2.6.4.3.1.1 ラットにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度

評価資料 4.2.2.2-01

概要表 2.6.5.3.1

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% メチルセルロース (MC) 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿及び血液中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度を測定し、薬物動態 (PK) パラメータを求めた。

表 2.6.4.3-1 に示すように、血漿中放射能 (ナルデメジン換算、以下同様) 及びナルデメジンの最高濃度到達時間 ($T_{\max}$) は、ともに 1.5 時間であり、最高濃度 ($C_{\max}$) 値は、それぞれ 52.8 及び 42.7 ng/mL であった。その後、血漿中放射能及びナルデメジン濃度は低下し、それぞれ 4.18 及び 1.9 時間の終末相消失半減期 ($t_{1/2,z}$) で消失した。血漿中放射能及びナルデメジンの時間 0 から無限大までの血漿中濃度－時間曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$) は、それぞれ 609 及び 213 ng·hr/mL であり、血漿中ナルデメジンの放射能に対する $AUC_{0-\infty}$ 比率は 34.8% であった。また、血液中放射能の $t_{1/2,z}$ 値は、17.8 時間であり、放射能の残留性は低いことが示された。

表 2.6.4.3-1 ラットにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	放射能 (ナルデメジン換算)		ナルデメジン
	血液	血漿	血漿
$C_{\max}$ (ng/mL)	41.8 ± 1.6	52.8 ± 11.7	42.7 ± 9.4
$T_{\max}$ (hr)	8.00 ± 0.00	1.50 ± 0.58	1.50 ± 0.58
$t_{1/2,z}$ (hr)	17.8 ± 9.7	4.18 ± 0.41	1.90 ± 0.42
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	763 ± 81	609 ± 70	213 ± 38
放射能に対する AUC 比 (%)	—	—	34.8 ± 2.8
投与量 : 1 mg/kg.	平均値 ± 標準偏差 (n = 4).		— : 適用せず.

2.6.4.3.1.2 ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度

評価資料 4.2.2.2-02

概要表 2.6.5.3.2

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿及び血液中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度を測定し、PK パラメータを求めた。

表 2.6.4.3-2 に示すように、血漿中放射能及びナルデメジンの $T_{\max}$ 値は、ともに 1 時間であり、 $C_{\max}$ 値は、それぞれ 79.8 及び 73.3 ng/mL であった。その後、血漿中放射能及びナルデメジン濃度は低下し、それぞれ 15.9 及び 1.77 時間の $t_{1/2,z}$ で消失した。血漿中放射能及びナルデメジンの

AUC_{0-inf}値は、それぞれ 489 及び 293 ng·hr/mL であった。血漿中ナルデメジンの放射能に対する AUC_{0-inf}比率は 60.2%であり、[oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩投与後の値 (34.8%) より大きかった。また、血液中放射能の t_{1/2,z} 値は、13.1 時間であり、放射能の残留性は低いことが示された。

表 2.6.4.3-2 ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	放射能 (ナルデメジン換算)		ナルデメジン
	血液	血漿	血漿
C _{max} (ng/mL)	55.6 ± 10.3	79.8 ± 13.9	73.3 ± 13.1
T _{max} (hr)	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
t _{1/2,z} (hr)	13.1 ± 6.2	15.9 ± 6.5	1.77 ± 0.38
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	360 ± 35	489 ± 49	293 ± 36
放射能に対する AUC 比 (%)	—	—	60.2 ± 6.7
投与量：1 mg/kg. 平均値 ± 標準偏差 (n = 4). —：適用せず.			

2.6.4.3.1.3 ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩反復経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度

評価資料 4.2.2.2-14

概要表 2.6.5.4.1

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの投与期間中及び投与後の血漿及び血液中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度を測定し、PK パラメータを求めた。

表 2.6.4.3-3 に示すように、7 回目投与後の血漿中放射能及びナルデメジンの C_{max} 値は、それぞれ 62.4 及び 48.8 ng/mL であり、初回投与後の値 (それぞれ 37.7 及び 33.7 ng/mL) に比べて上昇したが、14 回目投与後の C_{max} 値は、それぞれ 61.2 及び 47.8 ng/mL であり、7 回目投与後の値と同等であった。血漿中放射能及びナルデメジンの時間 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 (AUC_{0-24hr}) についても、14 回目投与後の値 (それぞれ 505 及び 268 ng·hr/mL) は、7 回目投与後の値 (それぞれ 449 及び 228 ng·hr/mL) とほぼ同じであった。また、7～13 回目投与後における血漿中放射能のトラフ値は 4.21～5.59 ng/mL とほぼ一定値を示した。これらの結果から、血漿中放射能及びナルデメジン濃度は、7 回の反復経口投与で定常状態に達していると考えられる。血液中放射能濃度についても、血漿中放射能濃度と同様な結果であった。一方、初回、7 回目及び 14 回目投与後の血漿中ナルデメジンの放射能に対する血漿中濃度－時間曲線下面積 (AUC) 比率は、それぞれ 69.2%、51.3%及び 53.3%であった。また、血漿中放射能の t_{1/2,z} 値は、血漿中ナルデメジンの値より長かった。これらの結果より、反復投与後の血漿中にナルデメジンより緩やかに消失する代謝物が存在すると考えられる。

表 2.6.4.3-3 ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩反復経口投与後の PK パラメータ

投与回数	PK パラメータ	放射能 (ナルデメジン換算)		ナルデメジン
		血液	血漿	血漿
1	C _{max} (ng/mL)	18.0 ± 5.1	37.7 ± 10.7	33.7 ± 9.7
	T _{max} (hr)	2.75 ± 1.50	1.75 ± 0.50	1.75 ± 0.50
	t _{1/2,z} (hr)	12.1 ± 7.1	6.51 ± 4.18	3.06 ± 1.73
	AUC _{0-24hr} (ng·hr/mL)	174 ± 64	302 ± 55	217 ± 51
	放射能に対する AUC 比 (%)	—	—	69.2 ± 4.5
7	C _{max} (ng/mL)	28.6 ± 8.9	62.4 ± 11.8	48.8 ± 8.3
	T _{max} (hr)	2.00 ± 1.41	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
	t _{1/2,z} (hr)	150 ± 196	25.1 ± 7.2	2.30 ± 1.34
	AUC _{0-24hr} (ng·hr/mL)	383 ± 89	449 ± 72	228 ± 20
	放射能に対する AUC 比 (%)	—	—	51.3 ± 6.1
14	C _{max} (ng/mL)	39.2 ± 12.5	61.2 ± 19.5	47.8 ± 15.2
	T _{max} (hr)	2.13 ± 1.44	2.00 ± 1.41	2.00 ± 1.41
	t _{1/2,z} (hr)	108 ± 60	44.0 ± 17.1	1.89 ± 0.18
	AUC _{0-24hr} (ng·hr/mL)	601 ± 232	505 ± 88	268 ± 48
	放射能に対する AUC 比 (%)	—	—	53.3 ± 6.6

投与量：1 mg/kg/日。 平均値 ± 標準偏差 (n = 4)。 —：適用せず。

2.6.4.3.1.4 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回静脈内投与後の用量相関性

評価資料 4.2.2.2-03

概要表 2.6.5.3.3

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、N,N-ジメチルアセトアミド (DMA)/生理食塩液 (1:9, v/v) に溶解したナルデメジントシル酸塩を 0.5 及び 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの血漿中ナルデメジン濃度を測定し、PK パラメータを求めた。

表 2.6.4.3-4 に示すように、静脈内投与後の血漿中ナルデメジン濃度は速やかに減少し、0.5 及び 1 mg/kg における t_{1/2,z} 値は、それぞれ 1.02 及び 1.27 時間であった。AUC_{0-inf} は用量に比例して増大し、各用量における t_{1/2,z}、全身クリアランス (CL_{tot}) 及び定常状態分布容積 (Vd_{ss}) はほぼ一定値を示したことから、ナルデメジントシル酸塩静脈内投与後の体内動態は、1 mg/kg までは線形であると考えられる。

表 2.6.4.3-4 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回静脈内投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	投与量 (mg/kg)	
	0.5	1
t _{1/2,z} (hr)	1.02 ± 0.15	1.27 ± 0.19
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	351 ± 29	725 ± 61
CL _{tot} (mL/hr/kg)	1430 ± 120	1390 ± 120
Vd _{ss} (mL/kg)	1180 ± 80	1240 ± 80

平均値 ± 標準偏差 (n = 4)。

2.6.4.3.1.5 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の用量相関性

評価資料 4.2.2.2-03

概要表 2.6.5.3.4

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 0.3, 1, 3 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中ナルデメジン濃度を測定し、PK パラメータを求めた。

表 2.6.4.3-5 に示すように、0.3～10 mg/kg における経口投与後の血漿中ナルデメジンの $T_{\max}$ 値は、0.625～1.13 時間の範囲であり、血漿中ナルデメジンは、 $C_{\max}$ (0.3, 1, 3 及び 10 mg/kg において、それぞれ 18.8, 37.9, 168 及び 853 ng/mL) に到達後、1.34～1.89 時間の $t_{1/2,z}$ で消失した。また、0.3, 1, 3 及び 10 mg/kg における血漿中ナルデメジンの $AUC_{0-\infty}$ 値は、それぞれ 67.6, 172, 674 及び 2650 ng·hr/mL であり、 $C_{\max}$ とともに 3 mg/kg までは用量に比例して増大した。しかし、10 mg/kg においては用量比以上の増大が認められ、肝臓及び/又は腸管での初回通過効果の飽和が示唆された。さらに、0.5 mg/kg における静脈内投与後の $AUC_{0-\infty}$ 値 [2.6.4.3.1.4 項参照] を用いて算出した各用量におけるナルデメジントシル酸塩の BA は、それぞれ 32.1%, 24.5%, 32.0% 及び 37.7% であった。以上の結果から、非絶食下のラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の体内動態は 3 mg/kg まで線形であると考えられる。

表 2.6.4.3-5 絶食及び非絶食ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	投与量 (mg/kg)				
	非絶食				絶食
	0.3	1	3	10	1
$C_{\max}$ (ng/mL)	18.8 ± 5.4	37.9 ± 3.4	168 ± 48	853 ± 175	114 ± 31
$T_{\max}$ (hr)	0.875 ± 0.250	1.00 ± 0.00	1.13 ± 0.63	0.625 ± 0.250	0.438 ± 0.125
$t_{1/2,z}$ (hr)	1.87 ± 0.63	1.89 ± 0.54	1.66 ± 0.55	1.34 ± 0.34	1.36 ± 0.19
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	67.6 ± 24.1	172 ± 33	674 ± 166	2650 ± 220	291 ± 21
BA (%)	32.1 ± 11.4	24.5 ± 4.7	32.0 ± 7.9	37.7 ± 3.2	41.4 ± 2.9

平均値 ± 標準偏差 (n = 4).

2.6.4.3.1.6 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の食餌の影響

評価資料 4.2.2.2-03

概要表 2.6.5.3.4

絶食及び非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中ナルデメジン濃度を測定し、ナルデメジントシル酸塩の体内動態に及ぼす食餌の影響を検討した。

絶食ラットにおける血漿中ナルデメジンの $T_{\max}$, $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 値は、それぞれ 0.438 時間、114 ng/mL 及び 291 ng·hr/mL であった (表 2.6.4.3-5)。非絶食ラットにおける血漿中ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 値は、絶食ラットの値に比べそれぞれ 67% 及び 41% 低下し、 $T_{\max}$ は遅延した。以上の結果は、ラットにおけるナルデメジンの経口吸収性が食餌により低下することを

示唆している。

2.6.4.3.2 薬効評価モデルラットにおける薬物動態

2.6.4.3.2.1 モルヒネ皮下投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中濃度

評価資料 4.2.2.2-04

概要表 2.6.5.3.5

ナルデメジントシル酸塩の抗便秘作用と体内動態の相関性を検討するために、モルヒネを皮下投与した絶食下の雄性 Wistar 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 0.03, 0.1, 0.3 及び 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中ナルデメジン濃度を測定し、PK パラメータを求めた。絶食ラットにナルデメジントシル酸塩を単回経口投与した 15 分後に、モルヒネ塩酸塩を 3 mg/kg の用量で単回皮下投与した。

表 2.6.4.3-6 に示すように、0.03, 0.1, 0.3 及び 1 mg/kg の用量で経口投与後における血漿中ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ は、0.3 mg/kg まで用量に比例して増大し、ラット薬効用量 (ED_{50} : 0.03 mg/kg [モジュール 2.6.2 参照]) におけるナルデメジンの体内動態は線形の範囲内であることが示唆される。一方、1 mg/kg の用量における $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ は、用量比以上に増大した。なお、Sprague-Dawley 系ラットにおけるナルデメジントシル酸塩の体内動態は 3 mg/kg まで線形であることから [2.6.4.3.1.5 項参照]、モルヒネ皮下投与ラットでは無処置ラットと比較し、線形の範囲が小さくなった。このことは、併用投与されたモルヒネが吸収された後、ナルデメジンの初回通過代謝を阻害した可能性を示唆している。さらに、薬効用量である 0.03 mg/kg における単回経口投与後 1 時間 (この動物モデルでの薬効評価終了時点) の血漿中ナルデメジン濃度は、2.51 ng/mL であった。

表 2.6.4.3-6 モルヒネ皮下投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	投与量 (mg/kg)			
	0.03	0.1	0.3	1
$C_{\max}$ (ng/mL)	2.94 ± 0.36	10.2 ± 2.3	30.8 ± 15.3	191 ± 62
$T_{\max}$ (hr)	0.44 ± 0.13	0.50 ± 0.00	0.88 ± 0.75	0.56 ± 0.31
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	11.5 ± 1.8	53.8 ± 10.1	114 ± 13	590 ± 100

平均値 ± 標準偏差 (n = 4).

2.6.4.3.2.2 ヒマシ油経口投与及びモルヒネ皮下投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中濃度

評価資料 4.2.2.2-05

概要表 2.6.5.3.6

ナルデメジントシル酸塩の抗便秘作用と体内動態の相関性を検討するために、ヒマシ油を経口投与及びモルヒネを皮下投与した絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 0.01, 0.03, 0.1 及び 0.3 mg/kg の用量で単回経口投

与したときの血漿中濃度を測定し、薬物動態パラメータを求めた。絶食下のラットに、ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与し、45 分後にヒマシ油 (2 mL/ラット) を経口投与、その 15 分後にモルヒネ塩酸塩を 1 mg/kg の用量で単回皮下投与した。

表 2.6.4.3-7 に示すように、0.01, 0.03, 0.1 及び 0.3 mg/kg における血漿中ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ は、0.3 mg/kg まで用量に比例して増大し、ラット薬効用量 (ED_{50} : 0.01 mg/kg [モジュール 2.6.2 参照]) におけるナルデメジンの体内動態は線形の範囲内であることが示唆される。さらに、投与後 2 時間 (この動物モデルでの薬効評価終了時点) の血漿中ナルデメジン濃度は、0.974 ng/mL であった。

表 2.6.4.3-7 ヒマシ油経口投与及びモルヒネ皮下投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	投与量 (mg/kg)			
	0.01	0.03	0.1	0.3
$C_{\max}$ (ng/mL)	1.51 ± 0.61	5.56 ± 1.22	20.9 ± 10.7	63.6 ± 33.9
$T_{\max}$ (hr)	1.00 ± 0.71	0.50 ± 0.00	0.56 ± 0.31	0.50 ± 0.00
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	6.91 ± 1.38	16.5 ± 2.1	56.3 ± 16.9	179 ± 56

平均値 ± 標準偏差 (n = 4).

2.6.4.3.2.3 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中ナルデメジン及びその代謝物濃度

評価資料 4.2.2.2-06
概要表 2.6.5.3.7

ナルデメジントシル酸塩の鎮痛抑制作用と体内動態の相関性を検討するために、絶食下の雄性 Wistar 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 1, 3, 5, 7, 10 及び 30 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中ナルデメジン及びその代謝物 (nor-ナルデメジン, ナルデメジン 3-G, ナルデメジン 6-G 及びナルデメジン-CA) 濃度を測定し、PK パラメータを求めた。

表 2.6.4.3-8 に示すように、1, 3, 5, 7, 10 及び 30 mg/kg における血漿中ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び AUC_{0-24hr} は、用量に比例して増大した。一方、各用量における血漿中 nor-ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び AUC_{0-24hr} 値は、ナルデメジンの値より小さかった。また、血漿中ナルデメジン 3-G, ナルデメジン 6-G 及びナルデメジン-CA の $C_{\max}$ 及び AUC_{0-24hr} 値は nor-ナルデメジンの値より小さかった。ナルデメジン-CA を除くナルデメジン代謝物の $C_{\max}$ 及び AUC_{0-24hr} は、30 mg/kg まで用量に比例して増大した。さらに、ナルデメジン-CA の $C_{\max}$ 及び AUC_{0-24hr} は、10 mg/kg まで用量に比例して増大し、10~30 mg/kg の間はほぼ一定であった。

表 2.6.4.3-8 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中ナルデメジン及びその代謝物の PK パラメータ

PK パラメータ	測定対象	投与量 (mg/kg)					
		1	3	5	7	10	30
C _{max} (ng/mL)	ナルデメジン	77.6 [36.1]	282 [45]	518 [73]	697 [214]	915 [90]	3260 [720]
	Nor-ナルデメジン	3.88 [1.36]	16.9 [1.9]	36.6 [5.9]	43.8 [14.1]	51.5 [4.7]	193 [26]
	ナルデメジン 3-G	3.06 [1.56]	10.6 [3.7]	16.2 [3.9]	18.6 [5.3]	22.9 [7.6]	51.4 [16.6]
	ナルデメジン 6-G	0.275 [0.120]	0.955 [0.488]	1.72 [0.72]	1.99 [0.56]	2.01 [1.08]	3.97 [1.69]
	ナルデメジン-CA	0.145 [0.062]	0.852 [0.772]	0.858 [0.506]	2.00 [1.87]	2.96 [1.23]	2.79 [1.21]
		0.750 [0.842]	0.813 [0.800]	0.563 [0.315]	0.875 [0.250]	1.88 [1.55]	3.00 [1.15]
T _{max} (hr)	Nor-ナルデメジン	1.63 [1.60]	0.750 [0.289]	1.00 [0.00]	1.00 [0.00]	1.88 [1.55]	3.00 [1.15]
	ナルデメジン 3-G	0.438 [0.125]	0.500 [0.000]	0.625 [0.250]	0.688 [0.375]	0.875 [0.750]	3.00 [1.51]
	ナルデメジン 6-G	0.250 [0.000]	0.375 [0.144]	0.438 [0.125]	0.438 [0.125]	0.375 [0.144]	0.500 [0.354]
	ナルデメジン-CA	5.00 [2.58]	5.50 [1.91]	6.00 [1.63]	5.50 [1.91]	4.00 [0.00]	6.00 [2.00]
		270 [36]	1110 [330]	1940 [350]	2460 [330]	4000 [930]	15700 [2900]
AUC _{0-24hr} (ng·hr/mL)	Nor-ナルデメジン	22.3 [4.8]	73.9 [14.2]	146 [28]	179 [37]	249 [60]	1050 [90]
	ナルデメジン 3-G	6.19 [1.23]	20.8 [6.4]	40.6 [16.5]	45.7 [5.7]	66.5 [27.8]	228 [40]
	ナルデメジン 6-G	0.192 [0.053]	0.914 [0.444]	2.03 [0.50]	2.56 [0.57]	3.16 [1.46]	11.4 [4.3]
	ナルデメジン-CA	0.620 [0.245]	3.06 [1.85]	8.56 [8.98]	21.8 [16.1]	24.5 [10.6]	36.3 [4.5]

平均値 (n = 4, [] 内に標準偏差を示す).

2.6.4.3.2.4 モルヒネ皮下投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中及び脳内ナルデメジン及びその代謝物濃度

評価資料 4.2.2.2-07

概要表 2.6.5.3.8

ナルデメジントシル酸塩の鎮痛抑制作用と体内動態の相関性を検討するために、モルヒネを皮下投与した絶食下の雄性 Wistar 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 3, 5, 7, 10 及び 30 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中及び脳内ナルデメジン及びその代謝物 (nor-ナルデメジン, ナルデメジン 3-G, ナルデメジン 6-G 及びナルデメジン-CA) 濃度を測定し, PK パラメータを求めた. 各試料採取時点 (ナルデメジントシル酸塩投与後 1, 4, 8 及び 24 時間) の 45 分前に, モルヒネ塩酸塩を 6 mg/kg の用量で単回皮下投与した.

表 2.6.4.3-9 に示すように、3, 5, 7, 10 及び 30 mg/kg における血漿中ナルデメジン及びその代謝物の $C_{\max}$ 及び AUC_{0-24hr} は、ほぼ用量に比例して増大した。各用量における血漿中 nor-ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び AUC_{0-24hr} 値は、ナルデメジンの値より小さかった。また、血漿中ナルデメジン 3-G, ナルデメジン 6-G 及びナルデメジン-CA の $C_{\max}$ 及び AUC_{0-24hr} 値は、nor-ナルデメジンの値より小さかった。脳内ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び AUC_{0-24hr} 値は、血漿中の値の 10%未満であった。脳内 Nor-ナルデメジン, ナルデメジン 3-G, ナルデメジン 6-G 及びナルデメジン-CA 濃度は低く、1.15 ng/g 以下であった。

表 2.6.4.3-9 モルヒネ皮下投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中及び脳内ナルデメジン及びその代謝物の PK パラメータ

試料	PK パラメータ	測定対象	投与量 (mg/kg)				
			3	5	7	10	30
血漿	$C_{\max}$ (ng/mL)	ナルデメジン	167	300	433	636	1730
		Nor-ナルデメジン	10.7	16.5	23.7	34.8	89.1
		ナルデメジン 3-G	4.71	7.07	8.16	12.7	38.2
		ナルデメジン 6-G	0.202	0.385	0.345	0.869	1.90
		ナルデメジン-CA	0.115	0.565	0.364	0.374	2.86
	$T_{\max}$ (hr)	ナルデメジン	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
		Nor-ナルデメジン	1.00	1.00	1.00	4.00	4.00
		ナルデメジン 3-G	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
		ナルデメジン 6-G	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
		ナルデメジン-CA	4.00	4.00	1.00	4.00	4.00
	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	ナルデメジン	819	1140	2160	3000	10500
		Nor-ナルデメジン	65.1	89.5	156	248	651
		ナルデメジン 3-G	17.5	22.3	36.0	50.8	188
		ナルデメジン 6-G	0.454	NC	0.941	2.01	6.43
		ナルデメジン-CA	0.788	3.55	1.90	2.61	32.2
脳	$C_{\max}$ (ng/g)	ナルデメジン	7.01	8.44	16.0	27.9	72.4
		Nor-ナルデメジン	0.119	0.173	0.288	0.487	1.15
		ナルデメジン 3-G	0.0355	0.0523	0.0719	0.108	0.319
		ナルデメジン 6-G	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
		ナルデメジン-CA	0.0451	0.125	0.132	0.0776	0.327
	$T_{\max}$ (hr)	ナルデメジン	4.00	1.00	4.00	4.00	4.00
		Nor-ナルデメジン	4.00	1.00	4.00	4.00	4.00
		ナルデメジン 3-G	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
		ナルデメジン 6-G	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
		ナルデメジン-CA	8.00	4.00	8.00	4.00	4.00
	AUC_{0-24hr} (ng·hr/g)	ナルデメジン	80.4	108	184	275	683
		Nor-ナルデメジン	1.54	2.23	4.08	6.20	15.5
		ナルデメジン 3-G	N.C.	N.C.	0.204	0.324	0.926
		ナルデメジン 6-G	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
		ナルデメジン-CA	0.0902	0.579	0.356	0.435	4.88

平均値 (n = 4).

N.C. : 算出できず.

2.6.4.3.2.5 モルヒネ経口投与ラットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中ナルデメジン及びモルヒネ濃度

評価資料 4.2.2.2-08

概要表 2.6.5.3.9

血漿中モルヒネ濃度に及ぼすナルデメジントシル酸塩併用投与の影響を検討するために、モルヒネを経口投与した絶食下の雄性 Wistar 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 0.03, 0.1, 0.3 及び 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中ナルデメジントシル酸塩及び/又はモルヒネ濃度を測定し、PK パラメータを求めた。絶食ラットに投与媒体又はナルデメジントシル酸塩を単回経口投与した 15 分後に、モルヒネ塩酸塩を 20 mg/kg の用量で単回経口投与した。

表 2.6.4.3-10 に示すように、0.03～1 mg/kg における血漿中ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ は、用量に比例して増大した。モルヒネ非併用時の 1 mg/kg における血漿中ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 値がそれぞれ 77.6 ng/mL 及び 270 ng·hr/mL であったことから (表 2.6.4.3-8), 併用投与されたモルヒネは、血漿中ナルデメジン濃度にほとんど影響しないと考えられる。また、0.03～1 mg/kg のナルデメジントシル酸塩で前処置後の血漿中モルヒネの $C_{\max}$ 値は、投与媒体で前処置後の値と比較して増加したが、0.03～1 mg/kg のナルデメジントシル酸塩で前処置後の血漿中モルヒネの $AUC_{0-\infty}$ 値は、ほぼ一定の値を示し、投与媒体で前処置後の値と同様であった。これらのことは、併用投与されたナルデメジンは、血漿中モルヒネ濃度にほとんど影響しないことを示している。

表 2.6.4.3-10 モルヒネ経口投与ラットにおける投与媒体又はナルデメジントシル酸塩前処置後の血漿中ナルデメジン及びモルヒネ濃度

PK パラメータ	測定対象	投与媒体	ナルデメジントシル酸塩の投与量 (mg/kg)			
			0.03	0.1	0.3	1
$C_{\max}$ (ng/mL)	ナルデメジン	—	3.74 ± 1.71	11.3 ± 2.9	32.6 ± 7.4	125 ± 21
	モルヒネ	206 ± 31	397 ± 120	585 ± 196	860 ± 311	766 ± 494
$T_{\max}$ (hr)	ナルデメジン	—	0.750 ± 0.289	0.500 ± 0.000	0.500 ± 0.000	0.500 ± 0.000
	モルヒネ	0.583 ± 0.391	0.208 ± 0.083	0.167 ± 0.096	0.167 ± 0.096	0.167 ± 0.096
$t_{1/2,z}$ (hr)	ナルデメジン	—	3.06 ± 2.23	2.24 ± 0.61	2.02 ± 0.06	2.42 ± 0.66
	モルヒネ	4.49 ± 2.14	3.35 ± 2.59	4.95 ± 2.45	3.17 ± 3.07	2.77 ± 1.96
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	ナルデメジン	—	14.9 ± 6.8	34.6 ± 4.1	116 ± 14	390 ± 33
	モルヒネ	905 ± 190	1030 ± 180	1200 ± 340	1220 ± 110	1230 ± 410

平均値 ± 標準偏差 (n = 4).

—: 適用せず.

2.6.4.3.3 イヌにおける吸収試験

2.6.4.3.3.1 イヌにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回静脈内又は経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度

評価資料 4.2.2.2-09

概要表 2.6.5.3.10

非絶食下の雄性ビーグルイヌに、DMA/生理食塩液 (1:9, v/v) に溶解した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 0.5 mg/kg の用量で単回静脈内投与又は 0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿及び血液中放射能並びに血漿中ナルデメジン濃度を測定し、PK パラメータを求めた。

表 2.6.4.3-11 に示すように、静脈内投与後の血漿中ナルデメジン濃度は、1.00 時間の $t_{1/2,z}$ で速やかに減少した。血漿及び血液中放射能は、それぞれ 21.2 時間及び 19.7 時間の $t_{1/2,z}$ で徐々に減少したことから残留しないと考えられる。

表 2.6.4.3-12 に示すように、経口投与後の血漿中放射能及びナルデメジンの T_{max} は、それぞれ 2.75 及び 2.38 時間であり、 C_{max} 値は、それぞれ 235 及び 207 ng/mL であった。その後、血漿中放射能及びナルデメジン濃度は低下し、それぞれ 16.6 及び 1.82 時間の $t_{1/2,z}$ で消失した。血漿中放射能及びナルデメジンの AUC_{0-inf} 値は、それぞれ 2430 及び 885 ng·hr/mL であった。血漿中ナルデメジンの放射能に対する AUC_{0-inf} 比率は 36.5% であり、イヌにおける BA は 59.5% と算出された。また、血液及び血漿中放射能は、それぞれ 15.0 及び 16.6 時間の $t_{1/2,z}$ で徐々に減少したことから、残留しないと考えられる。

表 2.6.4.3-11 イヌにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回静脈内投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	放射能 (ナルデメジン換算)		ナルデメジン
	血液	血漿	血漿
$t_{1/2,z}$ (hr)	19.7 ± 0.9	21.2 ± 1.9	1.00 ± 0.06
AUC_{0-inf} (ng·hr/mL)	1330 ± 110	1870 ± 130	751 ± 80
放射能に対する AUC 比 (%)	—	—	40.4 ± 5.8

投与量：0.5 mg/kg. 平均値 ± 標準偏差 (n = 4). —：適用せず。

表 2.6.4.3-12 イヌにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	放射能 (ナルデメジン換算)		ナルデメジン
	血液	血漿	血漿
C_{max} (ng/mL)	146 ± 65	235 ± 100	207 ± 113
T_{max} (hr)	2.75 ± 2.22	2.75 ± 2.22	2.38 ± 2.50
$t_{1/2,z}$ (hr)	15.0 ± 0.9	16.6 ± 1.5	1.82 ± 0.43
AUC_{0-inf} (ng·hr/mL)	1810 ± 100	2430 ± 100	885 ± 121
放射能に対する AUC 比 (%)	—	—	36.5 ± 4.8
BA (%)	—	—	59.5 ± 10.3

投与量：1 mg/kg. 平均値 ± 標準偏差 (n = 4). —：適用せず。

2.6.4.3.3.2 イヌにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度並びに血漿中ナルデメジン濃度

評価資料 4.2.2.2-10
概要表 2.6.5.3.11

非絶食下の雄性ビーグルイヌに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿及び血液中放射能並びに血漿中ナルデメジン濃度を測定し、PK パラメータを求めた。

表 2.6.4.3-13 に示すように、経口投与後の血漿中放射能及びナルデメジンの $T_{\max}$ は、それぞれ 1.75 及び 1.50 時間であり、 $C_{\max}$ 値は、それぞれ 342 及び 276 ng/mL であった。その後、血漿中放射能及びナルデメジン濃度は低下し、それぞれ 32.1 及び 1.74 時間の $t_{1/2,z}$ で消失した。血漿中ナルデメジンの放射能に対する $\text{AUC}_{0-\infty}$ 比率は 37.8% と算出された。また、血液中放射能は、血漿中放射能の $t_{1/2,z}$ (32.1 時間) とほぼ同じである 35.5 時間の $t_{1/2,z}$ で徐々に減少したことから、血漿及び血液中放射能は残留しないと考えられる。

表 2.6.4.3-13 イヌにおける [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	放射能 (ナルデメジン換算)		ナルデメジン
	血液	血漿	血漿
$C_{\max}$ (ng/mL)	211 ± 43	342 ± 63	276 ± 61
$T_{\max}$ (hr)	1.75 ± 0.50	1.75 ± 0.50	1.50 ± 0.58
$t_{1/2,z}$ (hr)	35.5 ± 18.9	32.1 ± 9.7	1.74 ± 0.72
$\text{AUC}_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	2210 ± 1130	2730 ± 580	999 ± 69
放射能に対する AUC 比 (%)	—	—	37.8 ± 7.3

投与量：1 mg/kg. 平均値 ± 標準偏差 (n = 4). —：適用せず。

2.6.4.3.3.3 イヌにおけるナルデメジントシル酸塩単回静脈内投与後の用量相関性

評価資料 4.2.2.2-11

概要表 2.6.5.3.12

非絶食下の雄性ビーグルイヌに、DMA/生理食塩液 (1:9, v/v) に溶解したナルデメジントシル酸塩を 0.5 及び 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの血漿中ナルデメジン濃度を測定し、PK パラメータを求めた。

表 2.6.4.3-14 に示すように、静脈内投与後の血漿中ナルデメジンの濃度は速やかに減少し、0.5 及び 1 mg/kg における $t_{1/2,z}$ 値は、それぞれ 1.28 及び 1.24 時間であった。 $\text{AUC}_{0-\infty}$ は用量に比例して増大し、各用量における $t_{1/2,z}$ 、 CL_{tot} 及び Vd_{ss} はほぼ一定値を示したことから、ナルデメジントシル酸塩静脈内投与後の体内動態は、1 mg/kg まで線形であると考えられる。

表 2.6.4.3-14 イヌにおけるナルデメジントシル酸塩単回静脈内投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	投与量 (mg/kg)	
	0.5	1
$t_{1/2,z}$ (hr)	1.28 ± 0.03	1.24 ± 0.03
$\text{AUC}_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	989 ± 72	1970 ± 190
CL_{tot} (mL/hr/kg)	508 ± 36	512 ± 47
Vd_{ss} (L/kg)	461 ± 58	467 ± 30

平均値 ± 標準偏差 (n = 4).

2.6.4.3.3.4 イヌにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の用量相関性

評価資料 4.2.2.2-11

概要表 2.6.5.3.13

非絶食下の雄性ビーグルイヌに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 0.3, 1, 3 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中濃度を測定し、PK パラメータを求めた。

表 2.6.4.3-15 に示すように、0.3～10 mg/kg における経口投与後の血漿中ナルデメジンの $T_{\max}$ 値は、1.13～1.75 時間の範囲であり、血漿中ナルデメジンは、 $C_{\max}$ (0.3, 1, 3 及び 10 mg/kg において、それぞれ 57.9, 213, 963 及び 4110 ng/mL) に到達後、1.70～3.14 時間の $t_{1/2,z}$ で低下した。また、0.3, 1, 3 及び 10 mg/kg における血漿中ナルデメジンの $AUC_{0-\infty}$ 値は、それぞれ 291, 989, 3700 及び 19500 ng·hr/mL であり、 $C_{\max}$ とともに 3 mg/kg までは用量にほぼ比例して増大した。しかし、10 mg/kg においては用量比以上の増大が認められ、肝臓及び/又は腸管でのナルデメジンの初回通過効果の飽和が示唆された。さらに、0.5 mg/kg における静脈内投与後の $AUC_{0-\infty}$ 値 [2.6.4.3.2.3 項参照] を用いて算出した各用量におけるナルデメジントシル酸塩の BA は、それぞれ 48.9%, 49.9%, 62.4% 及び 98.6% であった。以上の結果から、非絶食下のイヌにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の体内動態は 3 mg/kg まで線形であると考えられる。

表 2.6.4.3-15 絶食及び非絶食イヌにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	投与量 (mg/kg)				
	非絶食				絶食
	0.3	1	3	10	1
$C_{\max}$ (ng/mL)	57.9 ± 35.8	213 ± 81	963 ± 346	4110 ± 630	655 ± 54
$T_{\max}$ (hr)	1.75 ± 1.50	1.38 ± 1.75	1.63 ± 1.60	1.13 ± 0.63	0.250 ± 0.000
$t_{1/2,z}$ (hr)	3.14 ± 0.93	2.36 ± 0.61	1.70 ± 0.22	2.26 ± 0.08	1.36 ± 0.13
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	291 ± 45	989 ± 127	3700 ± 500	19500 ± 2800	849 ± 65
BA (%)	48.9 ± 4.0	49.9 ± 3.5	62.4 ± 7.9	98.6 ± 11.2	—

平均値 ± 標準偏差 (n = 4).

2.6.4.3.3.5 イヌにおけるナルデメジントシル酸塩を単回経口投与後の食餌の影響

評価資料 4.2.2.2-11

概要表 2.6.5.3.13

絶食及び非絶食下の雄性ビーグルイヌに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中濃度を測定し、ナルデメジントシル酸塩の体内動態に及ぼす食餌の影響を検討した。

絶食イヌにおける血漿中ナルデメジンの $T_{\max}$, $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ 値は、それぞれ 0.250 時間、655 ng/mL 及び 849 ng·hr/mL であった (表 2.6.4.3-15)。非絶食イヌにおける血漿中ナルデメジンの $AUC_{0-\infty}$ は絶食イヌに比べ変化しなかったが、 $C_{\max}$ 値は絶食イヌの値に比べ約 30% 減少し、

$T_{\max}$ は遅延した。これらのことから、イヌにおいては、食餌によりナルデメジンの経口吸収速度は低下するが、経口吸収の程度は影響されないと考えられる。

2.6.4.3.4 フェレットにおける吸収試験

2.6.4.3.4.1 モルヒネ皮下投与フェレットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の用量相関性

評価資料 4.2.2.2-12

概要表 2.6.5.3.14

ナルデメジントシル酸塩の制吐作用と体内動態の相関性を検討するために、モルヒネを皮下投与した非絶食下の雄性マーシャルフェレットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 0.01, 0.03, 0.1 及び 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中ナルデメジン濃度を測定し、PK パラメータを求めた。非絶食フェレットにナルデメジントシル酸塩を単回経口投与した 30 分後に、モルヒネ塩酸塩を 0.6 mg/kg の用量で単回皮下投与した。

表 2.6.4.3-16 に示すように、0.01～0.3 mg/kg における血漿中ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ は、用量にほぼ比例して増大したことから、モルヒネ皮下投与フェレットにおいて血漿中ナルデメジン濃度は 0.3 mg/kg まで線形の範囲内であると考えられる。

表 2.6.4.3-16 モルヒネ皮下投与フェレットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の PK パラメータ

PK パラメータ	投与量 (mg/kg)			
	0.01	0.03	0.1	0.3
$C_{\max}$ (ng/mL)	4.72 ± 4.57	5.01 ± 3.88	10.9 ± 6.6	77.3 ± 75.9
$T_{\max}$ (hr)	0.63 ± 0.43	1.31 ± 1.80	1.50 ± 1.68	0.69 ± 0.38
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	9.65 ± 5.87	21.8 ± 12.4	52.7 ± 27.7	291 ± 140

平均値 ± 標準偏差 (n = 4).

2.6.4.3.4.2 モルヒネ経口投与フェレットにおけるナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血漿中ナルデメジン及びモルヒネ濃度

評価資料 4.2.2.2-13

概要表 2.6.5.3.15

血漿中モルヒネ濃度に及ぼすナルデメジントシル酸塩併用投与の影響を検討するために、モルヒネを経口投与した非絶食下の雄性マーシャルフェレットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 0.01, 0.03, 0.1 及び 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中ナルデメジン及び/又はモルヒネ濃度を測定した。非絶食下フェレットに投与媒体又はナルデメジントシル酸塩を単回経口投与した 30 分後に、モルヒネ塩酸塩を 1.2 mg/kg の用量で単回経口投与した。

表 2.6.4.3-17 に示すように、0.01～0.3 mg/kg における血漿中ナルデメジンの $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ は、0.3 mg/kg まで用量に比例して増大した。また、各用量における血漿中ナルデメジンの $T_{\max}$ 及び $t_{1/2,z}$ に大きな変化は認められなかった。したがって、0.3 mg/kg の用量までナルデメジンの

体内動態は線形であると考えられる。また、0.01～0.3 mg/kg のナルデメジントシル酸塩で前処置後の血漿中モルヒネの $C_{\max}$, $AUC_{0-\infty}$, $T_{\max}$ 及び $t_{1/2,z}$ は、ほぼ一定値を示し、これらの値は投与媒体で前処置後の値と同様であった。これらのことは、併用投与されたナルデメジンが血漿中モルヒネ濃度に影響しないことを示している。

表 2.6.4.3-17 モルヒネ経口投与フェレットにおける投与媒体又はナルデメジントシル酸塩前処置後の血漿中ナルデメジン及びモルヒネ濃度

PK パラメータ	測定対象	投与媒体	ナルデメジントシル酸塩の投与量 (mg/kg)			
			0.01 mg/kg	0.03 mg/kg	0.1 mg/kg	0.3 mg/kg
$C_{\max}$ (ng/mL)	ナルデメジン	—	2.75 ± 0.69	8.93 ± 2.17	26.6 ± 6.3	86.3 ± 16.3
	モルヒネ	54.8 ± 16.6	72.4 ± 13.5	74.1 ± 8.0	72.7 ± 18.3	75.2 ± 13.2
$T_{\max}$ (hr)	ナルデメジン	—	0.667 ± 0.289	0.563 ± 0.315	0.625 ± 0.250	0.625 ± 0.250
	モルヒネ	0.375 ± 0.144	0.375 ± 0.144	0.438 ± 0.125	0.313 ± 0.125	0.250 ± 0.000
$t_{1/2,z}$ (hr)	ナルデメジン	—	1.14 ± 0.27	1.30 ± 0.26	1.51 ± 0.59	2.70 ± 0.28
	モルヒネ	0.964 ± 0.428	0.545 ± 0.068	0.878 ± 0.756	1.33 ± 1.14	1.68 ± 0.83
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	ナルデメジン	—	5.81 ± 1.72	16.5 ± 2.8	61.8 ± 25.1	203 ± 65
	モルヒネ	82.9 ± 29.8	83.6 ± 7.9	97.5 ± 37.9	94.4 ± 21.6	114 ± 25

平均値 ± 標準偏差 (n = 4).

— : 適用せず.

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 *In vitro* 試験

2.6.4.4.1.1 たん白結合

評価資料 5.3.2.1-01

概要表 2.6.5.6.1

雄性 Sprague-Dawley 系ラット, 雄性 Wistar 系ラット, 雄性ビーグルイヌ, 雄性マーシャルフェレット及びヒト (男性) から採取した血清における 0.02, 0.2 及び 2 µg/mL の [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の *in vitro* たん白結合率を限外ろ過法により検討した。

[Oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の血清たん白結合率は, Sprague-Dawley 系ラットで 89.2%~90.5%, Wistar 系ラットで 88.9%~91.0%, イヌで 92.7%, フェレットで 89.3%~89.9%, ヒトで 93.2%~94.2%であった。検討したすべての種で, 血清たん白結合率に 0.02~2 µg/mL の範囲で濃度依存的な変化は, ほとんど認められなかった。また, 4%ヒト血清アルブミン (HSA) 溶液, 0.08% α₁-酸性糖たん白溶液, 1% γ-グロブリン溶液における [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の結合率は, それぞれ 95.3%~96.0%, 22.7%~25.9%及び 17.2%~19.5%であったことから, 血清中におけるナルデメジンの主結合たん白はアルブミンであることが明らかとなった。

2.6.4.4.1.2 血球移行性

評価資料 5.3.2.1-02

概要表 2.6.5.6.2

雄性 Sprague-Dawley 系ラット, 雄性ビーグルイヌ及びヒト (男性) から採取した血液における 0.02, 0.2 及び 2 µg/mL の [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の *in vitro* 血球移行性を検討した。

ラット, イヌ及びヒトにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の血球移行率は, それぞれ 13.5%~16.3%, 16.2%~20.3%及び 13.9%~15.5%であり, 血球移行性は低かった。検討したすべての種で, 血球移行率に 0.02~2 µg/mL の範囲で濃度依存的な変化は, 認められなかった。

2.6.4.4.2 ラットにおける分布試験

2.6.4.4.2.1 ラットにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の組織分布

評価資料 4.2.2.3-01

概要表 2.6.5.5.1

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに, 0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の組織分布を QWBA により検討した。組織中放射能の定量下限は, 約 16.3 ng/g であった。

投与後の放射能は全身に広く分布し, 血液及び血漿中放射能濃度は, 投与後 1 時間に最高値 (それぞれ 41.5 及び 57.1 ng/g) に達した。投与後 1 時間では, 比較的高い放射能が副腎 (143 ng/g),

ハーダー腺 (102 ng/g), 肝臓 (649 ng/g), 腎臓皮質 (149 ng/g), 腎臓髄質 (122 ng/g) 及び顎下腺 (139 ng/g) に認められた. 投与後 4 時間では, 血液, 血漿及びほとんどの組織における放射能濃度は投与後 1 時間よりも一時的に減少したが, 組織分布パターンは投与後 1 時間と同様であった. 投与後 8 時間では, 各組織における放射能は再び上昇し, 最も高い放射能が認められた組織は, 直腸粘膜 (972 ng/g) であり, 顎下腺 (628 ng/g), 肝臓 (525 ng/g) 及び耳下腺 (457 ng/g) と続いた. 投与後 72 時間では, すべての組織における放射能が低下し, 肝臓 (26.0 ng/g) を除くすべての組織中放射能濃度が定量下限未満となった. 肝臓中放射能は, その後, 24.0 時間の $t_{1/2,z}$ で消失した. なお, 大脳及び小脳における放射能は投与後 15 分から 72 時間にかけて検出下限未満であったことから, 血液脳関門 (BBB) におけるナルデメジン及びその代謝物の透過性は極めて低いと考えられる.

2.6.4.4.2.2 ラットにおける [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の組織分布

評価資料 4.2.2.3-02

概要表 2.6.5.5.2

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley ラットに, 0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の組織分布を QWBA により検討した. 組織中放射能の定量下限は, 約 15.5 ng/g であった.

投与後 1 時間で放射能は全身に広く分布するとともに, 血漿 (39.4 ng/g), 血液 (29.3 ng/g) 及び約半分の組織における放射能濃度が最高値に達し, 比較的高い放射能が副腎 (108 ng/g), 下垂体 (137 ng/g), 腸管壁 (110 ng/g), 肝臓 (708 ng/g), 腎皮質 (112 ng/g), 腎乳頭 (115 ng/g) 及び顎下腺 (110 ng/g) に認められた. 多くの組織における放射能の分布パターン及び程度は, [oxadiazole- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を用いた QWBA 試験と類似していた. 投与後 72 時間では, 肝臓 (23.7 ng/g) 及び腎皮髄境界部 (21.0 ng/g) を除くほぼすべての組織における放射能は定量下限未満であった. その後, 肝臓及び腎皮髄境界部における放射能は, それぞれ 55.4 及び 349 時間の $t_{1/2,z}$ で消失した. これらのことから, [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩単回投与後に, 放射能は残留しないことが示唆された. 一方, 脳内における放射能は, いずれの測定時点においても検出されなかったことから, [oxadiazole- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を用いた QWBA 試験の結果と同様に, BBB におけるナルデメジン及びその代謝物の透過性は極めて低いと考えられる.

[Oxadiazole- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を用いた QWBA 試験では, 投与後 8 時間の血漿, 血液及び各組織における放射能濃度は投与後 4 時間よりも高かったが, [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を用いた QWBA 試験では, このような現象は認められなかった. [Oxadiazole- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を経口投与したラットの *in vivo* 代謝物検索の結果, 血漿, 尿及び糞中の主代謝物としてベンズアミジンが検出されたことから [2.6.4.5.3.1 項参照], [oxadiazole- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩の QWBA 試験で認められた血漿, 血液及び組織中放射能の上昇は, 腸内細菌により生成されたベンズアミジンが小腸下部から吸収された [2.6.4.5.3.1 項参照] ことに起因すると推察された.

2.6.4.4.2.3 ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩反復経口投与後の組織分布

評価資料 4.2.2.3-03

概要表 2.6.5.5.3

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回 14 日間反復経口投与し、初回投与後 24 時間、7 回目投与後 24 時間、13 回目投与後 24 時間、14 回目投与後 1, 4, 8, 24, 72, 168, 336, 672 及び 1008 時間の測定時点で、放射能の組織分布を QWBA により検討した。組織中放射能の定量下限は、約 16.0 ng/g であった。

[Carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 13 回目投与後 24 時間における組織中放射能濃度は、14 回目投与後 24 時間の値と同様であったことから、組織中放射能は 13 回目投与までに定常状態に達していることが示唆された。また、14 回目投与後 336 時間で、肝臓、鼻骨、腎皮質及び腎皮髄境界部を除く大部分の組織における放射能は定量下限未満であった。これらの組織における放射能は、時間とともに減弱し、14 回目投与後 672 時間後では、鼻骨を除いて、検出されなかった。鼻骨においては、14 回目反復投与後 1008 時間でも高い放射能 (2264 ng/g) が認められた。追加実験として実施した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を単回静脈内投与した試験でラットの投与後 72 及び 168 時間における鼻骨内放射能が微量であったことから、鼻骨における高い放射能の原因は、ラットに経口投与された投与液による汚染であると考えられる。これらのことから、[carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩反復経口投与後に、いずれの組織にも放射能は残留しないことが示された。なお、脳内における放射能は、いずれの測定時点においても検出されなかったことから、BBB におけるナルデメジン及びその代謝物の透過性は極めて低いと考えられる。

2.6.4.4.2.4 有色ラットにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩又は[carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の組織分布

評価資料 4.2.2.3-04

概要表 2.6.5.5.4, 2.6.5.5.5

非絶食下の雄性 Long Evans 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩又は [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の組織分布を QWBA により検討した。[Oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩及び [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の組織中放射能の定量下限は、それぞれ約 13.1 及び 14.0 ng/g であった。

投与後 1 時間で放射能は全身に広く分布し、[oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩投与後 8 時間又は [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩投与後 1 時間までに、大部分の組織における放射能濃度が最高値に達した。また、Sprague-Dawley 系ラットでも観察されたように [2.6.4.4.2.1 項参照]、[oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩投与後 8 時間において、大部分の組織及び血漿中の放射能が高いレベルを維持しており、この現象は、ベンズアミジンの小腸下部からの吸収が原因と考えられる。脳内における [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジン及び [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジン由来の放射能は、全時点を通して検出されないか、定量下限未満であり、ナルデメジン

及びその代謝物の脳移行性は極めて低いと考えられる。投与後 72 時間以内に、眼球、肝臓、有色皮膚及びブドウ膜を除く大部分の組織における放射能は消失した。投与後 840 時間では、各標識体由来の放射能はブドウ膜においてのみ定量可能であった。しかしながら、[oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩及び [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩投与後のブドウ膜における放射能は、それぞれ 309 及び 447 時間の $t_{1/2}$ で消失した。したがって、ナルデメジン由来の放射能は、メラニン含有組織に残留しないと考えられる。

2.6.4.4.2.5 妊娠ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の組織分布

評価資料 4.2.2.3-05

概要表 2.6.5.7.1

非絶食下の妊娠 18 日齢の雌性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の組織分布を QWBA により検討した。組織中放射能の定量下限は、約 7 ng/g であった。

投与後 1 又は 2 時間で大部分の組織中放射能濃度は最高値に到達した。また、投与後 8 時間まで、母動物の大部分の組織における放射能は、血液における放射能と同じか、それよりも高かった。胎児の組織における放射能は母動物の血液における放射能より低く、投与後 24 時間までに定量下限付近まで低下した。これらのことから、放射能の胎盤通過性は低く、胎児に移行した放射能も速やかに消失すると考えられる。

2.6.4.4.2.6 ラットにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩又は [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血球移行性

評価資料 4.2.2.2-01, 4.2.2.2-02

概要表 2.6.5.6.3

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩又は [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の血球移行性を検討した。

投与後 15 分～24 時間までの [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジン及び [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジン由来の放射能の *in vivo* 血球移行率は、それぞれ 19.8%～55.5%及び 13.9%～34.8%であった。血球における放射能は、それぞれ 4.41 及び 16.5 時間の $t_{1/2,z}$ で減少したことから、放射能は血球に残留しないと考えられる。

2.6.4.4.3 イヌにおける分布試験

2.6.4.4.3.1 イヌにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩又は [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の血球移行性

評価資料 4.2.2.2-09, 4.2.2.2-10

概要表 2.6.5.6.4

非絶食下の雄性ビーグルイヌに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジ

ントシル酸塩又は [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の血球移行性を検討した。

投与後 15 分～24 時間までの [oxadiazole- ^{14}C]-ナルデメジン及び [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジン由来の放射能の *in vivo* 血球移行率は、それぞれ 8.4%～36.9%及び 6.9%～32.1%であった。血球における放射能は、それぞれ 12.6 及び 47.6 時間の $t_{1/2,z}$ で減少したことから、放射能は血球に残留しないと考えられる。

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 *In vitro* 試験

2.6.4.5.1.1 凍結ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝物検索

評価資料 5.3.2.2-01

概要表 2.6.5.10.1

ヒトで生成する可能性のある代謝物を検討するために、[oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 5 及び 50 µmol/L の濃度で凍結ヒト肝細胞と 37°C で 4 時間反応させた。反応液中の代謝物検索は放射能検出器を備えた高速液体クロマトグラフィ (Radio-HPLC) を用いて実施し、未変化のナルデメジンとその代謝物は LC/MS/MS により同定あるいは推定した。

凍結ヒト肝細胞と 50 µmol/L の [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩のインキュベーションでは、ナルデメジン 3-G、ナルデメジン 6-G 及び nor-ナルデメジンが主代謝物であり、それぞれ試料中放射能の 3%、3%及び 6%~7%を占めていた。ナルデメジントシル酸塩を経口投与したラット、フェレット及びイヌの血漿中主代謝物であるベンズアミジンは、ヒト肝細胞を用いた代謝反応では生成されなかった。以上の結果より、ナルデメジントシル酸塩の主代謝経路は、モルフィナン骨格の 3 及び 6 位水酸基におけるグルクロン酸抱合並びに 17 位メチルシクロプロパン基における *N*-脱アルキル化であると考えられる。

2.6.4.5.1.2 責任代謝酵素

評価資料 4.2.2.4-01

概要表 2.6.5.10.2

ナルデメジンはヒト肝細胞により nor-ナルデメジン、ナルデメジン 3-G 及びナルデメジン 6-G に代謝されたことから [2.6.4.5.1.1 項参照]、これらの生成に関わる責任代謝酵素を検討した。[Carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 50 µmol/L の濃度で、既知の選択的 CYP 阻害剤の存在下あるいは非存在下で、ヒト肝ミクロソームと反応させた。また、[carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を遺伝子組換えヒト CYP あるいは UGT 発現酵素と反応させた。それぞれの反応液中の代謝物を Radio-HPLC により測定した。

選択的な化学的阻害剤の有無におけるヒト肝ミクロソーム又は組換えヒト CYP 酵素と [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を反応させた結果、nor-ナルデメジンは主に CYP3A4 により生成されていることが示された。また、組換えヒト UGT 酵素と [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジンを反応させた結果、ナルデメジン 3-G 及びナルデメジン 6-G は UGT1A3 により生成されていると考えられる。

2.6.4.5.2 マウスにおける *in vivo* 代謝試験2.6.4.5.2.1 マウスにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後のナルデメジントシル酸塩の代謝物検索

評価資料 4.2.2.4-02

概要表 2.6.5.9.1

非絶食下の雄性 ICR 系マウスに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 5 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中代謝物を検討した。代謝物検索は Radio-HPLC を用いて実施し、未変化のナルデメジンとその代謝物は LC/MS/MS により同定あるいは推定した。

投与後 0.5 及び 2 時間における血漿中放射能の主成分 (それぞれ 45%及び 70%) は、未変化のナルデメジンであった。マウス血漿では、nor-ナルデメジンが血漿中放射能の 6%~9%を占めており、ナルデメジン 3-G、ナルデメジン 6-G、ナルデメジン (7S)-7-水酸化体及びナルデメジン-CA も微量ながら検出された。これらの代謝物に加えて、nor-ナルデメジンのグルクロン酸抱合体と推定される代謝物 (血漿中放射能の 6%~17%) 及び数種類の構造未知の代謝物 (血漿中放射能の 4%未満) も検出された。

2.6.4.5.3 ラットにおける *in vivo* 代謝試験2.6.4.5.3.1 ラットにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後のナルデメジントシル酸塩の代謝物検索

評価資料 4.2.2.4-03

概要表 2.6.5.9.2

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 及び 5 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿 (5 mg/kg を投与されたラットから採取)、尿、胆汁及び糞 (1 mg/kg を投与されたラットから採取) 中の代謝物を検討した。代謝物検索は Radio-HPLC を用いて実施し、未変化のナルデメジンとその代謝物は LC/MS/MS により同定あるいは推定した。

投与後 1 時間における血漿中放射能の主成分 (59%) は未変化のナルデメジンであったが、ナルデメジン 3-G 及び nor-ナルデメジンも検出され、それぞれ血漿中放射能の 13%及び 14%を占めた。一方、投与後 4 時間における血漿中放射能の主成分 (47%) はベンズアミジンであった。投与後 6 時間までに得られた胆汁では、ナルデメジン 3-G が主代謝物 (胆汁中放射能の 39%) であったが、nor-ナルデメジン及びナルデメジン 6-G (それぞれ胆汁中放射能の 8%及び 1%) も検出された。また、投与後 6 時間までに得られた尿及び投与後 24 時間までに得られた糞中放射能の大部分 (それぞれ 56%及び 58%) はベンズアミジンであった。なお、この代謝物はヒト肝細胞では生成していなかった。尿と 37°C で 12 時間インキュベートした [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジンは安定であったが、糞と 37°C で 12 時間インキュベートした [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジン及び胆汁中代謝物は不安定であった。これらのことは、ベンズアミジンは腸管内で腸内細菌により生成された後、小腸下部から吸収されることを示唆している。

2.6.4.5.3.2 ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後のナルデメジントシル酸塩の代謝物検索

評価資料 4.2.2.4-04

概要表 2.6.5.9.3

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 及び 5 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿 (5 mg/kg を投与されたラットから採取)、尿、胆汁及び糞 (1 mg/kg を投与されたラットから採取) 中の代謝物を検討した。代謝物検索は Radio-HPLC を用いて実施し、未変化のナルデメジンとその代謝物は LC/MS/MS により同定あるいは推定した。

投与後 1, 4, 6 及び 8 時間における血漿中放射能の大部分 (61%~69%) は未変化のナルデメジンであったが、ナルデメジン 3-G 及び nor-ナルデメジン (それぞれ血漿中放射能の 3%~8% 及び 2%~6%) も検出された。また、血漿中には、ナルデメジン-CA と推定される質量/電荷比 471 の代謝物がわずかに検出された。胆汁では、ナルデメジン 3-G が主代謝物 (胆汁中放射能の 58%) であったが、nor-ナルデメジン及びナルデメジン 6-G (それぞれ胆汁中放射能の 15%及び 1%) も検出された。また、尿中放射能の大部分 (50%) はナルデメジンであったが、ナルデメジン 3-G, nor-ナルデメジン, ナルデメジン 6-G (それぞれ尿中放射能の 10%, 4%及び 3%) も検出された。さらに、糞中放射能の大部分 (36%) はナルデメジン-CA と推定される代謝物であったが、ナルデメジン及びその胆汁中代謝物からベンズアミジンが脱離した構造由来と推定される数種類の代謝物も検出された。

[Oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩又は [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の 2 種類の標識体を用いたラットにおける *in vivo* 代謝物検索の結果から、ナルデメジントシル酸塩の代謝経路は、モルフィナン骨格の 3 及び 6 位水酸基におけるグルクロン酸抱合、17 位メチルシクロプロパン基における N-脱アルキル化並びにオキサジアゾール環の開裂であると考えられる。

2.6.4.5.3.3 ラットにおけるナルデメジントシル酸塩反復経口投与後のナルデメジン (7R)-7-水酸化体の予備的測定

参考資料 4.2.2.4-10

概要表 2.6.5.9.9

ヒト血漿中代謝物としてナルデメジン (7R)-7-水酸化体が認められたので [2.7.2.2.1.3 項参照]、ラットにおけるナルデメジン (7R)-7-水酸化体の血漿中曝露を検討した。非絶食下の雄性及び雌性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 30 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの血漿中ナルデメジン (7R)-7-水酸化体濃度を LC/MS/MS により予備的に測定した。この試験は信頼性基準外試験として実施した。

ナルデメジントシル酸塩初回投与後 0.5, 1, 2, 4 及び 8 時間の血漿並びに 14 回目投与前及び投与後 24 時間のいくつかの血漿でナルデメジン (7R)-7-水酸化体が検出されたことから、ナルデメジン (7R)-7-水酸化体はラット血漿におけるナルデメジントシル酸塩の代謝物の一つであると考えられる。

2.6.4.5.4 ウサギにおける *in vivo* 代謝試験2.6.4.5.4.1 ウサギにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与後のナルデメジントシル酸塩の代謝物検索

評価資料 4.2.2.4-05

概要表 2.6.5.9.4

非絶食下の雌性日本白色ウサギに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 5 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中代謝物を検討した。代謝物検索は Radio-HPLC を用いて実施し、未変化のナルデメジンとその代謝物は LC/MS/MS により同定あるいは推定した。

投与後 0.5 及び 2 時間の血漿では、ナルデメジン 3-G が主代謝物であり、血漿中放射能の 62%～70%を占めた。また、nor-ナルデメジン、ナルデメジン 6-G 及びベンズアミジンも微量ながら検出された。これらの代謝物に加えて、nor-ナルデメジンのグルクロン酸抱合体と推定される代謝物（血漿中放射能の 4%～5%）も検出された。

2.6.4.5.5 イヌにおける *in vivo* 代謝試験2.6.4.5.5.1 イヌにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後のナルデメジントシル酸塩の代謝物検索

評価資料 4.2.2.4-06

概要表 2.6.5.9.5

絶食下の雄性ビーグルイヌに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿、尿、胆汁及び糞中代謝物を検討した。代謝物検索は Radio-HPLC を用いて実施し、未変化のナルデメジンとその代謝物は LC/MS/MS により同定あるいは推定した。

投与後 1 及び 4 時間における血漿中放射能の主成分（それぞれ 65%及び 27%）は未変化のナルデメジンであったが、投与後 8 時間における血漿中放射能の主成分（34%）はベンズアミジンであった。また、尿及び糞中放射能の大部分（それぞれ 60%及び 46%）はベンズアミジンであった。胆汁では、ナルデメジン 3-G、nor-ナルデメジン及びナルデメジン 6-G が主代謝物であり、それぞれ胆汁中放射能の 11%、8%及び 4%を占めた。さらに、胆汁中には、オキサジアゾール環が開裂したモルフィナン骨格を有する代謝物も検出された（胆汁中放射能の 5%以下）。

2.6.4.5.5.2 イヌにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与後のナルデメジントシル酸塩の代謝物検索

評価資料 4.2.2.4-07

概要表 2.6.5.9.6

非絶食下の雄性ビーグルイヌに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 5 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿、尿、胆汁及び糞中代謝物を検討した。代謝物検索は Radio-HPLC を用いて実施し、未変化のナルデメジンとその代謝物は

LC/MS/MS により同定あるいは推定した。

投与後 1, 4 及び 8 時間における血漿中放射能の主成分 (66%~77%) 及び投与後 6~24 時間に得られた尿中放射能の主成分 (14%) は未変化のナルデメジンであった。また, nor-ナルデメジン (血漿中放射能の約 3%~4%), 及び 2 種類の未知の代謝物 (血漿中放射能の 4%未満) も検出されたが, これらの代謝物の量はナルデメジンより少なかった。胆汁中には, [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を投与したイヌ胆汁中主代謝物として認められたナルデメジン 3-G (胆汁中放射能の 9%), nor-ナルデメジン (胆汁中放射能の 8%) 及びナルデメジン 6-G (radio-HPLC クロマトグラムにおけるわずかなピーク) が検出された。その他に, ナルデメジンの酸化的代謝物及びそのグルクロン酸抱合体と推定される代謝物 (胆汁放射能の 9%以下) も検出された。糞中には, ナルデメジン-CA と推定される代謝物 (糞中放射能の 17%) が主代謝物として検出された。また, nor-ナルデメジン及びナルデメジンの酸化的代謝物からベンズアミジンが脱離したと推定される代謝物 (糞中放射能の 9%以下) も認められた。Nor-ナルデメジン及びナルデメジン 3-G などの胆汁及び糞で検出された代謝物のいくつかは, 尿中にも検出された (尿中放射能の 5%未満)。

イヌにおけるナルデメジントシル酸塩の代謝物検索の結果から, ナルデメジントシル酸塩の代謝経路は, モルフィナン骨格の 3 及び 6 位水酸基におけるグルクロン酸抱合, 17 位メチルシクロプロパン基における *N*-脱アルキル化並びにオキサジアゾール環の開裂であることが示唆された。また, イヌでは, モルフィナン骨格の 17 位メチルシクロプロパン基における *N*-脱アルキル化以外の酸化的代謝も代謝経路に含まれる可能性が示された。

2.6.4.5.5.3 イヌにおけるナルデメジントシル酸塩反復経口投与後のナルデメジン (7R)-7-水酸化体の予備的測定

参考資料 4.2.2.4-10

概要表 2.6.5.9.9

ヒト血漿中代謝物としてナルデメジン (7R)-7-水酸化体が認められたので [2.7.2.2.1.3 項参照], イヌ 9 ヶ月反復経口投与毒性試験から得られた試料を用いてナルデメジン (7R)-7-水酸化体の血漿中曝露を予備的に検討した。非絶食下の雄性及び雌性ビーグルイヌに, 0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁したナルデメジントシル酸塩を 20 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 9 ヶ月間反復経口投与したときの血漿中ナルデメジン (7R)-7-水酸化体濃度を LC/MS/MS により予備的に測定した。この試験は信頼性基準外試験として実施した。

ナルデメジントシル酸塩 273 日目投与後すべての時点の血漿でナルデメジン (7R)-7-水酸化体が検出されたことから, ナルデメジン (7R)-7-水酸化体はイヌ血漿におけるナルデメジントシル酸塩の代謝物の一つであると考えられる。

2.6.4.5.6 フェレットにおける *in vivo* 代謝試験2.6.4.5.6.1 フェレットにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後のナルデメジントシル酸塩の代謝物検索

評価資料 4.2.2.4-08

概要表 2.6.5.9.7

非絶食下の雄性マーシャルフェレットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中代謝物を検討した。代謝物検索は Radio-HPLC を用いて実施し、未変化のナルデメジンとその代謝物は LC/MS/MS により同定あるいは推定した。

投与後 1 時間における血漿中放射能の主成分 (72%) は未変化のナルデメジンであったが、投与後 4 時間における血漿中では、未変化のナルデメジン及びベンズアミジンが主成分 (それぞれ血漿中放射能の 34%) として検出された。

2.6.4.5.6.2 フェレットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後のナルデメジントシル酸塩の代謝物検索

評価資料 4.2.2.4-09

概要表 2.6.5.9.8

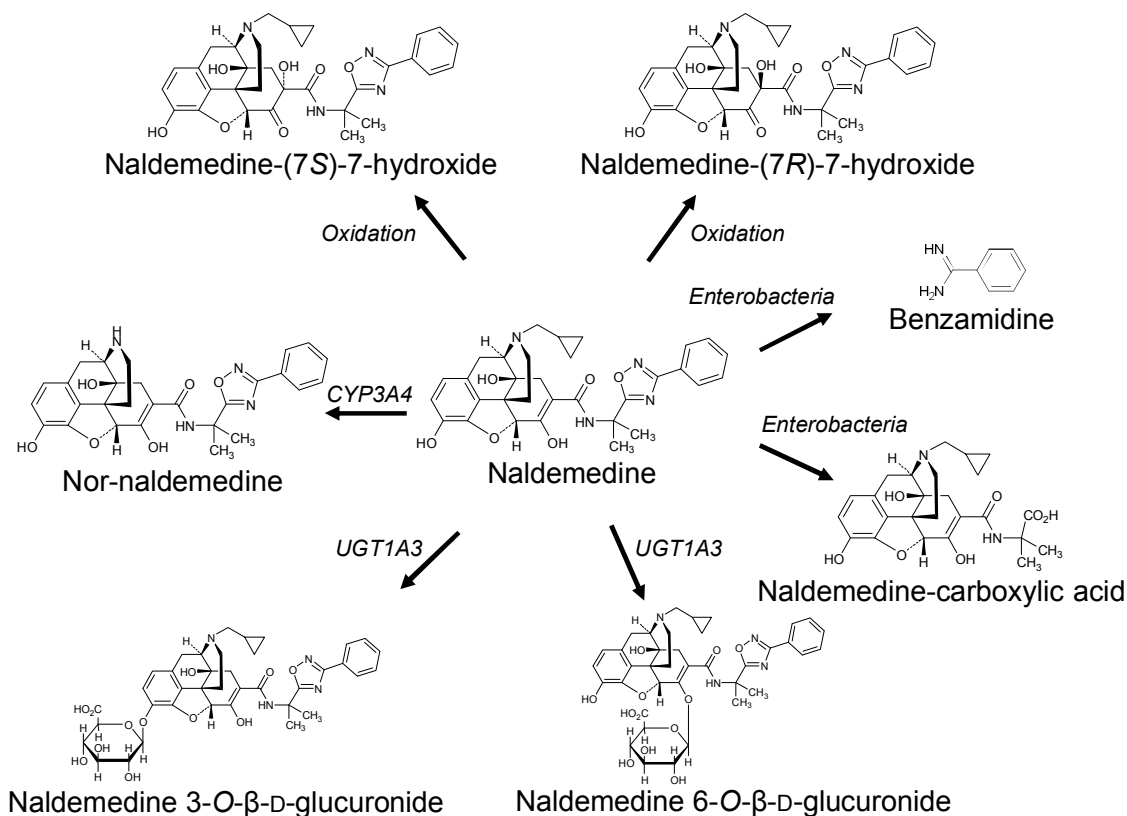
非絶食下の雄性マーシャルフェレットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血漿中代謝物を検討した。代謝物検索は Radio-HPLC を用いて実施し、未変化のナルデメジンとその代謝物は LC/MS/MS により同定あるいは推定した。

投与後 1 及び 4 時間における血漿中放射能の主成分 (それぞれ 81% 及び 86%) は未変化のナルデメジンであったが、ナルデメジン 3-G (血漿中放射能の 2%~5%) 及びナルデメジンより 16 ダルトン大きい分子量を有する代謝物 (血漿中放射能の 2%) も検出された。また、放射能のピークは検出されなかったが、LC/MS/MS 解析により、フェレット血漿中にベンズアミジンが検出された。

2.6.4.5.7 推定代謝経路

ヒト，マウス，ラット，ウサギ，イヌ及びフェレットにおける *in vitro* 及び/又は *in vivo* 代謝物検索結果から推定したナルデメジンの代謝経路を図 2.6.4.5-1 に示す。

図 2.6.4.5-1 ナルデメジンの推定代謝経路



2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 ラットにおける排泄試験

2.6.4.6.1.1 ラットにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の尿、糞及び胆汁中排泄

評価資料 4.2.2.5-01

概要表 2.6.5.13.1, 2.6.5.14.1

非絶食下の無処置又は胆管カニュレーションを施した雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの尿、糞及び胆汁中放射能排泄について検討した。

無処置ラットでは、投与した放射能の 98.3%が投与後 168 時間までに回収され、累積尿中排泄率 (49.2%) は、累積糞中排泄率 (49.1%) と同程度であった。胆管カニュレーションを施したラットでは、投与後 48 時間までの累積尿、胆汁及び糞中排泄率は、それぞれ 44.8%、28.2%及び 24.4%であり、放射能の総回収率は 97.5%であった。これらの結果から、[oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の経口投与後に吸収された放射能は、主として尿に排泄されるが、胆汁を介して糞中へも排泄されることが考えられる。また、尿及び胆汁中放射能排泄率の和から求めた [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の経口吸収率は 73.0%であった。

2.6.4.6.1.2 ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の尿、糞及び胆汁中排泄

評価資料 4.2.2.5-02

概要表 2.6.5.13.1, 2.6.5.14.1

非絶食下の無処置又は胆管カニュレーションを施した雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの尿、糞及び胆汁中放射能排泄について検討した。

無処置ラットでは、投与した放射能の 98.9%が投与後 168 時間までに回収され、累積尿及び糞中排泄率は、それぞれ 1.5%及び 97.4%であった。胆管カニュレーションを施したラットでは、投与後 48 時間までの累積尿、胆汁及び糞中排泄率は、それぞれ 2.5%、31.3%及び 57.6%であり、消化管内要物からの回収放射能 (6.3%) と合わせた放射能の総回収率は 97.6%であった。これらの結果は、[carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の経口投与後に吸収された放射能は、主として胆汁を介して糞中へ排泄されることを示している。また、尿及び胆汁中放射能排泄率の和から求めた [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の経口吸収率は 33.8%であった。

2.6.4.6.1.3 ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩反復経口投与後の尿及び糞中排泄

評価資料 4.2.2.5-03

概要表 2.6.5.13.2

非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したときの投与期間中及び投与後の尿及び糞中放射能排泄について検討した。

初回投与後 24 時間までの尿及び糞には、それぞれ投与した放射能の 1.1%及び 92.6%が排泄され、総回収率は 93.7%であった。一方、14 回目投与後 24 時間までの尿及び糞には、それぞれ累積投与放射能の 2.0%及び 96.6% (合計 98.5%) が排泄され、168 時間までの尿及び糞には、それぞれ累積放射能の 2.0%及び 97.3% (合計 99.3%) が排泄された。以上の結果から、投与した放射能の大部分は速やかにかつ糞中に排泄された。また、反復経口投与後の放射能の尿及び糞中排泄パターンは単回経口投与後のパターンと同様であり、放射能の排泄は反復投与により影響されないと考えられる。

2.6.4.6.1.4 ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の腸肝循環

評価資料 4.2.2.5-04

概要表 2.6.5.14.2

胆管カニュレーションを施した非絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットを用い、ドナーラットの胆汁がレシピエントラットの十二指腸に流入するように連結後、ドナーラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の腸肝循環を検討した。

投与した放射能の 1.1%がドナーラットの胆汁を介してレシピエントラットに再吸収され、腸肝循環率はレシピエントラットに移行した放射能 (投与した放射能の 27.7%) の 1.3%であった。これらの結果から、ナルデメジントシル酸塩の体内動態に及ぼす腸肝循環の影響はないと考えられる。

2.6.4.6.1.5 授乳ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の乳汁移行性

評価資料 4.2.2.5-05

概要表 2.6.5.7.2

非絶食下の授乳雌性 Sprague-Dawley ラットに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の乳汁移行性を検討した。血漿及び乳汁中放射能の定量下限は、それぞれ 1.59～1.71 ng/g 及び 3.08～7.16 ng/g であった。

表 2.6.4.6-1 に示すように、投与後 1 時間において、血漿及び乳汁中放射能は最大値に到達した。乳児が母乳を介して受ける放射能の最大曝露量は少なく、母ラットに投与した放射能の約 0.03%と計算された。母ラットの血漿及び乳汁中放射能は、投与後 24 時間には定量下限未満に

低下したことより、母ラット及び乳児にナルデメジン及びその代謝物は残留しないと考えられる。

表 2.6.4.6-1 授乳ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後時の血漿及び乳汁中放射能濃度

時間	放射能濃度 (µg 当量/g)		放射能濃度比 (乳汁/血漿)
	乳汁	血漿	
1	74.6 ± 20.7	115 ± 26	0.64 ± 0.06
2	68.9 ± 16.3	68.0 ± 11.1	1.0 ± 0.1
4	35.0 ± 8.9	33.1 ± 11.6	1.1 ± 0.1
8	8.65 ± 2.74	7.71 ± 1.70	1.1 ± 0.1
24	BLQ	BLQ	N.C.

投与量：1 mg/kg. 平均値 ± 標準誤差 (n = 3).
BLQ：定量下限未満. N.C.：計算せず.

2.6.4.6.2 イヌにおける排泄試験

2.6.4.6.2.1 イヌにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回静脈内、経口及び十二指腸内投与後の尿、糞及び胆汁中排泄

評価資料 4.2.2.2-09
概要表 2.6.5.13.3, 2.6.5.14.3

無処置雄性ビーグルイヌに、DMA/生理食塩液 (1:9, v/v) に溶解した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 0.5 mg/kg の用量で単回静脈内投与又は 0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与、又は胆管カニューレーションを施した雄性ビーグルイヌに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回十二指腸内投与したときの尿、糞及び胆汁中放射能排泄について検討した。

無処置イヌにおける単回静脈内投与後 168 時間までの累積尿及び糞中排泄率は、それぞれ 24.3%及び 68.2%であり、放射能の総回収率は 92.5%であった。無処置イヌにおける単回経口投与後 168 時間までの累積尿及び糞中排泄率は、それぞれ 25.7%及び 67.0%であり、放射能の総回収率は 92.8%であった。胆管カニューレーションを施したイヌにおける単回十二指腸内投与後 48 時間までの累積尿、胆汁及び糞中排泄率は、それぞれ 28.1%、57.8%及び 9.3%であり、放射能の総回収率は 95.1%であった。これらの結果から、[oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の経口投与後に吸収された放射能は、主として胆汁を介して糞中へ排泄され则认为られる。また、尿及び胆汁中放射能排泄率の和から求めた [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の経口吸収率は 85.9%であった。

2.6.4.6.2.2 イヌにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口及び十二指腸内投与後の尿、糞及び胆汁中排泄

評価資料 4.2.2.2-10
概要表 2.6.5.13.3, 2.6.5.14.3

無処置又は胆管カニュレーションを施した雄性ビーグルイヌに、0.5 w/v% MC 水溶液に懸濁した [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口又は十二指腸内投与したときの尿、糞及び胆汁中放射能排泄について検討した。

無処置イヌにおける単回経口投与後 168 時間までの累積尿及び糞中排泄率は、それぞれ 5.2% 及び 92.0% であり、放射能の総回収率は 97.2% であった。胆管カニュレーションを施したイヌにおける単回十二指腸内投与後 48 時間までの累積尿、胆汁及び糞中排泄率は、それぞれ 14.5%、52.4% 及び 26.0% であり、消化管内要物からの回収放射能 (0.3%) と合わせた放射能の総回収率は 93.1% であった。これらの結果から、[carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩の経口投与後に吸収された放射能は、主として胆汁を介して糞中へ排泄されと考えられる。また、尿及び胆汁中放射能排泄率の和から求めた [carbonyl- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩の経口吸収率は 66.9% であった。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 *In vitro* 試験

2.6.4.7.1.1 ヒト CYP 酵素に対するナルデメジントシル酸塩の阻害作用

評価資料 5.3.2.2-02

概要表 2.6.5.12.1

ヒト肝 CYP 分子種 [CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4/5 (4 種の基質) 及び 4A11] に対するナルデメジントシル酸塩の濃度依存的及び時間依存的な影響を、ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験系で検討した。見かけのミカエリス定数付近の濃度における各 CYP 分子種のマーカー基質を、0.03~20 $\mu\text{mol/L}$ の範囲のナルデメジントシル酸塩存在下又は非存在下で、ヒト肝ミクロソームとインキュベートした。また、ナルデメジントシル酸塩をヒト肝ミクロソームとプレインキュベート後、マーカー基質の残存活性を測定することで、時間依存的な阻害を評価した。

評価したすべての CYP 酵素について、濃度依存的な阻害に対するナルデメジントシル酸塩の 50%阻害濃度 (IC_{50}) は、いずれの CYP に対しても 20 $\mu\text{mol/L}$ 以上であった。また、時間依存的な阻害では、20 $\mu\text{mol/L}$ でのプレインキュベーション後における阻害は 16%未満であり、ナルデメジントシル酸塩による不可逆的な阻害も認められなかった。

2.6.4.7.1.2 ヒト CYP 酵素に対する nor-ナルデメジンの阻害作用

評価資料 5.3.2.2-03

概要表 2.6.5.12.2

ヒト肝 CYP 分子種 [CYP1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 及び 3A4/5 (2 種の基質：テストステロン 6 β 水酸化活性及びミダゾラム 1' 水酸化活性)] に対して、nor-ナルデメジンが及ぼす濃度依存的及び時間依存的な影響を、ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験系で検討した。各 CYP 分子種のマーカー基質を、1 及び 20 nmol/L の nor-ナルデメジン存在下又は非存在下で、ヒト肝ミクロソームとインキュベートした。また、nor-ナルデメジンをヒト肝ミクロソーム及び NADPH と 30 分間プレインキュベート後、マーカー基質をインキュベートすることで、時間依存的な阻害を評価した。

評価したすべての CYP 酵素について、濃度依存的な阻害における nor-ナルデメジンの IC_{50} 値は、いずれの CYP に対しても 20 nmol/L よりも高かった。また、時間依存的な阻害では、20 nmol/L でのプレインキュベーション後における阻害は 9.4%未満であり、nor-ナルデメジンによる不可逆的な阻害も認められなかった。

2.6.4.7.1.3 ヒト肝薬物代謝酵素系に対するナルデメジントシル酸塩の誘導能

評価資料 5.3.2.2-04, 5.3.2.2-05

概要表 2.6.5.12.3, 2.6.5.12.4

ナルデメジントシル酸塩を 1~10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度範囲で、3 人のドナーから得られたヒト初代培養肝細胞に対して 48 時間曝露した後、CYP1A2, CYP3A4, UGT1A2, UGT1A6 及び UGT2B7 のマーカー活性変動の程度を測定した。

ナルデメジントシル酸塩処理による CYP1A2, UGT1A6 及び UGT2B7 の誘導は、認められなかった。一方、3 人のうち 1 人のドナーから得られた肝細胞において、10 $\mu\text{mol/L}$ のナルデメジントシル酸塩により CYP3A4 のマーカー活性が上昇したが、予定臨床用量 (0.2 mg/日) におけるナルデメジンの C_{max} 値 (2 ng/mL) [2.7.2.2.2.6 項参照] よりもはるかに高い 1 $\mu\text{mol/L}$ (ナルデメジンとして 743 ng/mL) のナルデメジントシル酸塩による CYP3A4 のマーカー活性上昇は認められなかった。また、すべてのドナーから得られた肝細胞において、UGT1A2 のマーカー活性が上昇したが、1 $\mu\text{mol/L}$ のナルデメジントシル酸塩による UGT1A2 のマーカー活性上昇はわずか (10%~30%) であった。したがって、臨床時に想定されるナルデメジンの血漿中曝露において、CYP1A2, CYP3A4, UGT1A2, UGT1A6 又は UGT2B7 の明らかな誘導は認められないと考えられる。

ナルデメジントシル酸塩を 0.03~10 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で、ヒト初代培養肝細胞に対して 72 時間曝露した後、CYP2B6 のメッセンジャーリボ核酸 (mRNA) 発現量を定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) により測定し、CYP2B6 のマーカー活性変動の程度も合わせて測定した。

ナルデメジントシル酸塩による CYP2B6 の mRNA 発現量及びマーカー活性は、0.03~10 $\mu\text{mol/L}$ において、それぞれ 82%まで及び 197%まで上昇したが、いずれも陽性対照であるフェノバルビタールによる上昇率の 20%未満であった。以上の結果から、ナルデメジントシル酸塩はヒト肝細胞において CYP2B6 を誘導しないと考えられる。

2.6.4.7.1.4 ヒト肝薬物代謝酵素系に対する nor-ナルデメジンの誘導能 (予備的検討)

参考資料 5.3.2.2-06

概要表 2.6.5.12.5

Nor-ナルデメジンを 0.932 及び 18.6 nmol/L の濃度で、1 人のドナーから得られたヒト凍結肝細胞に対して 72 時間曝露した後、CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4 の酵素活性を測定し、それぞれの mRNA 発現量を定量的 RT-PCR により測定した。本試験は信頼性基準外試験として実施した。

Nor-ナルデメジン処理による CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4 の誘導は、いずれの濃度でも認められなかった。

2.6.4.7.1.5 P-gp を介したナルデメジントシル酸塩の薬物相互作用 (基質及び阻害評価)

評価資料 4.2.2.6-01

概要表 2.6.5.15.1

Caco-2 細胞を用いた双方向の経細胞輸送実験により、ナルデメジントシル酸塩が P-gp の基質及び阻害剤であるか否かを検討した。基質評価では [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を 0.2 µmol/L で、阻害評価ではナルデメジントシル酸塩を 5 µmol/L で、それぞれ 37°C で 2 時間インキュベートした。

[Oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の Caco-2 細胞の表層側 (管腔側) から基底側 (血管側) へのみかけの膜透過係数 (P_{app}) 及び基底側から表層側への P_{app} は、それぞれ 1.07×10^{-6} 及び 28.2×10^{-6} cm/sec であり、 P_{app} 比 (基底側から表層側の P_{app} /表層側から基底側の P_{app}) が 26.3 であったことから、FDA ガイダンス [2] の判断基準 (P_{app} 比 > 2) に従って、[oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩は Caco-2 細胞において排出方向へ輸送されると考えられる。また、P-gp の特異的阻害剤であるシクロスポリン A 又はケトコナゾール (ともに 10 µmol/L) の存在下において、[oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩の排出方向への輸送が顕著に阻害され、 P_{app} 比が 1 近くまで低下したことは、ナルデメジントシル酸塩は P-gp の基質であることを示唆している。さらに、5 µmol/L のナルデメジントシル酸塩存在下において、P-gp の典型的な基質である [³H]-ジゴキシンの P_{app} 比は、20%しか低下しなかった。したがって、ナルデメジントシル酸塩は、P-gp の阻害剤ではないと考えられる。

2.6.4.7.1.6 その他のヒトトランスポーターに対するナルデメジントシル酸塩の基質評価

評価資料 4.2.2.6-02

概要表 2.6.5.15.2

肝取り込みトランスポーター (OATP1B1, OATP1B3 及び OCT1) 並びに腎取り込みトランスポーター (OAT1, OAT3 及び OCT2) 発現ヒト胎児由来腎臓 293 細胞又は Caco-2 細胞及び排出トランスポーター (BCRP) をノックダウンした細胞 (CPT-B1 細胞) を用いた輸送アッセイにより、ナルデメジントシル酸塩が各トランスポーターの基質であるかを検討した。BCRP の検討では、0.5~10 µmol/L の濃度範囲のナルデメジントシル酸塩の輸送アッセイを 37°C で 2 時間実施し、他のトランスポーターの検討では、0.5 及び 2 µmol/L のナルデメジントシル酸塩の輸送アッセイを 37°C で 2、5 及び 10 分間実施した。

OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1 又は OAT3 によるナルデメジントシル酸塩のトランスポーター発現細胞/コントロール細胞の取り込み活性比は 2.0 未満であったことから、FDA ガイダンス [2] の判断基準 (トランスポーター発現細胞/コントロール細胞の取り込み活性比 > 2) に従って、ナルデメジントシル酸塩はこれらのトランスポーターの基質ではないと結論した。また、Caco-2 細胞及び CPT-B1 細胞におけるナルデメジントシル酸塩の P_{app} 比は、それぞれ 14.9~19.5 及び 69.7~140 であった。CPT-B1 細胞において BCRP をノックダウンしたことによるナルデメジントシル酸塩の P_{app} 比の低下は認められなかったことより、ナルデメジントシル酸塩は BCRP の基質ではないと考えられる。なお、Caco-2 細胞及び CPT-B1 細胞の品質試験結果 [2.6.5.15.2 項参照] に示されるように、P-gp の典型的な基質であるジゴキシンの排出

輸送は, Caco-2 細胞に比較して CPT-B1 細胞では 6.7 倍に増加した. ナルデメジントシル酸塩が P-gp の基質である [2.6.4.7.1.5 項参照] ことを考慮すると, CPT-B1 細胞で観察されたナルデメジントシル酸塩の排出輸送の増強は, おそらく P-gp 活性の増強によるものであると考えられる.

2.6.4.7.1.7 その他のヒトトランスポーターに対するナルデメジントシル酸塩の阻害評価

評価資料 4.2.2.6-03

概要表 2.6.5.15.3

OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3 及び BCRP による輸送に対するナルデメジントシル酸塩の阻害能を, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2 又は OAT1 発現チャイニーズハムスター卵巣細胞若しくは OAT3 又は BCRP 発現マディン-ダービー犬腎臓タイプ II 細胞を用いて検討した. 阻害アッセイを, BCRP のアッセイ (5 $\mu\text{mol/L}$ のナルデメジントシル酸塩存在下) を除いて, 1 及び 5 $\mu\text{mol/L}$ のナルデメジントシル酸塩存在下において, 37°C で 3~60 分間実施した.

OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3 及び BCRP による輸送に対する 5 $\mu\text{mol/L}$ のナルデメジントシル酸塩の阻害効果は, 弱い又は認められなかった (41.1%未満).

2.6.4.7.1.8 ヒトトランスポーターに対する nor-ナルデメジンの阻害評価

評価資料 4.2.2.6-04

概要表 2.6.5.15.4

P-gp 及び BCRP に対する nor-ナルデメジンの阻害能を, Caco-2 細胞による双方向の経細胞輸送実験により検討した. また, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1 及び OAT3 による典型的な基質の取り込みに対する nor-ナルデメジンの阻害能を, 各トランスポーターを発現させたヒト胎児腎由来細胞を用いて検討した. 阻害アッセイを, 1 及び 20 nmol/L の nor-ナルデメジン存在下において, 37°C で所定時間実施した.

P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1 及び OAT3 による輸送に対する 1 及び 20 nmol/L の nor-ナルデメジンの阻害効果は, 弱い又は認められなかった (37.6%未満).

2.6.4.7.1.9 たん白結合サイト

評価資料 5.3.2.1-03

概要表 2.6.5.15.5

HSA における [oxadiazole- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩の結合サイトを, 結合サイトの特異的阻害剤であるワルファリン (サイト I), ジアゼパム (サイト II) 及びジギトキシン (サイト III) を用いて, 検討した. 試験は, 0.35 $\mu\text{mol/L}$ の [oxadiazole- ^{14}C]-ナルデメジントシル酸塩及び 0.2% HSA で実施した.

結合サイトの特異的阻害剤を用いた置換試験の結果より, ナルデメジントシル酸塩は HSA のサイト I 及びサイト II に結合すると考えられる. しかし, 予定臨床用量 (0.2 mg/日) におけるナルデメジンの C_{max} 値 (2 ng/mL) [2.7.2.2.2.6 項参照] より 100 倍の 0.35 $\mu\text{mol/L}$ (ナルデメジンとして 0.2 $\mu\text{g/mL}$) でのたん白結合率は変化しなかったことより, ナルデメジントシル酸塩のたん

白結合率の変化に起因する薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。

2.6.4.7.2 *In vivo* 試験

2.6.4.7.2.1 ラット肝薬物代謝酵素系に対する影響

評価資料 4.2.2.6-05

概要表 2.6.5.15.6

雌雄 Sprague-Dawley 系ラットにおける 1 ヶ月反復経口投与毒性試験 (投与量: 0 [control], 30, 100 及び 1000 mg/kg/日) で採取された肝試料を用いて, 肝薬物代謝酵素系に及ぼすナルデメジントシル酸塩の影響を検討した。ナルデメジントシル酸塩の投与完了時又は最終投与後 29~30 日 (回復期間) にラットから肝試料を採取し, 肝ミクロソームを調製後, 肝ミクロソームにおける誘導 CYP の特異的なマーカー活性であるエトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化活性 (CYP1A), テストステロン 6 β 水酸化活性 (CYP3A), テストステロン 16 α 水酸化活性 (CYP2C11/CYP2B), テストステロン 16 β 水酸化活性 (CYP2B), テストステロン 2 α 水酸化活性 (CYP2C11) を測定した。この試験は GLP 基準下で実施した。

CYP3A 及び CYP2C11 のマーカー活性の低下が, 1000 mg/kg/日投与群の雄性ラットで認められた。一方, CYP3A 及び CYP2B 活性の用量依存的な上昇が, それぞれ投与全群の雌性ラット及び 100 mg/kg/日以上投与群の雌性ラットで観察された。以上の結果は, ナルデメジントシル酸塩の反復投与が, ラットにおいて数種の CYP 活性に影響を及ぼすことを示している。しかし, 30 mg/kg/日で雄性及び雌性ラットに 1 ヶ月間反復経口投与した後のナルデメジンの C_{max} は, それぞれ 3.71 及び 4.26 $\mu\text{g/mL}$ であり [2.6.6.3.1.1 項参照], 予定臨床用量 (0.2 mg/日) におけるナルデメジンの C_{max} 値 (2 ng/mL) [2.7.2.2.2.6 項参照] より 1000 倍以上であることから, 臨床時に想定されるナルデメジンの血漿中曝露において, 肝薬物代謝酵素系にほとんど影響しないと考えられる。

2.6.4.7.2.2 イヌ肝薬物代謝酵素系に対する影響

評価資料 4.2.2.6-06

概要表 2.6.5.15.7

雌雄ビーグルイヌにおける 1 ヶ月反復経口投与毒性試験 (投与量: 0 [control], 1, 3, 10 及び 50 mg/kg/日) で採取された肝試料を用いて, 肝薬物代謝酵素系に及ぼすナルデメジントシル酸塩の影響を検討した。ナルデメジントシル酸塩の投与完了時又は最終投与後 29~30 日 (回復期間) にイヌから肝試料を採取し, 肝ミクロソームを調製後, 肝ミクロソームにおける誘導 CYP の特異的なマーカー活性であるエトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化活性 (CYP1A), テストステロン 6 β 水酸化活性 (CYP3A12), テストステロン 16 α 水酸化活性 (CYP2B11/CYP2C21) を測定した。この試験は GLP 基準下で実施した。

CYP1A 及び CYP2B11/2C21 のマーカー活性の低下が, それぞれ投与全群の雌性イヌ及び 50 mg/kg/日投与群の雌性イヌで認められた。また, 50 mg/kg/日投与群の雄性イヌでも, 同様ではあるが, より穏やかな低下傾向が認められた。以上の結果より, ナルデメジントシル酸塩の反復投与は, イヌにおいて CYP1A 及び CYP2B11/2C21 の活性を抑制することが考えられる。し

かし, 1 mg/kg/日で雄性及び雌性イヌに 1 ヶ月間反復経口投与した後のナルデメジンの $C_{\max}$ は, それぞれ 0.52 及び 0.57 $\mu\text{g/mL}$ であり [2.6.6.3.2.1 項参照], 予定臨床用量 (0.2 mg/日) におけるナルデメジンの $C_{\max}$ 値 (2 ng/mL) [2.7.2.2.2.6 項参照] より 100 倍以上高いことから, 臨床時に想定されるナルデメジンの血漿中曝露において, 肝薬物代謝酵素系にほとんど影響しないと考えられる.

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1 *In vitro* 溶解性

評価資料 4.2.2.7-01

概要表 2.6.5.16.1

Biopharmaceutics Classification System (BCS) のガイドライン [3] を参考に、37°C 及び pH 1.0 ～7.5 におけるナルデメジントシル酸塩の溶解度を、shake-flask 法により測定した。この試験は GLP 基準下で実施した。

ナルデメジントシル酸塩の溶解度は pH 依存적であり、最も低い溶解度は、pH 4.5 において 0.0826 mg/mL であった。すべての pH におけるナルデメジンの溶解した濃度は、予定臨床最大用量 (ナルデメジントシル酸塩 0.2 mg) を 250 mL に溶解した時の濃度 (0.0008 mg/mL) を上回っていたことから、ナルデメジントシル酸塩は高溶解性の化合物に分類されると判断した。

2.6.4.8.2 *In vitro* 膜透過性

評価資料 4.2.2.7-01

概要表 2.6.5.16.2

BCS のガイドライン [3] を参考に、14, 140 又は 1400 nmol/L (予定臨床最大用量を 250 mL に溶解した時の濃度の 1%, 10%又は 100%) のナルデメジントシル酸塩を 37°C で 15, 30 及び 45 分間インキュベート時の Caco-2 細胞系による *in vitro* 膜透過性を検討した。ナルデメジントシル酸塩及び適切な参照化合物の表層側から基底側への P_{app} を算出した。この試験は GLP 基準下で実施した。

一方向の経細胞輸送実験で、14 nmol/L のナルデメジントシル酸塩の表層側から基底側への P_{app} は検出できなかった。一方、140 及び 1400 nmol/L のナルデメジントシル酸塩の表層側から基底側への P_{app} は、それぞれ 1.99×10^{-6} 及び 1.63×10^{-6} cm/sec であり、高膜透過性の化合物に分類されるミノキシジルの値より小さかった。以上の結果より、Caco-2 細胞における *in vitro* 膜透過性試験において、ナルデメジントシル酸塩は低膜透過性の化合物に分類されると判断した。

2.6.4.9 考察

ナルデメジントシル酸塩は速やかに経口吸収され、イヌでは高い経口吸収性 (1 mg/kg での BA : 59.5%) を示したが、ラットではイヌより低い経口吸収性 (BA : 24.5%) を示した。非絶食ラットにおけるナルデメジンの $C_{\max}$ 及び $AUC_{0-\infty}$ は、絶食時の値に比べそれぞれ 67% 及び 41% 低下した。また、非絶食イヌにおいては、ナルデメジンの $C_{\max}$ は絶食イヌの約 30% に減少したが、 $AUC_{0-\infty}$ は変化しなかった。さらに、高脂肪/高カロリー食を摂取したヒトに、ナルデメジントシル酸塩の錠剤 (市販製剤として使用予定) を服用させたところ、ナルデメジンの $C_{\max}$ は絶食時の値に比べ 35% 低下したが、 $AUC_{0-\infty}$ に有意な差はなかった [2.7.2.3.1 項参照]。したがって、臨床では、ナルデメジンの体内動態に及ぼす食事の影響は、ほとんどないと考えられる。

[Carbonyl- 14 C]-ナルデメジントシル酸塩を用いたラット及びイヌの *in vivo* 代謝物検索において、nor-ナルデメジン、ナルデメジン 3-G 及びナルデメジン 6-G は、血漿、尿又は胆汁のいずれかに主代謝物として認められた。これらの代謝物はヒト肝細胞でも認められ、主な第 1 相及び第 2 相代謝物として肝臓で生成されることが示された。ラット及びイヌにおける [oxadiazole- 14 C]-ナルデメジントシル酸塩経口投与後の血漿又は胆汁中には、主に nor-ナルデメジン、ナルデメジン 3-G 及びナルデメジン 6-G が認められた。また、血漿、尿及び糞における主代謝物として、ベンズアミジンも検出された。ベンズアミジンはヒト肝細胞で生成されなかったこと、ナルデメジン及びその胆汁中代謝物はラット糞中で不安定であったことから、本代謝物は、腸管内の腸内細菌により生成され、その後、小腸下部から吸収され则认为られる。さらに、ラット及びイヌで観察された上記の主代謝物は、マウス、ウサギ及びフェレットの血漿中でも検出された。これらの代謝物は、ラット及びイヌにおける反復投与毒性試験での血漿中でも認められた [2.6.6.3.1.2, 2.6.6.3.2, 2.6.6.3.4.2, 2.6.6.3.6.2 及び 2.6.6.5.2.2 項参照] ことから、代謝物プロファイルは、反復投与による影響を受けないと考えられる。以上の結果から、動物におけるナルデメジンの主代謝経路は、モルフィナン骨格の 17 位メチルシクロプロパン基における *N*-脱アルキル化、3 及び 6 位水酸基におけるグルクロン酸抱合並びにオキサジアゾール環の開裂であると考えられる。

ヒト血漿では、ナルデメジントシル酸塩の代謝物プロファイルは、[oxadiazole- 14 C]-ナルデメジントシル酸塩あるいは [carbonyl- 14 C]-ナルデメジントシル酸塩を投与した臨床のマスバランス試験 [2.7.2.2.1.3 項参照] でほぼ同じであり、nor-ナルデメジンが最も多い代謝物で、その曝露は総放射能曝露の 6.66%~9.28% であった。また、マイナーな代謝経路として、ナルデメジン (7*R*)-7 水酸化体を生成する酸化及びナルデメジン 3-G を生成するグルクロン酸抱合も認められた。なお、ナルデメジン (7*R*)-7 水酸化体の曝露は総放射能曝露の 0.56%~2.46% であり、ナルデメジン 3-G の曝露はナルデメジン (7*R*)-7 水酸化体の曝露より少なかった。ベンズアミジンは、[oxadiazole- 14 C]-ナルデメジントシル酸塩をヒトに経口投与した時の尿及び便に、それぞれ投与量の 32.5% 及び 20.3% の割合で認められたが、ヒト血漿では検出されなかった。健康被験者を用いた第 1 相試験で、ナルデメジントシル酸塩の反復投与後の定常状態における血漿中ナルデメジン代謝物濃度を測定したところ、nor-ナルデメジン、ナルデメジン 3-G、ベンズアミジンのナルデメジンに対する AUC 比は、それぞれ約 20%、7% 及び 2% であった。ナルデメジン 6-G 及びナルデメジン-CA のナルデメジンに対する AUC 比は、いずれも 1% 未満であった [2.7.2.2.1.2 項

参照]. この試験で nor-ナルデメジンの血漿中曝露がナルデメジンの 10%を超えていたことから, FDA のガイダンス [1] の基準に従い, 非臨床で nor-ナルデメジンの安全性評価が必要であることが示された. しかし, ラット, イヌ及びウサギを用いた毒性試験での無毒性量における血漿中 nor-ナルデメジンの AUC 値は, 予定臨床用量 (0.2 mg/日) における nor-ナルデメジンの AUC 値 (2.457 ng·hr/mL) [2.7.2.3.3 項参照] より少なくとも 30 倍であることから [2.6.6.9 項参照], 臨床用量におけるナルデメジントシル酸塩経口投与後の nor-ナルデメジンの安全性は, これらの毒性試験により確認されていると考えられる.

胆管カニュレーションを施したラットに [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与したときの尿, 胆汁及び糞中放射能排泄率は, それぞれ投与した放射能の 2.5%, 31.3%及び 57.6%であった. また, 胆管カニュレーションを施したイヌでの尿, 胆汁及び糞中放射能排泄率は, それぞれ 14.5%, 52.4%及び 26.0%であった. これらの結果は, ナルデメジン及び carbonyl-¹⁴C を有する代謝物は, 主として胆汁経由で糞中に排泄されることを示している. 一方, ラット及びイヌにおける [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩単回経口投与後の尿中放射能排泄率は, [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩投与後の値に比べ, それぞれ 18 及び 1.9 倍であった. [Oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を投与したラット及びイヌ尿中における主代謝物は, ベンズアミジンであったことから, 尿中放射能排泄率の増加は, carbonyl-¹⁴C により検出されなかったベンズアミジンの尿中排泄によると考えられる. 同様に, [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与したヒト尿及び糞中放射能排泄率は, それぞれ 20.4%及び 64.3%であり, 主要な消失経路は糞中排泄であった [2.7.2.3.4 項参照]. また, [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与したヒト尿中放射能排泄率 (投与した放射能の 57.3%) は, ベンズアミジンの尿中排泄により, [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩投与後の値に比べ 2.8 倍であった [2.7.2.3.4 項参照].

[Oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩及び [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を用いた組織分布試験において, ナルデメジン及びその代謝物はラット組織に幅広く分布し, 直腸粘膜, 顎下腺, 肝臓, 耳下腺及びハーダー腺に高い放射能が認められた. しかし, ラット脳には放射能が検出されなかったことから, ナルデメジンは薬効を示す用量では末梢組織で作用すると思われる. また, ラットにおける [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩 14 日間反復経口投与後の放射能は徐々に減弱し, 投与後 672 時間では, 鼻骨を除くすべての組織で放射能は検出されなかった. 鼻骨においては, 14 回目投与後 1008 時間でも高い放射能 (2264 ng/g) が観察されたが, このような高い放射能は, [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を静脈内投与したラットの投与後 72 及び 168 時間には観察されていないことから, ラットに経口投与された際の投与液による汚染であると考えられる. 以上の結果より, ナルデメジン及びその代謝物は組織に残留しないと判断した. また, 雄性有色ラットに [¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩を単回経口投与したとき, ブドウ膜及び有色皮膚のようなメラニン含有組織における放射能は, 他の組織に比べ長く観察された. しかし, 投与後 840 時間における放射能はブドウ膜でのみ定量可能であり, [oxadiazole-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩及び [carbonyl-¹⁴C]-ナルデメジントシル酸塩投与後のブドウ膜における放射能は, それぞれ 309 及び 447 時間の $t_{1/2}$ で消失した. したがって, 放射能のメラニンへの結合は可逆的であると考えられる. また, ナルデメジン及びその代謝物は

妊娠ラットの胎盤を通過するとともに、授乳ラットの乳汁中にも排泄されたが、胎児及び乳児における放射能分布は低く、残留性もなかった。

ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、ナルデメジントシル酸塩による CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4/5 及び CYP4A11 の濃度依存的及び時間依存的な阻害能は 20 $\mu\text{mol/L}$ (ナルデメジンとして 11413 ng/mL) までほとんど認められなかった。ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験においても、ナルデメジントシル酸塩曝露による CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4, UGT1A2, UGT1A6 及び UGT2B7 の誘導は認められなかった。さらに、5 $\mu\text{mol/L}$ (ナルデメジンとして 2853 ng/mL) までの濃度では、ナルデメジントシル酸塩による P-gp, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3 及び BCRP の阻害はみられなかった。以上の結果は、ナルデメジントシル酸塩が代謝酵素やトランスポーターの基質となる併用薬の体内動態に影響する可能性は低いことを示している。また、ナルデメジントシル酸塩のヒト血漿中主代謝物として nor-ナルデメジンが検出されたことから、nor-ナルデメジンの CYP 阻害能、CYP 誘導能及びトランスポーター阻害能を、予定臨床用量 (0.2 mg/日) における nor-ナルデメジンの C_{max} 値 (0.146 ng/mL , 0.283 nmol/L) [2.7.2.3.3 項参照] を考慮して、1 及び 20 nmol/L の濃度 (CYP 誘導試験では、0.932 及び 18.6 nmol/L の濃度) で検討した。ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、nor-ナルデメジンによる CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4/5 の濃度依存的及び時間依存的な阻害は認められなかった。ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験においても、nor-ナルデメジンによる CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4 の誘導は認められなかった。さらに、nor-ナルデメジンによる P-gp, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3 及び BCRP の阻害能は認められなかった。以上の結果より、nor-ナルデメジンがこれらの代謝酵素及びトランスポーターの基質となる併用薬の体内動態に影響する可能性も低いと考えられる。

組換え酵素及びヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験結果から、nor-ナルデメジンの生成は主に CYP3A4 により、ナルデメジン 3-G 及びナルデメジン 6-G の生成は UGT1A3 によることが明らかとなった。Nor-ナルデメジンはヒト血漿中主代謝物であったことから、ナルデメジントシル酸塩の代謝に及ぼす CYP3A 阻害剤及び誘導剤の影響を検討する臨床 DDI 試験が実施された。CYP3A 誘導剤であるリファンピシンの併用により、ナルデメジンの $\text{AUC}_{0-\text{inf}}$ は 83% まで低下した [2.7.2.3.6.2 項参照]。また、CYP3A 阻害剤であるイトラコナゾールの併用により、ナルデメジンの $\text{AUC}_{0-\text{inf}}$ は 190% 上昇した [2.7.2.3.6.2 項参照]。これらの結果より、CYP3A に対する誘導剤/阻害剤の併用はヒトにおける血漿中ナルデメジン濃度に影響することが示された。さらに、ナルデメジントシル酸塩は P-gp の基質でもあるため、ナルデメジントシル酸塩の体内動態に及ぼす P-gp 阻害剤の影響を検討する DDI 試験が実施された。P-gp 阻害剤であるシクロスポリンの併用により、ナルデメジンの C_{max} 及び $\text{AUC}_{0-\text{inf}}$ は、それぞれ 45% 及び 78% 上昇したことから、P-gp の阻害剤はヒトにおける血漿中ナルデメジン濃度を上昇させると考えられる [2.7.2.2.4.1 項参照]。なお、ナルデメジントシル酸塩は OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3 及び BCRP の基質ではなかったことから、これらのトランスポーターに対する阻害剤の併用がナルデメジンの体内動態に及ぼす影響はないと考えられる。

結論として、ヒトでは、血漿中ナルデメジン濃度に及ぼす食事の影響はほとんど認められな

かった。ラットにおいて、ナルデメジン及びナルデメジン由来の代謝物は、脳に移行することなく幅広い組織に分布した後、糞と尿に排出される。したがって、ナルデメジン及びナルデメジン由来の代謝物はいずれの組織にも残留しないと考えられる。また、ヒト血漿中主代謝物である nor-ナルデメジンの臨床用量における安全性は、ラット、イヌ及びウサギにおける毒性試験で評価されている。さらに、血漿中ナルデメジン濃度は CYP3A 阻害剤及び誘導剤並びに P-gp 阻害剤により影響を受ける可能性がある。

2.6.4.10 図表

図表は、本文中の適切な場所に記載した.

2.6.4.11 参考文献

1. FDA. Guidance for Industry, Safety Testing of Drug Metabolites, February, 2008.
2. FDA. Guidance for Industry, Drug Interaction Studies –Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations, Draft Guidance. 2012.
3. FDA. Guidance for Industry, Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System, Draft Guidance. May 2015.

スインプロイク錠 0.2 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表	7
2.6.5 薬物動態試験概要表	9
2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表	9
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験	22
2.6.5.2.1 Specification (Lot Number, Specific Radioactivity, Radiochemical Purity, and Chemical Purity) of [¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate	22
2.6.5.2.2 Determination of Naldemedine in Mouse Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis	23
2.6.5.2.3 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Mouse or Rat Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis	24
2.6.5.2.4 Determination of Naldemedine in Rat Plasma by LC/MS/MS for PK Analysis	26
2.6.5.2.5 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Rat Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis	27
2.6.5.2.6 Determination of Naldemedine in Rat Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis (2)	28
2.6.5.2.7 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Rat Plasma by LC/MS/MS for PK Analysis	29
2.6.5.2.8 Determination of Naldemedine in Rat or Dog Plasma by LC/MS/MS for PK Analysis	30
2.6.5.2.9 Determination of Naldemedine in Rabbit Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis	31
2.6.5.2.10 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Rabbit Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis	32
2.6.5.2.11 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Dog Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis	33
2.6.5.2.12 Determination of Naldemedine in Dog Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis	34
2.6.5.2.13 Determination of Naldemedine and Its Metabolite in Dog Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis	35
2.6.5.2.14 Determination of Naldemedine in Ferret Plasma by LC/MS/MS for PK Analysis	36
2.6.5.2.15 Determination of Morphine in Rat or Ferret Plasma by LC/MS/MS for PK Analysis	37
2.6.5.2.16 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Rat Brain by LC/MS/MS for PK Analysis	38
2.6.5.3 薬物動態試験： 吸収：単回投与	39
2.6.5.3.1 Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Plasma Concentration of Naldemedine after a Single Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	39
2.6.5.3.2 Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Plasma Concentration of Naldemedine after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	40
2.6.5.3.3 Dose-Linearity of Naldemedine after a Single Intravenous Administration of Naldemedine Tosylate in Rats	41

2.6.5.3.4	Dose-Linearity and Food Effect of Naldemedine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats	42
2.6.5.3.5	Dose-Linearity of Naldemedine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats with Subcutaneously Administered Morphine-Induced Constipation.....	43
2.6.5.3.6	Dose-Linearity of Naldemedine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats with Castor Oil-induced Diarrhea Inhibited by Subcutaneously Administered Morphine	44
2.6.5.3.7	Plasma Concentrations of Naldemedine and Its Metabolites after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats	45
2.6.5.3.8	Plasma and Brain Concentrations of Naldemedine and Its Metabolites after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats with Subcutaneously Administered Morphine-induced Analgesia.....	46
2.6.5.3.9	Plasma Concentrations of Naldemedine and Morphine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats with Orally Administered Morphine-Induced Constipation.....	48
2.6.5.3.10	Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Plasma Concentration of Naldemedine after a Single Intravenous or Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Dogs	49
2.6.5.3.11	Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Plasma Concentration of Naldemedine after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Dogs.....	50
2.6.5.3.12	Dose-Linearity of Naldemedine after a Single Intravenous Administration of Naldemedine Tosylate in Dogs	51
2.6.5.3.13	Dose-Linearity and Food Effect of Naldemedine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Dogs.....	52
2.6.5.3.14	Dose-linearity of Naldemedine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Ferrets with Subcutaneously Administered Morphine-Induced Emesis.....	53
2.6.5.3.15	Plasma Concentrations of Naldemedine and Morphine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Ferrets with Orally Administered Morphine-Induced Emesis	54
2.6.5.4	薬物動態試験： 吸収：反復投与	55
2.6.5.4.1	Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Naldemedine after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	55
2.6.5.5	薬物動態試験： 分布	57
2.6.5.5.1	Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats.....	57
2.6.5.5.2	Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	60

2.6.5.5.3	Tissue Distribution after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	63
2.6.5.5.4	Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Pigmented Rats	67
2.6.5.5.5	Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Pigmented Rats	71
2.6.5.6	薬物動態試験： たん白結合及び血球移行	75
2.6.5.6.1	<i>In Vitro</i> Protein Binding of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate	75
2.6.5.6.2	<i>In Vitro</i> Distribution of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate to Blood Cells	76
2.6.5.6.3	Distribution to Blood Cells after a Single Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate or [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	77
2.6.5.6.4	Distribution to blood Cells after a Single Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate or [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Dogs	78
2.6.5.7	薬物動態試験： 妊娠又は授乳動物における試験	79
2.6.5.7.1	Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Pregnant Rats	79
2.6.5.7.2	Excretion into Milk after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Nursing Rats	83
2.6.5.8	薬物動態試験： その他の分布試験	84
2.6.5.9	薬物動態試験： 代謝： <i>In Vivo</i>	85
2.6.5.9.1	Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Mice	85
2.6.5.9.2	Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	86
2.6.5.9.3	Metabolite Profiling of Naldemedine after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	87
2.6.5.9.4	Metabolite Profiling of Naldemedine after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rabbits	88
2.6.5.9.5	Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Dogs	89
2.6.5.9.6	Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Dogs	90
2.6.5.9.7	Metabolite profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Ferrets	92
2.6.5.9.8	Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Ferrets	93
2.6.5.9.9	Preliminary Measurement of Naldemedine-(7 <i>R</i>)-7-Hydroxide in Rat or Dog Plasma after Repeated Administrations of Naldemedine Tosylate	94

2.6.5.10	薬物動態試験：代謝： <i>In Vitro</i>	95
2.6.5.10.1	<i>In Vitro</i> Metabolism of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate with Human Hepatocyte	95
2.6.5.10.2	<i>In Vitro</i> Identification of Responsible Enzymes for Naldemedine Tosylate Metabolism	96
2.6.5.11	薬物動態試験：推定代謝経路	97
2.6.5.12	薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害	98
2.6.5.12.1	<i>In Vitro</i> Inhibitory Effects of Naldemedine Tosylate on Human CYP Enzymes	98
2.6.5.12.2	<i>In Vitro</i> Inhibitory Effects of Nor-Naldemedine on Human CYP Enzymes	99
2.6.5.12.3	<i>In Vitro</i> CYP1A2, CYP3A4, UGT1A2, UGT1A6, and UGT2B7 Induction by Naldemedine Tosylate in Human Hepatocytes	100
2.6.5.12.4	<i>In Vitro</i> CYP2B6 Induction by Naldemedine Tosylate in Human Hepatocytes	101
2.6.5.12.5	<i>In Vitro</i> CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 Induction by Nor-Naldemedine in Human Hepatocytes	102
2.6.5.13	薬物動態試験：排泄	103
2.6.5.13.1	Urinary and Fecal Excretion after a Single Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate or [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	103
2.6.5.13.2	Urinary and Fecal Excretion after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	104
2.6.5.13.3	Urinary and Fecal Excretion after a Single Intravenous or Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate or after a Single Oral Administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Dogs	106
2.6.5.14	薬物動態試験：排泄：胆汁中	107
2.6.5.14.1	Urinary, Biliary, and Fecal Excretion after a Single Oral Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate or [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	107
2.6.5.14.2	Enterohepatic Circulation of Radioactivity after a Single Oral Administration of [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Rats	108
2.6.5.14.3	Urinary, Biliary, and Fecal Excretion after a Single Intraduodenal Administration of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate or [Carbonyl- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate in Dogs	109
2.6.5.15	薬物動態試験：薬物相互作用	110
2.6.5.15.1	<i>In Vitro</i> P-Glycoprotein-Mediated Drug Interaction of Naldemedine Tosylate	110
2.6.5.15.2	<i>In Vitro</i> Substrate Assessments of Naldemedine Tosylate for Human Other Transporters	111
2.6.5.15.3	<i>In Vitro</i> Inhibitor Assessments of Naldemedine Tosylate for Human Other Transporters	113
2.6.5.15.4	<i>In Vitro</i> Inhibitor Assessments of Nor-Naldemedine for Human Transporters	116
2.6.5.15.5	<i>In Vitro</i> Investigation for Protein Binding Site of [Oxadiazole- ¹⁴ C]-Naldemedine Tosylate	119

2.6.5.15.6	Effects on Hepatic Drug Metabolizing Enzymes in Samples Obtained from 1-Month Repeat-Dose Oral Toxicity Study in Rats	120
2.6.5.15.7	Effects on Hepatic Drug Metabolizing Enzymes in Samples Obtained from 1-Month Repeat-Dose Oral Toxicity Study in Dogs.....	122
2.6.5.16	薬物動態試験： その他.....	123
2.6.5.16.1	<i>In Vitro</i> Solubility of Naldemedine Tosylate	123
2.6.5.16.2	<i>In Vitro</i> Permeability of Naldemedine Tosylate.....	124

2.6.5 略号及び用語定義一覧表

略号	用語定義
AUC	濃度－時間曲線下面積 (area under the concentration-time curve)
AUC _{0-24hr}	時間 0 から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積 (AUC from 0 to 24 hours)
AUC _{0-inf}	無限大時間までの濃度－時間曲線下面積 (AUC from 0 to infinity)
BA	バイオアベイラビリティ (bioavailability)
BBB	血液脳関門 (blood-brain barrier)
BCS	Biopharmaceutics Classification System
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid
CL _{tot}	全身クリアランス (total clearance)
C _{max}	最高血漿中濃度 (maximum plasma concentration)
CPT-B1 cell	BCRP をノックダウンした Caco-2 細胞 (Caco-2 cells to generate BCRP knockdown)
CYP	チトクローム P450 (cytochrome P450)
DDI	薬物相互作用 (drug-drug interaction)
DMA	ジメチルアセトアミド (dimethylacetamide)
HSA	ヒト血清アルブミン (human serum albumin)
IC ₅₀	50%阻害濃度 (50% inhibitory concentration)
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析法 (high performance liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry)
MC	メチルセルロース (methylcellulose)
mRNA	メッセンジャーRNA (messenger ribonucleic acid)
naldemedine 3-G	ナルデメジン 3-O-β-D-グルクロナイド (naldemedine 3-O-β-D-glucuronide)
naldemedine 6-G	ナルデメジン 6-O-β-D-グルクロナイド (naldemedine 6-O-β-D-glucuronide)
naldemedine-CA	ナルデメジンカルボン酸 (naldemedine-carboxylic acid)
OAT	有機アニオントランスポーター (organic anion transporter)
OATP	有機アニオントランスポーターポリペプチド (organic anion transporting polypeptide)
OCT	有機カチオントランスポーター (organic cation transporter)
P-gp	P 糖蛋白質 (P-glycoprotein)
PK	薬物動態学 (pharmacokinetics)
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィ (quantitative whole-body autoradiography)
Radio-HPLC	放射能検出器を備えた高速液体クロマトグラフィ (high performance liquid chromatography with radiodetector)

$t_{1/2,z}$	終末相消失半減期 (terminal elimination half-life)
$T_{\max}$	最高血漿中濃度到達時間 (time to maximum plasma concentration)
UDP	ウリジン 2 リン酸 (uridine diphosphate)
UGT	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 (uridine diphospho-glucuronosyl transferase)
$V_{d,ss}$	定常状態分布容積 (volume of distribution at steady state)

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Analytical Methods and Validation					
Radiolabeled compounds	[Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	NA	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-QB-020-N	4.2.2.1-01
	[Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	NA	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-QB-170-N	4.2.2.1-02
	[Carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	NA	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-QB-095-N	4.2.2.1-03
	[Carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	NA	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-QB-205-N	4.2.2.1-04
Determination of naldemedine in mouse plasma by high performance liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) for toxicokinetic (TK) analysis	Mouse	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-TB-246-N	4.2.2.1-05
Determination of naldemedine and its metabolites in mouse or rat plasma by LC/MS/MS for TK analysis	Mouse, Rat	Oral	██████████	S-297995-TF-230-L (██████0021)	4.2.2.1-06
Determination of naldemedine in rat plasma by LC/MS/MS for pharmacokinetic (PK) analysis	Rat	Oral	██████████	R-297995-QF-086-N (██████3827-G)	4.2.2.1-07
^(a) In parentheses, CRO study numbers are shown.					

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Analytical Methods and Validation (Continued)					
Determination of naldemedine and its metabolites in rat plasma by LC/MS/MS for TK analysis	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-TB-039-N	4.2.2.1-08
Determination of naldemedine in rat plasma by LC/MS/MS for TK analysis (2)	Rat	Oral	[REDACTED]	R-297995-TF-101-N ([REDACTED] 055-095)	4.2.2.1-09
Determination of naldemedine and its metabolites in rat plasma by LC/MS/MS for PK analysis	Rat	Oral	[REDACTED]	S-297995-PF-185-N ([REDACTED] 055-188)	4.2.2.1-10
Determination of naldemedine in rat or dog plasma by LC/MS/MS for PK analysis	Rat, Dog	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-QB-069-N	4.2.2.1-11
Determination of naldemedine in rabbit plasma by LC/MS/MS for TK analysis	Rabbit	Oral	[REDACTED]	R-297995-TF-112-N ([REDACTED] 055-106)	4.2.2.1-12
Determination of naldemedine and its metabolites in rabbit plasma by LC/MS/MS for TK analysis	Rabbit	Oral	[REDACTED]	S-297995-TF-168-N ([REDACTED] 055-168)	4.2.2.1-13
^(a) In parentheses, CRO study numbers are shown.					

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Analytical Methods and Validation (Continued)					
Determination of naldemedine and its metabolites in dog plasma by LC/MS/MS for TK analysis	Dog	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-TB-040-N	4.2.2.1-14
Determination of naldemedine in dog plasma by LC/MS/MS for TK analysis	Dog	Oral	[REDACTED]	R-297995-TF-102-N ([REDACTED] 055-096)	4.2.2.1-15
Determination of naldemedine and its metabolite in dog plasma by LC/MS/MS for TK analysis	Dog	Oral	[REDACTED]	S-297995-TF-220-N ([REDACTED] 055-238)	4.2.2.1-16
Determination of naldemedine in ferret plasma by LC/MS/MS for PK analysis	Ferret	Oral	[REDACTED]	R-297995-QF-087-N ([REDACTED] 3828-G)	4.2.2.1-17
Determination of morphine in rat or ferret plasma by LC/MS/MS for PK analysis	Rat, Ferret	Oral	[REDACTED]	S-297995-PF-248-N ([REDACTED] 055-259)	4.2.2.1-18
Determination of naldemedine and its metabolites in rat brain by LC/MS/MS for PK analysis	Rat	Oral	[REDACTED]	S-297995-PF-186-N ([REDACTED] 055-189)	4.2.2.1-19
^(a) In parentheses, CRO study numbers are shown.					

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
 [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
 [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Absorption					
Plasma and blood concentrations of radioactivity and plasma concentration of naldemedine after a single oral administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-059-N	4.2.2.2-01
Plasma and blood concentrations of radioactivity and plasma concentration of naldemedine after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-097-N	4.2.2.2-02
Dose-linearity of naldemedine after a single intravenous administration of naldemedine tosylate	Rat	Intravenous	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-070-N	4.2.2.2-03
Dose-linearity and food effect of naldemedine after a single oral administration of naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-070-N	4.2.2.2-03
Dose-linearity of naldemedine after a single oral administration of naldemedine tosylate	Rat with subcutaneously administered morphine-induced constipation	Oral	██████████	R-297995-PF-089-N (██████████ 3825-G)	4.2.2.2-04
Dose-linearity of naldemedine after a single oral administration of naldemedine tosylate	Rat with castor oil induced diarrhea inhibited by subcutaneously administered morphine	Oral	██████████	R-297995-PF-090-N (██████████ 3826-G)	4.2.2.2-05
^(a) In parentheses, CRO study numbers are shown.					

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Absorption (Continued)					
Plasma concentrations of naldemedine and its metabolites after a single oral administration of naldemedine tosylate	Rat	Oral	[REDACTED]	S-297995-PF-197-N ([REDACTED] 055-191)	4.2.2.2-06
Plasma and brain concentrations of naldemedine and its metabolites after a single oral administration of naldemedine tosylate	Rat with subcutaneously administered morphine-induced analgesia	Oral	[REDACTED]	S-297995-PF-198-N ([REDACTED] 055-190)	4.2.2.2-07
Plasma concentrations of naldemedine and morphine after a single oral administration of naldemedine tosylate	Rat with orally administered morphine-induced constipation	Oral	[REDACTED]	S-297995-PF-251-N ([REDACTED] 055-270)	4.2.2.2-08
Plasma and blood concentrations of radioactivity and plasma concentration of naldemedine after a single intravenous or oral administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Dog	Intravenous, oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-068-N	4.2.2.2-09
Plasma and blood concentrations of radioactivity and plasma concentration of naldemedine after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Dog	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-177-N	4.2.2.2-10
^(a) In parentheses, CRO study numbers are shown.					

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Absorption (Continued)					
Dose-linearity of naldemedine after a single intravenous administration of naldemedine	Dog	Intravenous	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-161-N	4.2.2.2-11
Dose-linearity and food effect of naldemedine after a single oral administration of naldemedine tosylate	Dog	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-161-N	4.2.2.2-11
Dose-linearity of naldemedine after a single oral administration of naldemedine tosylate	Ferret with subcutaneously administered morphine-induced emesis	Oral	██████████	R-297995-PF-088-N (██████████ 3824-G)	4.2.2.2-12
Plasma concentrations of naldemedine and morphine after a single oral administration of naldemedine tosylate	Ferret with orally administered morphine-induced emesis	Oral	██████████	S-297995-PF-250-N (██████████ 055-269)	4.2.2.2-13
Plasma and blood concentrations of radioactivity and plasma concentration of naldemedine after repeated oral administrations of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-190-N	4.2.2.2-14
Distribution					
Tissue distribution after a single oral administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-057-N	4.2.2.3-01
^(a) In parentheses, CRO study numbers are shown.					

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Distribution (Continued)					
Tissue distribution after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-096-N	4.2.2.3-02
Tissue distribution after repeated oral administrations of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-192-N	4.2.2.3-03
Tissue distribution after a single oral administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Pigmented rat	Oral		S-297995-PF-213-N (8223166)	4.2.2.3-04
<i>In vitro</i> protein binding of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat, Dog, Ferret, Human	<i>In vitro</i>	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-024-N	5.3.2.1-01
<i>In vitro</i> distribution of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate to blood cells	Rat, Dog, Human	<i>In vitro</i>	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-023-N	5.3.2.1-02
Distribution to blood cells after a single oral administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-059-N	4.2.2.2-01
Distribution to blood cells after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-097-N	4.2.2.2-02
Distribution to blood cells after a single oral administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Dog	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-068-N	4.2.2.2-09
^(a) In parenthesis, CRO study number is shown.					

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Distribution (Continued)					
Distribution to blood cells after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Dog	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-177-N	4.2.2.2-10
Tissue distribution after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Pregnant rat	Oral	██████████	S-297995-PF-238-N (██████0025)	4.2.2.3-05
Excretion into milk after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Nursing rat	Oral	██████████	S-297995-PF-239-N (██████0026)	4.2.2.5-05
Metabolism					
Metabolite profiling of naldemedine tosylate after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Mouse	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-241-N	4.2.2.4-02
Metabolite profiling of naldemedine tosylate after a single oral administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-060-N	4.2.2.4-03
Metabolite profiling of naldemedine tosylate after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-099-N	4.2.2.4-04
^(a) In parentheses, CRO study numbers are shown.					

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Metabolism (Continued)					
Metabolite profiling of naldemedine tosylate after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rabbit	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-240-N	4.2.2.4-05
Metabolite profiling of naldemedine tosylate after a single oral administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Dog	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-061-N	4.2.2.4-06
Metabolite profiling of naldemedine tosylate after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Dog	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-136-N	4.2.2.4-07
Metabolite profiling of naldemedine tosylate after a single oral administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Ferret	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-062-N	4.2.2.4-08
Metabolite profiling of naldemedine tosylate after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Ferret	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-156-N	4.2.2.4-09
Preliminary measurement of naldemedine-(7R)-7-hydroxide in plasma after repeated administration of naldemedine tosylate	Rat, Dog	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-TB-282-R	4.2.2.4-10
<i>In vitro</i> metabolism of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Human hepatocytes	<i>In vitro</i>	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-063-N	5.3.2.2-01

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Metabolism (Continued)					
<i>In vitro</i> identification of responsible enzymes for naldemedine tosylate metabolism	Human liver microsomes Complementary deoxyribonucleic acid (cDNA) expressed cytochrome P450 (CYP) isozymes cDNA expressed uridine diphospho-glucuronosyl transferase (UGT) isozymes	<i>In vitro</i>	██████████	S-297995-PF-200-N (8221179)	4.2.2.4-01
<i>In vitro</i> inhibitory effects of naldemedine tosylate on human CYP enzymes	Human liver microsomes	<i>In vitro</i>	██████████	R-297995-PF-064-N (████085020)	5.3.2.2-02
<i>In vitro</i> inhibitory effects of nor-naldemedine on human CYP enzymes	Human liver microsomes	<i>In vitro</i>	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-338-N	5.3.2.2-03
<i>In vitro</i> CYP1A2, CYP3A4, UGT1A2, UGT1A6, and UGT2B7 induction by naldemedine tosylate	Human hepatocytes	<i>In vitro</i>	██████████	S-297995-PF-176-N (8214143)	5.3.2.2-04
<i>In vitro</i> CYP2B6 induction by naldemedine tosylate	Human hepatocytes	<i>In vitro</i>	██████████	S-297995-PF-298-N (████133131)	5.3.2.2-05
<i>In vitro</i> CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 induction by nor-naldemedine	Human hepatocytes	<i>In vitro</i>	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-339-R	5.3.2.2-06
^(a) In parentheses, CRO study numbers are shown.					

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Excretion					
Urinary, biliary, and fecal excretion after a single oral administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-025-N	4.2.2.5-01
Urinary, biliary, and fecal excretion after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-098-N	4.2.2.5-02
Urinary and fecal excretion after repeated oral administrations of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-191-N	4.2.2.5-03
Urinary, biliary, and fecal excretion after a single intravenous, oral, or intraduodenal administration of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Dog	Intravenous, oral, and intraduodenal	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-068-N	4.2.2.2-09
Urinary, biliary, and fecal excretion after a single oral or intraduodenal administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Dog	Oral and intraduodenal	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-177-N	4.2.2.2-10
Enterohepatic circulation after a single oral administration of [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-184-N	4.2.2.5-04

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Pharmacokinetic Drug Interactions					
<i>In vitro</i> P-glycoprotein (P-gp)-mediated drug interaction of naldemedine tosylate	Caco-2 cell systems	<i>In vitro</i>	██████████	R-297995-PF-067-N (8 ████████ 1)	4.2.2.6-01
<i>In vitro</i> substrate assessments of naldemedine tosylate for human other transporters	Organic anion transporting polypeptide (OATP) 1B1, OATP1B3, Organic cation transporter (OCT) 1, OCT2, Organic anion transporter (OAT)1, or OAT3 transfected human embryonic kidney-293 (HEK-293) cells Caco-2 and CPT-B1 (breast cancer resistance protein [BCRP] knockdown) cells	<i>In vitro</i>	██████████	S-297995-PF-285-N (12 ████████ 2)	4.2.2.6-02
^(a) In parentheses, CRO study numbers are shown.					

(続く)

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate;
[Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number ^(a)	Location in CTD
Pharmacokinetic Drug Interactions (Continued)					
<i>In vitro</i> inhibitor assessments of naldemedine tosylate for human other transporters	Recombinant OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, or OAT1 expressing CHO cells Recombinant OAT3 or BCRP expressing MDCKII cells	<i>In vitro</i>	██████████	S-297995-PF-297-N (██████████ Shionogi-02-██████████)	4.2.2.6-03
<i>In vitro</i> inhibitor assessments of nor-naldemedine for human transporters	Recombinant OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3 expressing HEK293 cells, or Caco-2 cell systems	<i>In vitro</i>	██████████	S-297995-PF-340-N (██████████1425-G)	4.2.2.6-04
<i>In vitro</i> investigation for protein binding site of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	Human serum albumin	<i>In vitro</i>	Shionogi & Co., Ltd.	S-297995-PB-169-N	5.3.2.1-03
Effects on hepatic drug metabolizing enzymes in samples obtained from 1-month repeat-dose oral toxicity study	Rat	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-049-L	4.2.2.6-05
Effects on hepatic drug metabolizing enzymes in samples obtained from 1-month repeat-dose oral toxicity study	Dog	Oral	Shionogi & Co., Ltd.	R-297995-PB-050-L	4.2.2.6-06
Other					
<i>In vitro</i> solubility and permeability	Shake-flask method Caco-2 cell systems	<i>In vitro</i>	██████████	S-297995-PF-288-L (13-██████████1GLP240)	4.2.2.7-01
^(a) In parentheses, CRO study numbers are shown.					

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2.1 Specification (Lot Number, Specific Radioactivity, Radiochemical Purity, and Chemical Purity) of [¹⁴C]-Naldemedine Tosylate

Radiolabeled Position	Lot Number	Specific Radioactivity	Radiochemical Purity	Chemical Purity	Description	Study Number	Location in CTD
Oxadiazole Ring	████ 0412-022-01	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)	≥ 97.7%	≥ 99.4%	Crystals	R-297995-QB-020-N	4.2.2.1-01
	████ 0217-011-01	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)	98.7%	99.7%	Crystals	S-297995-QB-170-N	4.2.2.1-02
Carbonyl Group	████ 0214-023-01	2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg)	99.9%	99.8%	Crystals	R-297995-QB-095-N	4.2.2.1-03
	████ 0214-062-01	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)	≥ 98.3%	99.9%	Crystals	R-297995-QB-095-N、 S-297995-QB-205-N	4.2.2.1-03, 4.2.2.1-04
	████ 0350-046-01	1.41 MBq/mg (38.1 µCi/mg)	≥ 99.0%	99.9%	Crystals	S-297995-QB-205-N	4.2.2.1-04

2.6.5.2.2 Determination of Naldemedine in Mouse Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis

Study Number	S-297995-TB-246-N
Location in CTD	4.2.2.1-05
Test Site	Shionogi & Co., Ltd.
Species/Strain	Mouse/Hos:HR-1
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)
Method Summary	Naldemedine was extracted from mouse plasma (30 µL) by protein precipitation using methanol containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ as an internal standard. Extracts were diluted with water/acetonitrile/formic acid (50:50:1), separated by reversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC) on a Cadenza CD-C18 column (2.0 mm × 50 mm; 3 µm), and analyzed by tandem mass spectrometry (MS/MS) using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.
Study Number Supported	S-297995-TB-249-L
Analyte	Naldemedine
Lower Limit of Quantification	0.0500 µg/mL
Calibration Range	0.05 to 50 µg/mL
Quality Control (QC) Levels	0.05, 1.5, 50 µg/mL
Within-run Precision (%CV)	1.8% to 4.9%
Accuracy (%Bias)	-1.6% to 1.2%
Recovery	93.6% to 101.7%
Stability in Mouse Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 32 days at -20°C, and at least 4 hours at room temperature
Processed Extract Stability	Stable at least 72 hours at 15°C

2.6.5.2.3 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Mouse or Rat Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis

Study Number		S-297995-TF-230-L (CRO Study No. ■■■0021)				
Location in CTD		4.2.2.1-06				
Good Laboratory Practice (GLP) Compliance		Yes				
Test Site		■■■■■				
Species/Strain		Mouse/Crl:CD(ICR), Rat/Crl:CD(SD)				
Matrix		Plasma (Anticoagulant: heparin)				
Method Summary		Naldemedine and its metabolites (nor-naldemedine, naldemedine 3- <i>O</i> - β -D-glucuronide [naldemedine 3-G], naldemedine 6- <i>O</i> - β -D-glucuronide [naldemedine 6-G], and benzamidine) were extracted from mouse or rat plasma (30 μ L) by protein precipitation using methanol containing naldemedine- 15 Nd $_5$, nor-naldemedine- d_5 , naldemedine 3-G- 15 Nd $_5$, naldemedine 6-G- 15 Nd $_5$, and benzamidine- d_5 as internal standards, respectively. For naldemedine and benzamidine analysis, extracts were diluted with acetonitrile, separated by hydrophilic interaction HPLC on an Atlantis HILIC Silica column (2.1 mm $\times$ 150 mm; 5 μ m), and analyzed by MS/MS using a Turbolonspray interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring. For nor-naldemedine, naldemedine 3-G, and naldemedine 6-G analysis, extracts were diluted with 50 mmol/L phosphoric acid, separated by reversed-phase HPLC on an Inertsil ODS-3 column (2.1 mm $\times$ 50 mm; 5 μ m), and analyzed by MS/MS using a Turbolonspray interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.				
Study Numbers Supported		S-297995-TF-226-L, S-297995-TF-265-L, S-297995-TF-266-L				
Mouse	Analyte	Naldemedine	Nor-naldemedine	Naldemedine 3-G	Naldemedine 6-G	Benzamidine
	Lower Limit of Quantification	20.0 ng/mL	20.0 ng/mL	5.00 ng/mL	5.00 ng/mL	1.00 ng/mL
	Calibration Range	20 to 20000 ng/mL	20 to 20000 ng/mL	5 to 5000 ng/mL	5 to 5000 ng/mL	1 to 1000 ng/mL
	QC Levels	20, 60, 4000, 16000, 20000 ng/mL	20, 60, 4000, 16000, 20000 ng/mL	5, 15, 1000, 4000, 5000 ng/mL	5, 15, 1000, 4000, 5000 ng/mL	1, 3, 200, 800, 1000 ng/mL
	Within-run Precision (%CV)	0.9% to 6.3%	0.7% to 6.6%	1.8% to 9.1%	0.9% to 6.6%	1.4% to 9.0%
	Between-run Precision (%CV)	5.4% to 13.2%	2.0% to 13.5%	2.3% to 13.8%	2.9% to 12.6%	5.5% to 12.3%
	Accuracy (%Bias)	-7.0% to 2.0%	-10.5% to 1.5%	-9.2% to -0.8%	-8.6% to 1.0%	-7.9% to 1.5%
	Recovery	107.6% to 122.3%	104.7% to 117.2%	107.9% to 122.9%	107.2% to 126.0%	94.2% to 101.1%
	Stability in Mouse Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 28 days at -20°C, and at least 2 hours at room temperature				
Processed Extract Stability		Stable at least 8 days at 4°C	Stable at least 7 days at 4°C	Stable at least 7 days at 4°C	Stable at least 7 days at 4°C	Stable at least 8 days at 4°C

(続く)

2.6.5.2.3 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Mouse or Rat Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis (続き)

Rat	Analyte	Naldemedine	Nor-naldemedine	Naldemedine 3-G	Naldemedine 6-G	Benzamidine
	Lower Limit of Quantification	20.0 ng/mL	20.0 ng/mL	5.00 ng/mL	5.00 ng/mL	1.00 ng/mL
	Calibration Range	20 to 20000 ng/mL	20 to 20000 ng/mL	5 to 5000 ng/mL	5 to 5000 ng/mL	1 to 1000 ng/mL
	QC Levels	20, 60, 4000, 16000, 20000 ng/mL	20, 60, 4000, 16000, 20000 ng/mL	5, 15, 1000, 4000, 5000 ng/mL	5, 15, 1000, 4000, 5000 ng/mL	1, 3, 200, 800, 1000 ng/mL
	Within-run Precision (%CV)	1.7% to 5.6%	1.2% to 3.0%	1.0% to 6.5%	0.7% to 5.0%	1.1% to 10.5%
	Between-run Precision (%CV)	2.6% to 7.5%	1.6% to 3.8%	2.4% to 8.8%	2.5% to 5.5%	2.8% to 9.8%
	Accuracy (%Bias)	-2.8% to 6.3%	-1.8% to 4.4%	-2.4% to 7.0%	-1.8% to 6.0%	-2.0% to 4.3%
	Recovery	102.0% to 123.0%	103.8% to 113.8%	97.0% to 119.8%	101.0% to 135.5%	87.4% to 103.1%
	Stability in Rat Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 28 days at -20°C, and at least 2 hours at room temperature				
	Processed Extract Stability	Stable at least 4 days at 4°C	Stable at least 5 days at 4°C	Stable at least 5 days at 4°C	Stable at least 5 days at 4°C	Stable at least 4 days at 4°C

2.6.5.2.4 Determination of Naldemedine in Rat Plasma by LC/MS/MS for PK Analysis

Study Number	R-297995-QF-086-N (CRO Study No. [REDACTED] 3827-G)
Location in CTD	4.2.2.1-07
Test Site	[REDACTED]
Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD), Crlj:WI
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)
Method Summary	Naldemedine was extracted from rat plasma (50 µL) by protein precipitation using acetonitrile with naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ as an internal standard. Extracts were separated by hydrophilic interaction HPLC on a Luna HILIC column (3.0 mm × 50 mm; 3 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.
Study Numbers Supported	R-297995-PF-089-N, R-297995-PF-090-N
Analyte	Naldemedine
Lower Limit of Quantification	0.0200 ng/mL
Calibration Range	0.02 to 20 ng/mL
QC Levels	0.02, 0.5, and 20 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	0.9% to 12.4%
Between-run Precision (%CV)	1.6% to 9.5%
Accuracy (%Bias)	-1.0% to 1.0%
Recovery	80.4% to 109.0%
Stability in Rat Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 32 days at -20°C, and at least 6 hours at room temperature
Processed Extract Stability	Stable at least 48 hours at 4°C

2.6.5.2.5 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Rat Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis

Study Number	R-297995-TB-039-N			
Location in CTD	4.2.2.1-08			
Test Site	Shionogi & Co., Ltd.			
Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)			
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)			
Method Summary	Naldemedine and its metabolites (nor-naldemedine, naldemedine 3-G, and naldemedine 6-G) were extracted from rat plasma (30 µL) by protein precipitation using 50 mmol/L phosphoric acid in acetonitrile containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ , nor-naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ , naldemedine 3-G- ¹⁵ Nd ₅ , and naldemedine 6-G- ¹⁵ Nd ₅ as internal standards, respectively. Extracts were diluted with 50 mmol/L phosphoric acid, separated by reversed-phase HPLC on a Inertsil ODS-3 column (2.1 mm × 33 mm; 5 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.			
Study Numbers Supported	R-297995-TB-047-L, R-297995-TB-048-L, R-297995-TB-091-L			
Analyte	Naldemedine	Nor-naldemedine	Naldemedine 3-G	Naldemedine 6-G
Lower Limit of Quantification	20.0 ng/mL	20.0 ng/mL	20.0 ng/mL	2.00 ng/mL
Calibration Range	20 to 10000 ng/mL	20 to 10000 ng/mL	20 to 10000 ng/mL	2 to 1000 ng/mL
QC Levels	20, 600, 10000 ng/mL	20, 600, 10000 ng/mL	20, 600, 10000 ng/mL	2, 60, and 1000 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	0.9% to 3.8%	1.7% to 7.4%	1.7% to 6.9%	1.6% to 9.7%
Between-run Precision (%CV)	2.9% to 4.7%	2.6% to 8.6%	1.9% to 5.6%	8.6% to 10.1%
Accuracy (%Bias)	6.3% to 16.3%	4.8% to 11.5%	4.6% to 7.0%	1.4% to 7.0%
Recovery	101.5% to 107.3%	98.6% to 101.1%	104.6% to 107.1%	91.6% to 109.7%
Stability in Rat Plasma	Stable after 5 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 70 days at -20°C, and at least 4 hours at room temperature			
Processed Extract Stability	Stable at least 24 hours at 10°C			

2.6.5.2.6 Determination of Naldemedine in Rat Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis (2)

Study Number	R-297995-TF-101-N (CRO Study No. [REDACTED] 055-095)
Location in CTD	4.2.2.1-09
Test Site	[REDACTED]
Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)
Method Summary	Naldemedine was extracted from rat plasma (30 µL) by protein precipitation using 50 mmol/L phosphoric acid in acetonitrile containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₃ as an internal standard. Extracts were diluted with 50 mmol/L phosphoric acid, separated by reversed-phase HPLC on an Inertsil ODS-3 column (2.1 mm × 33 mm; 5 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.
Study Number Supported	R-297995-TF-108-L
Analyte	Naldemedine
Lower Limit of Quantification	20.0 ng/mL
Calibration Range	20 to 10000 ng/mL
QC Levels	20, 50, 500, 8000, 10000 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	1.3% to 5.6%
Between-run Precision (%CV)	3.7% to 8.7%
Accuracy (%Bias)	-9.4% to 7.3%
Recovery	64.2% to 111.0%
Processed Extract Stability	Stable at least 61 hours at 10°C

2.6.5.2.7 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Rat Plasma by LC/MS/MS for PK Analysis

Study Number	S-297995-PF-185-N (CRO Study No. [REDACTED] 055-188)				
Location in CTD	4.2.2.1-10				
Test Site	[REDACTED]				
Species/Strain	Rat/Crlj:Wistar				
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)				
Method Summary	Naldemedine and its metabolites (nor-naldemedine, naldemedine 3-G, naldemedine 6-G, and naldemedine-carboxylic acid [naldemedine-CA]) were extracted from rat plasma (30 µL) by protein precipitation using acetonitrile/methanol (1:1) containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ , nor-naldemedine- <i>d</i> ₅ , naldemedine 3-G- ¹⁵ Nd ₅ , naldemedine 6-G- ¹⁵ Nd ₅ , and naldemedine-CA- <i>d</i> ₆ as internal standards, respectively. Extracts were diluted with 2% propylene glycol in ethanol, evaporated, and dissolved with 50 mmol/L phosphoric acid/methanol (9:1). The resultant solution was separated by reversed-phase HPLC on an Inertsil ODS-3 column (2.1 mm × 50 mm; 5 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.				
Study Numbers Supported	S-297995-EB-257.F1-N, S-297995-PF-197-N, S-297995-PF-198-N, S-297995-PF-250-N, S-297995-PF-251-N				
Analyte	Naldemedine	Nor-naldemedine	Naldemedine 3-G	Naldemedine 6-G	Naldemedine-CA
Lower Limit of Quantification	0.0100 ng/mL	0.0400 ng/mL	0.0400 ng/mL	0.0400 ng/mL	0.0400 ng/mL
Calibration Range	0.01 to 10 ng/mL	0.04 to 40 ng/mL	0.04 to 40 ng/mL	0.04 to 40 ng/mL	0.04 to 40 ng/mL
QC Levels	0.01, 0.02, 0.3, 8, 10 ng/mL	0.04, 0.08, 1.2, 32, 40 ng/mL	0.04, 0.08, 1.2, 32, 40 ng/mL	0.04, 0.08, 1.2, 32, 40 ng/mL	0.04, 0.08, 1.2, 32, 40 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	2.9% to 7.5%	2.4% to 9.2%	2.9% to 13.3%	2.2% to 8.5%	1.8% to 6.9%
Between-run Precision (%CV)	3.4% to 8.8%	3.8% to 6.6%	5.8% to 10.1%	5.0% to 6.2%	2.6% to 7.3%
Accuracy (%Bias)	0.0% to 4.3%	-0.8% to 5.6%	0.0% to 6.9%	-0.8% to 6.8%	-3.3% to 1.6%
Recovery	94.4% to 111.2%	91.4% to 101.7%	90.5% to 107.3%	87.6% to 103.7%	89.6% to 97.6%
Stability in Rat Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -80°C, at least 33 days at -80°C, and at least 24 hours at room temperature				
Processed Extract Stability	Stable at least 96 hours at 4°C				

2.6.5.2.8 Determination of Naldemedine in Rat or Dog Plasma by LC/MS/MS for PK Analysis

Study Number		R-297995-QB-069-N
Location in CTD		4.2.2.1-11
Test Site		Shionogi & Co., Ltd.
Species/Strain		Rat/Crl:CD(SD), Dog/TOYO beagle
Matrix		Plasma (Anticoagulant: heparin)
Method Summary		Naldemedine was extracted from rat or dog plasma (30 µL) by protein precipitation using acetonitrile/methanol mixture containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ as an internal standard. Extracts were diluted with 42 mmol/L phosphoric acid in water/methanol (1:1) and separated by reversed-phase HPLC on an Inertsil ODS-SP column (2.1 mm × 100 mm; 5 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.
Study Numbers Supported		R-297995-PB-059-N, R-297995-PB-068-N, R-297995-PB-070-N, R-297995-PB-097-N, S-297995-PB-161-N
Analyte		Naldemedine
Lower Limit of Quantification		0.500 ng/mL
Calibration Range		0.5 to 1000 ng/mL
QC Levels		0.5, 20, 1000 ng/mL
Rat	Within-run Precision (%CV)	0.6% to 5.6%
	Between-run Precision (%CV)	4.3% to 8.1%
	Accuracy (%Bias)	-1.7% to 7.5%
	Recovery	102.9% to 108.6%
	Stability in Rat Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 32 days at -20°C, and at least 4 hours at room temperature
	Processed Extract Stability	Stable at least 24 hours at 10°C
Dog	Within-run Precision (%CV)	0.7% to 1.0%
	Accuracy (%Bias)	-5.0% to 3.8%
	Recovery	84.5% to 99.6%
	Stability in Dog Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 28 days at -20°C, and at least 4 hours at room temperature
	Processed Extract Stability	Stable at least 24 hours at 10°C

2.6.5.2.9 Determination of Naldemedine in Rabbit Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis

Study Number	R-297995-TF-112-N (CRO Study No. [REDACTED] 055-106)
Location in CTD	4.2.2.1-12
Test Site	[REDACTED]
Species/Strain	Rabbit/Kbl:JW
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)
Method Summary	Naldemedine was extracted from rabbit plasma (30 µL) by protein precipitation using 50 mmol/L phosphoric acid in acetonitrile containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₃ as an internal standard. Extracts were diluted with 50 mmol/L phosphoric acid, separated by reversed-phase HPLC on an Inertsil ODS-3 column (2.1 mm × 33 mm; 5 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring
Study Number Supported	S-297995-TF-119-L
Analyte	Naldemedine
Lower Limit of Quantification	20.0 ng/mL
Calibration Range	20 to 10000 ng/mL
QC Levels	20, 50, 500, 8000, 10000 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	1.7% to 10.9%
Between-run Precision (%CV)	2.8% to 9.4%
Accuracy (%Bias)	-2.0% to 3.2%
Recovery	105.5% to 118.7%
Stability in Rabbit Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 71 days at -20°C, and at least 28 hours at room temperature
Processed Extract Stability	Stable at least 63 hours at 10°C

2.6.5.2.10 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Rabbit Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis

Study Number	S-297995-TF-168-N (CRO Study No. [REDACTED] 055-168)			
Location in CTD	4.2.2.1-13			
Test Site	[REDACTED]			
Species/Strain	Rabbit/Kbl:JW			
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)			
Method Summary	Naldemedine and its metabolites (nor-naldemedine, naldemedine 3-G, and naldemedine 6-G) were extracted from rabbit plasma (30 µL) by protein precipitation using methanol containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ , nor-naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ , naldemedine 3-G- ¹⁵ Nd ₅ , and naldemedine 6-G- ¹⁵ Nd ₅ as internal standards, respectively. Extracts were diluted with 50 mmol/L phosphoric acid, separated by reversed-phase HPLC on an Inertsil ODS-3 column (2.1 mm × 50 mm; 5 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.			
Study Number Supported	S-297995-TF-182-L			
Analyte	Naldemedine	Nor-naldemedine	Naldemedine 3-G	Naldemedine 6-G
Lower Limit of Quantification	20.0 ng/mL	20.0 ng/mL	20.0 ng/mL	2.00 ng/mL
Calibration Range	20 to 10000 ng/mL	20 to 10000 ng/mL	20 to 10000 ng/mL	2 to 1000 ng/mL
QC Levels	20, 50, 500, 8000, 10000 ng/mL	20, 50, 500, 8000, 10000 ng/mL	20, 50, 500, 8000, 10000 ng/mL	2, 5, 50, 800, and 1000 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	1.6% to 6.2%	2.3% to 4.6%	1.7% to 4.9%	0.5% to 3.3%
Between-run Precision (%CV)	2.8% to 6.7%	3.4% to 6.3%	3.5% to 4.5%	1.6% to 5.1%
Accuracy (%Bias)	-3.0% to 6.2%	-3.8% to 4.9%	-0.8% to 4.6%	-8.4% to -1.6%
Recovery	103.5% to 120.0%	99.6% to 114.2%	101.4% to 118.1%	88.0% to 103.1%
Stability in Rabbit Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 64 days at -20°C, and at least 25 hours at room temperature			
Processed Extract Stability	Stable at least 51 hours at 10°C			

2.6.5.2.11 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Dog Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis

Study Number	R-297995-TB-040-N			
Location in CTD	4.2.2.1-14			
Test Site	Shionogi & Co., Ltd.			
Species/Strain	Dog/TOYO beagle			
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)			
Method Summary	Naldemedine and its metabolites (nor-naldemedine, naldemedine 3-G, and naldemedine 6-G) were extracted from dog plasma (30 µL) by protein precipitation using 50 mmol/L phosphoric acid in acetonitrile containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ , naldemedine 3-G- ¹⁵ Nd ₅ , and naldemedine 6-G- ¹⁵ Nd ₅ as internal standards, respectively. Extracts were diluted with 50 mmol/L phosphoric acid, separated by reversed-phase HPLC on a Inertsil ODS-3 column (2.1 mm × 33 mm; 5 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.			
Study Numbers Supported	R-297995-TB-045-L, R-297995-TB-046-L			
Analyte	Naldemedine	Nor-naldemedine	Naldemedine 3-G	Naldemedine 6-G
Lower Limit of Quantification	20.0 ng/mL	20.0 ng/mL	20.0 ng/mL	2.00 ng/mL
Calibration Range	20 to 10000 ng/mL	20 to 10000 ng/mL	20 to 10000 ng/mL	2 to 1000 ng/mL
QC Levels	20, 600, 10000 ng/mL	20, 600, 10000 ng/mL	20, 600, 10000 ng/mL	2, 60, 1000 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	0.8% to 6.8%	0.9% to 5.5%	0.9% to 6.5%	0.9% to 13.0%
Between-run Precision (%CV)	1.8% to 5.5%	3.1% to 5.6%	2.0% to 4.6%	1.8% to 10.1%
Accuracy (%Bias)	4.8% to 6.6%	-0.3% to 4.9%	3.3% to 6.2%	2.8% to 5.2%
Recovery	101.2% to 105.5%	93.3% to 106.4%	82.1% to 104.2%	111.6% to 143.4%
Stability in Rat Plasma	Stable after 5 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 134 days at -20°C, and at least 4 hours at room temperature			
Processed Extract Stability	Stable at least 24 hours at 10°C			

2.6.5.2.12 Determination of Naldemedine in Dog Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis

Study Number	R-297995-TF-102-N (CRO Study No. [REDACTED] 055-096)
Location in CTD	4.2.2.1-15
Test Site	[REDACTED]
Species/Strain	Dog/TOYO Beagle
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)
Method Summary	Naldemedine was extracted from dog plasma (30 µL) by protein precipitation using 50 mmol/L phosphoric acid in acetonitrile containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₃ as an internal standard. Extracts were diluted with 50 mmol/L phosphoric acid, separated by reversed-phase HPLC on an Inertsil ODS-3 column (2.1 mm × 33 mm; 5 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.
Study Number Supported	S-297995-TF-109-L
Analyte	Naldemedine
Lower Limit of Quantification	20.0 ng/mL
Calibration Range	20 to 10000 ng/mL
QC Levels	20, 50, 500, 8000, 10000 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	1.9% to 5.3%
Between-run Precision (%CV)	4.4% to 12.1%
Accuracy (%Bias)	-2.5% to 1.5%
Recovery	59.4% to 104.7%
Processed Extract Stability	Stable at least 73 hours at 10°C

2.6.5.2.13 Determination of Naldemedine and Its Metabolite in Dog Plasma by LC/MS/MS for TK Analysis

Study Number	S-297995-TF-220-N (CRO Study No. [REDACTED] 055-238)	
Location in CTD	4.2.2.1-16	
Test Site	[REDACTED]	
Species/Strain	Dog/TOYO Beagle	
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)	
Method Summary	Naldemedine and its metabolite (benzamidine) were extracted from dog plasma (30 µL) by protein precipitation using methanol containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ and benzamidine- <i>d</i> ₅ as internal standards, respectively, and acetonitrile. Extracts were diluted with acetonitrile, separated by hydrophilic interaction HPLC on an Atlantis HILIC Silica column (2.1 mm × 150 mm; 5 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.	
Study Number Supported	S-297995-TF-219-L	
Analyte	Naldemedine	Benzamidine
Lower Limit of Quantification	20.0 ng/mL	0.500 ng/mL
Calibration Range	20 to 10000 ng/mL	0.5 to 250 ng/mL
QC Levels	20, 50, 500, 8000, 10000 ng/mL	0.5, 1.25, 12.5, 200, 250 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	2.5% to 5.3%	1.5% to 7.7%
Between-run Precision (%CV)	4.8% to 6.2%	2.3% to 10.0%
Accuracy (%Bias)	-0.9% to 6.0%	-0.8% to 1.0%
Recovery	84.5% to 91.2%	90.5% to 104.4%
Stability in Dog Plasma	—	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 65 days at -20°C, and at least 4 hours at room temperature
Processed Extract Stability	Stable at least 49 hours at 10°C	

2.6.5.2.14 Determination of Naldemedine in Ferret Plasma by LC/MS/MS for PK Analysis

Study Number	R-297995-QF-087-N (CRO Study No. [REDACTED] 3828-G)
Location in CTD	4.2.2.1-17
Test Site	[REDACTED]
Species/Strain	Ferret/Marshall
Matrix	Plasma (Anticoagulant: heparin)
Method Summary	Naldemedine was extracted from ferret plasma (50 µL) by protein precipitation using acetonitrile containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ as an internal standard. Extracts were separated by hydrophilic interaction HPLC on a Luna HILIC Silica column (3.0 mm × 50 mm; 3 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.
Study Number Supported	R-297995-PF-088-N
Analyte	Naldemedine
Lower Limit of Quantification	0.0200 ng/mL
Calibration Range	0.02 to 20 ng/mL
QC Levels	0.02, 0.5, 20 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	1.8% to 12.2%
Between-run Precision (%CV)	1.8% to 9.7%
Accuracy (%Bias)	-3.2% to 0.5%
Recovery	92.1% to 98.6%
Stability in Dog Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -20°C, at least 32 days at -20°C, and at least 6 hours at room temperature
Processed Extract Stability	Stable at least 48 hours at 4°C

2.6.5.2.15 Determination of Morphine in Rat or Ferret Plasma by LC/MS/MS for PK Analysis

Study Number		S-297995-PF-248-N (CRO Study No. ██████████ 055-259)
Location in CTD		4.2.2.1-18
Test Site		████████████████████
Species/Strain		Rat/Crlj:Wistar, Ferret/Marshall
Matrix		Plasma (Anticoagulant: heparin)
Method Summary		Morphine was extracted from rat or ferret plasma (25 µL) by protein precipitation using acetonitrile/methanol (1:1) with ethylmorphine as an internal standard. Extracts were evaporated, dissolved in 5 mmol/L ammonium acetate, separated by reversed-phase HPLC on a TSKgel Vmpak-25 column (2.0 mm × 150 mm; 7 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.
Study Numbers Supported		S-297995-PF-250-N, S-297995-PF-251-N
Analyte		Morphine
Lower Limit of Quantification		5.00 ng/mL
Calibration Range		5 to 2500 ng/mL
QC Levels		5, 10, 200, 2000, 2500 ng/mL
Rat	Within-run Precision (%CV)	2.6% to 7.0%
	Between-run Precision (%CV)	3.0% to 6.3%
	Accuracy (%Bias)	−3.2% to 1.5%
	Recovery	85.3% to 89.3%
	Stability in Rat Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at −20°C, at least 28 days at −20°C, and at least 25 hours at room temperature
	Processed Extract Stability	Stable at least 81 hours at 4°C
Ferret	Within-run Precision (%CV)	1.0% to 3.9%
	Between-run Precision (%CV)	2.5% to 6.9%
	Accuracy (%Bias)	−6.4% to 0.0%
	Recovery	77.3% to 83.1%
	Stability in Ferret Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at −20°C, at least 31 days at −20°C, and at least 24 hours at room temperature
	Processed Extract Stability	Stable at least 74 hours at 4°C

2.6.5.2.16 Determination of Naldemedine and Its Metabolites in Rat Brain by LC/MS/MS for PK Analysis

Study Number	S-297995-PF-186-N (CRO Study No. 055-189)				
Location in CTD	4.2.2.1-19				
Test Site					
Species/Strain	Rat/Crlj:Wistar				
Matrix	Brain				
Method Summary	Naldemedine and its metabolites (nor-naldemedine, naldemedine 3-G, naldemedine 6-G, and naldemedine-CA) were extracted from rat brain homogenate (75 µL, 3-fold, brain/water = 1:2) by protein precipitation using acetonitrile containing naldemedine- ¹⁵ Nd ₅ , nor-naldemedine- <i>d</i> ₅ , naldemedine 3-G- ¹⁵ Nd ₅ , naldemedine 6-G- ¹⁵ Nd ₅ , and naldemedine-CA- <i>d</i> ₆ as internal standards, respectively. Extracts were diluted with 2% propylene glycol in ethanol, evaporated, and dissolved with 100 mmol/L ammonium formate (pH 9.5). The resultant solution was extracted by solid phase extraction, evaporated, dissolved with 50 mmol/L phosphoric acid/methanol (9:1), separated by reversed-phase HPLC on an Inertsil ODS-3 column (2.1 mm × 50 mm; 5 µm), and analyzed by MS/MS using electrospray ionization interface in the positive ion mode and multiple reaction monitoring.				
Study Numbers Supported	S-297995-EB-257.F1-N, S-297995-PF-198-N				
Analyte	Naldemedine	Nor-naldemedine	Naldemedine 3-G	Naldemedine 6-G	Naldemedine-CA
Lower Limit of Quantification	0.0100 ng/mL	0.0400 ng/mL	0.0400 ng/mL	0.0400 ng/mL	0.0400 ng/mL
Calibration Range	0.01 to 10 ng/mL	0.04 to 40 ng/mL	0.04 to 40 ng/mL	0.04 to 40 ng/mL	0.04 to 40 ng/mL
QC Levels	0.01, 0.02, 0.3, 8, 10 ng/mL	0.04, 0.08, 1.2, 32, 40 ng/mL	0.04, 0.08, 1.2, 32, 40 ng/mL	0.04, 0.08, 1.2, 32, 40 ng/mL	0.04, 0.08, 1.2, 32, 40 ng/mL
Within-run Precision (%CV)	2.6% to 12.8%	4.4% to 13.1%	7.0% to 10.8%	3.2% to 5.3%	1.9% to 9.4%
Between-run Precision (%CV)	3.8% to 7.4%	4.3% to 8.8%	5.1% to 9.1%	3.7% to 8.3%	3.1% to 8.0%
Accuracy (%Bias)	-4.0% to 4.5%	-2.5% to 5.6%	-2.5% to 2.8%	-3.3% to 2.8%	-4.2% to 5.6%
Recovery	79.0% to 80.9%	67.9% to 80.8%	62.4% to 82.5%	77.4% to 87.5%	68.6% to 76.2%
Stability in Rat Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at -80°C, at least 33 days at -80°C, and at least 25 hours at room temperature				
Processed Extract Stability	Stable at least 105 hours at 4°C				

2.6.5.3 薬物動態試験： 吸収：単回投与

2.6.5.3.1 Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Plasma Concentration of Naldemedine after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RatsTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)		
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4		
Feeding Condition	Non-fasted		
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension		
Method of Administration	Single oral administration		
Dose (mg/kg as free base)	1		
Radionuclide	¹⁴ C		
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)		
Sample	Plasma for radioactivity and naldemedine, Blood for radioactivity		
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent), Naldemedine		
Assay	Liquid scintillation counting (LSC) for radioactivity, LC/MS/MS for naldemedine		
Pharmacokinetic Parameters	Radioactivity in Plasma	Naldemedine in Plasma	Radioactivity in Blood
Maximum concentration (C _{max} , ng/mL)	52.8 ± 11.7	42.7 ± 9.4	41.8 ± 1.6
Time to maximum plasma concentration (T _{max} , hr)	1.50 ± 0.58	1.50 ± 0.58	8.00 ± 0.00
Terminal elimination half-life (t _{1/2,z} , hr)	4.18 ± 0.41	1.90 ± 0.42	17.8 ± 9.7
Area under the concentration-time curve from time 0 to infinity (AUC _{0-inf} , ng·hr/mL)	609 ± 70	213 ± 38	763 ± 81
Mean residence time from time 0 to infinity (MRT _{inf} , hr)	8.41 ± 0.29	3.75 ± 0.31	15.1 ± 3.6
Area under the concentration-time curve (AUC) Ratio to Radioactivity (%)		34.8 ± 2.8	
Data are expressed as the mean ± standard deviation (S.D.)			
Study Number	R-297995-PB-059-N		
Location in CTD	4.2.2.2-01		

2.6.5.3.2 Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Plasma Concentration of Naldemedine after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats

Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)		
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4		
Feeding Condition	Non-fasted		
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension		
Method of Administration	Single oral administration		
Dose (mg/kg as free base)	1		
Radionuclide	¹⁴ C		
Specific Activity	2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg)		
Sample	Plasma for radioactivity and naldemedine, Blood for radioactivity		
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent), Naldemedine		
Assay	LSC for radioactivity, LC/MS/MS for naldemedine		
Pharmacokinetic Parameters	Radioactivity in Plasma	Naldemedine in Plasma	Radioactivity in Blood
C _{max} (ng/mL)	79.8 ± 13.9	73.3 ± 13.1	55.6 ± 10.3
T _{max} (hr)	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
t _{1/2,z} (hr)	15.9 ± 6.5	1.77 ± 0.38	13.1 ± 6.2
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	489 ± 49	293 ± 36	360 ± 35
MRT _{inf} (hr)	12.1 ± 4.8	3.22 ± 0.55	11.4 ± 5.0
AUC Ratio to Radioactivity (%)		60.2 ± 6.7	
Data are expressed as the mean ± S.D.			
Study Number	R-297995-PB-097-N		
Location in CTD	4.2.2.2-02		

2.6.5.3.3 Dose-Linearity of Naldemedine after a Single Intravenous Administration of Naldemedine Tosylate in Rats

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)	
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Group	
Feeding Condition	Non-fasted	
Vehicle/Formulation	(N,N-Dimethylacetamide/Saline)/solution	
Method of Administration	Single intravenous administration	
Dose (mg/kg as free base)	0.5, 1	
Sample	Plasma	
Analyte	Naldemedine	
Assay	LC/MS/MS	
Pharmacokinetic Parameters	0.5 mg/kg	1 mg/kg
Estimated plasma concentration at 0 time (ng/mL)	755 ± 127	1940 ± 150
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	351 ± 29	725 ± 61
Total clearance (CL _{tot} , mL/hr/kg)	1430 ± 120	1390 ± 120
t _{1/2,z} (hr)	1.02 ± 0.15	1.27 ± 0.19
Volume of distribution at steady state (Vd _{ss} , mL/kg)	1180 ± 80	1240 ± 80
MRT _{inf} (hr)	0.826 ± 0.053	0.898 ± 0.055
Data are expressed as the mean ± S.D.		
Study Number	R-297995-PB-070-N	
Location in CTD	4.2.2.2-03	

2.6.5.3.4 Dose-Linearity and Food Effect of Naldemedine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)				
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Group				
Method of Administration	Single oral administration				
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension				
Feeding Condition	Non-fasted for 0.3, 1, 3, 10 mg/kg, fasted for 1 mg/kg				
Dose (mg/kg as free base)	0.3, 1, 3, 10				
Sample	Plasma				
Analyte	Naldemedine				
Assay	LC/MS/MS				
Pharmacokinetic Parameters	Non-fasted Rat				Fasted Rat
	0.3 mg/kg	1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	1 mg/kg
C _{max} (ng/mL)	18.8 ± 5.4	37.9 ± 3.4	168 ± 48	853 ± 175	114 ± 31
T _{max} (hr)	0.875 ± 0.250	1.00 ± 0.00	1.13 ± 0.63	0.625 ± 0.250	0.438 ± 0.125
t _{1/2,z} (hr)	1.87 ± 0.63	1.89 ± 0.54	1.66 ± 0.55	1.34 ± 0.34	1.36 ± 0.19
MRT _{inf} (hr)	3.04 ± 0.95	3.32 ± 0.70	3.20 ± 0.59	2.65 ± 0.48	2.23 ± 0.33
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	67.6 ± 24.1	172 ± 33	674 ± 166	2650 ± 220	291 ± 21
Bioavailability (BA, %)	32.1 ± 11.4	24.5 ± 4.7	32.0 ± 7.9	37.7 ± 3.2	41.4 ± 2.9
Data are expressed as the mean ± S.D.					
Study Number	R-297995-PB-070-N				
Location in CTD	4.2.2.2-03				

2.6.5.3.5 Dose-Linearity of Naldemedine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats with Subcutaneously Administered Morphine-Induced Constipation

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crlj:WI			
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Group			
Feeding Condition	Fasted			
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension			
Method of Administration	Single oral administration			
Dose (mg/kg as free base)	0.03, 0.1, 0.3, 1			
Morphine Treatment	Morphine hydrochloride (3 mg/kg) was administered subcutaneously at 15 minutes after dosing of naldemedine tosylate.			
Sample	Plasma			
Analyte	Naldemedine			
Assay	LC/MS/MS			
Pharmacokinetic Parameters	0.03 mg/kg ^(a)	0.1 mg/kg	0.3 mg/kg	1 mg/kg
C _{max} (ng/mL)	2.94 ± 0.36	10.2 ± 2.3	30.8 ± 15.3	191 ± 62
T _{max} (hr)	0.44 ± 0.13	0.50 ± 0.00	0.88 ± 0.75	0.56 ± 0.31
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	11.5 ± 1.8	53.8 ± 10.1	114 ± 13	590 ± 100
Data are expressed as the mean ± S.D. ^(a) The plasma concentration 1 hour (evaluation time in this model) after a single oral administration of naldemedine tosylate at 0.03 mg/kg (efficacious dose) in rats was 2.51 ng/mL.				
Study Number	R-297995-PF-089-N (CRO Study No. ■■■ 3825-G)			
Location in CTD	4.2.2.2-04			

2.6.5.3.6 Dose-Linearity of Naldemedine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats with Castor Oil-induced Diarrhea Inhibited by Subcutaneously Administered Morphine

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)			
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Group			
Feeding Condition	Fasted			
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension			
Method of Administration	Single oral administration			
Dose (mg/kg as free base)	0.01, 0.03, 0.1, 0.3			
Castor Oil and Morphine Treatment	Castor oil (2 mL/animal) was single-administered orally at 45 minutes after dosing of naldemedine tosylate, and morphine hydrochloride (1 mg/kg) was administered subcutaneously at 15 minutes after dosing of castor oil.			
Sample	Plasma			
Analyte	Naldemedine			
Assay	LC/MS/MS			
Pharmacokinetic Parameters	0.01 mg/kg ^(a)	0.03 mg/kg	0.1 mg/kg	0.3 mg/kg
C _{max} (ng/mL)	1.51 ± 0.61	5.56 ± 1.22	20.9 ± 10.7	63.6 ± 33.9
T _{max} (hr)	1.00 ± 0.71	0.50 ± 0.00	0.56 ± 0.31	0.50 ± 0.00
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	6.91 ± 1.38	16.5 ± 2.1	56.3 ± 16.9	179 ± 56
Data are expressed as the mean ± S.D. ^(a) The plasma concentration 2 hours (evaluation time in this model) after a single oral administration of naldemedine tosylate at 0.01 mg/kg (efficacious dose) in rats was 0.974 ng/mL.				
Study Number	R-297995-PF-090-N (CRO Study No. ■■■ 3826-G)			
Location in CTD	4.2.2.2-05			

2.6.5.3.7 Plasma Concentrations of Naldemedine and Its Metabolites after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain		Rat/Crlj:WI					
Gender (M/F)/Number of Animals		M/4/Group					
Feeding Condition		Fasted					
Vehicle/Formulation		0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension					
Method of Administration		Single oral administration					
Dose (mg/kg as free base)		1, 3, 5, 7, 10, 30					
Sample		Plasma					
Analyte		Naldemedine, Nor-naldemedine, Naldemedine 3-G, Naldemedine 6-G, Naldemedine-CA					
Assay		LC/MS/MS					
Pharmacokinetic Parameters		1 mg/kg	3 mg/kg	5 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
C _{max} (ng/mL)	Naldemedine	77.6 ± 36.1	282 ± 45	518 ± 73	697 ± 214	915 ± 90	3260 ± 720
	Nor-naldemedine	3.88 ± 1.36	16.9 ± 1.9	36.6 ± 5.9	43.8 ± 14.1	51.5 ± 4.7	193 ± 26
	Naldemedine 3-G	3.06 ± 1.56	10.6 ± 3.7	16.2 ± 3.9	18.6 ± 5.3	22.9 ± 7.6	51.4 ± 16.6
	Naldemedine 6-G	0.275 ± 0.120	0.955 ± 0.488	1.72 ± 0.72	1.99 ± 0.56	2.01 ± 1.08	3.97 ± 1.69
	Naldemedine-CA	0.145 ± 0.062	0.852 ± 0.772	0.858 ± 0.506	2.00 ± 1.87	2.96 ± 1.23	2.79 ± 1.21
T _{max} (hr)	Naldemedine	0.750 ± 0.842	0.813 ± 0.800	0.563 ± 0.315	0.875 ± 0.250	1.88 ± 1.55	3.00 ± 1.15
	Nor-naldemedine	1.63 ± 1.60	0.750 ± 0.289	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.88 ± 1.55	3.00 ± 1.15
	Naldemedine 3-G	0.438 ± 0.125	0.500 ± 0.000	0.625 ± 0.250	0.688 ± 0.375	0.875 ± 0.750	3.00 ± 1.51
	Naldemedine 6-G	0.250 ± 0.000	0.375 ± 0.144	0.438 ± 0.125	0.438 ± 0.125	0.375 ± 0.144	0.500 ± 0.354
	Naldemedine-CA	5.00 ± 2.58	5.50 ± 1.91	6.00 ± 1.63	5.50 ± 1.91	4.00 ± 0.00	6.00 ± 2.00
Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours (AUC _{0-24hr} , ng·hr/mL)	Naldemedine	270 ± 36	1110 ± 330	1940 ± 350	2460 ± 330	4000 ± 930	15700 ± 2900
	Nor-naldemedine	22.3 ± 4.8	73.9 ± 14.2	146 ± 28	179 ± 37	249 ± 60	1050 ± 90
	Naldemedine 3-G	6.19 ± 1.23	20.8 ± 6.4	40.6 ± 16.5	45.7 ± 5.7	66.5 ± 27.8	228 ± 40
	Naldemedine 6-G	0.192 ± 0.053	0.914 ± 0.444	2.03 ± 0.50	2.56 ± 0.57	3.16 ± 1.46	11.4 ± 4.3
	Naldemedine-CA	0.620 ± 0.245	3.06 ± 1.85	8.56 ± 8.98	21.8 ± 16.1	24.5 ± 10.6	36.3 ± 4.5
Data are expressed as the mean ± S.D.							
Study Number		S-297995-PF-197-N (CRO Study No. ■■■■■ 055-191)					
Location in CTD		4.2.2.2-06					

2.6.5.3.8 Plasma and Brain Concentrations of Naldemedine and Its Metabolites after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats with Subcutaneously Administered Morphine-induced Analgesia

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain		Rat/Crlj:WI				
Gender (M/F)/Number of Animals		M/4/Group				
Feeding Condition		Fasted				
Vehicle/Formulation		0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension				
Method of Administration		Single oral administration				
Dose (mg/kg as free base)		3, 5, 7, 10, 30				
Morphine Treatment		Morphine hydrochloride (6 mg/kg) was administered subcutaneously at 45 minutes prior to each sampling time point.				
Sample		Plasma, Brain				
Analyte		Naldemedine, Nor-naldemedine, Naldemedine 3-G, Naldemedine 6-G, Naldemedine-CA				
Assay		LC/MS/MS				
Pharmacokinetic Parameters in Plasma		3 mg/kg	5 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
C _{max} (ng/mL)	Naldemedine	167	300	433	636	1730
	Nor-naldemedine	10.7	16.5	23.7	34.8	89.1
	Naldemedine 3-G	4.71	7.07	8.16	12.7	38.2
	Naldemedine 6-G	0.202	0.385	0.345	0.869	1.90
	Naldemedine-CA	0.115	0.565	0.364	0.374	2.86
T _{max} (hr)	Naldemedine	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	Nor-naldemedine	1.00	1.00	1.00	4.00	4.00
	Naldemedine 3-G	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	Naldemedine 6-G	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	Naldemedine-CA	4.00	4.00	1.00	4.00	4.00
AUC _{0-24hr} (ng·hr/mL)	Naldemedine	819	1140	2160	3000	10500
	Nor-naldemedine	65.1	89.5	156	248	651
	Naldemedine 3-G	17.5	22.3	36.0	50.8	188
	Naldemedine 6-G	0.454	N.C.	0.941	2.01	6.43
	Naldemedine-CA	0.788	3.55	1.90	2.61	32.2
Data are expressed as the mean value.						

(続く)

2.6.5.3.8 Plasma and Brain Concentrations of Naldemedine and Its Metabolites after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats with Subcutaneously Administered Morphine-induced Analgesia (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate

Pharmacokinetic Parameters in Brain		3 mg/kg	5 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
C _{max} (ng/g)	Naldemedine	7.01	8.44	16.0	27.9	72.4
	Nor-naldemedine	0.119	0.173	0.288	0.487	1.15
	Naldemedine 3-G	0.0355	0.0523	0.0719	0.108	0.319
	Naldemedine 6-G	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
	Naldemedine-CA	0.0451	0.125	0.132	0.0776	0.327
T _{max} (hr)	Naldemedine	4.00	1.00	4.00	4.00	4.00
	Nor-naldemedine	4.00	1.00	4.00	4.00	4.00
	Naldemedine 3-G	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	Naldemedine 6-G	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
	Naldemedine-CA	8.00	4.00	8.00	4.00	4.00
AUC _{0-24hr} (ng·hr/g)	Naldemedine	80.4	108	184	275	683
	Nor-naldemedine	1.54	2.23	4.08	6.20	15.5
	Naldemedine 3-G	N.C.	N.C.	0.204	0.324	0.926
	Naldemedine 6-G	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
	Naldemedine-CA	0.0902	0.579	0.356	0.435	4.88
N.C., Not calculated. Data are expressed as the mean value.						
Study Number		S-297995-PF-198-N (CRO Study No. ■■■■■ 055-190)				
Location in CTD		4.2.2.2-07				

2.6.5.3.9 Plasma Concentrations of Naldemedine and Morphine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Rats with Orally Administered Morphine-Induced Constipation

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crlj:WI				
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Group				
Feeding Condition	Fasted				
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension				
Method of Administration	Single oral administration				
Dose (mg/kg as free base)	0 (vehicle), 0.03, 0.1, 0.3, 1				
Morphine Treatment	Morphine hydrochloride (20 mg/kg) was orally administered 15 minutes after vehicle or naldemedine tosylate administration.				
Sample	Plasma				
Analyte	Naldemedine, Morphine				
Assay	LC/MS/MS				
Pharmacokinetic Parameters of Naldemedine	Vehicle	Naldemedine tosylate			
		0.03 mg/kg	0.1 mg/kg ^(a)	0.3 mg/kg	1 mg/kg
C _{max} (ng/mL)		3.74 ± 1.71	11.3 ± 2.9	32.6 ± 7.4	125 ± 21
T _{max} (hr)		0.750 ± 0.289	0.500 ± 0.000	0.500 ± 0.000	0.500 ± 0.000
t _{1/2,z} (hr)		3.06 ± 2.23	2.24 ± 0.61	2.02 ± 0.06	2.42 ± 0.66
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)		14.9 ± 6.8	34.6 ± 4.1	116 ± 14	390 ± 33
Pharmacokinetic Parameters of Morphine	Vehicle	Morphine			
		0.03 mg/kg	0.1 mg/kg	0.3 mg/kg	1 mg/kg
C _{max} (ng/mL)	206 ± 31	397 ± 120	585 ± 196	860 ± 311	766 ± 494
T _{max} (hr)	0.583 ± 0.391	0.208 ± 0.083	0.167 ± 0.096	0.167 ± 0.096	0.167 ± 0.096
t _{1/2,z} (hr)	4.49 ± 2.14	3.35 ± 2.59	4.95 ± 2.45	3.17 ± 3.07	2.77 ± 1.96
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	905 ± 190	1030 ± 180	1200 ± 340	1220 ± 110	1230 ± 410
Data are expressed as the mean ± S.D.					
^(a) Data are the mean ± S.D. of the results from 3 animals.					
Study Number	S-297995-PF-251-N (CRO Study No. ■■■■■ 055-270)				
Location in CTD	4.2.2.2-08				

2.6.5.3.10 Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Plasma Concentration of Naldemedine after a Single Intravenous or Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Dogs

Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Dog/TOYO Beagle					
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4			M/4		
Feeding Condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	(N,N-Dimethylacetamide/Saline)/solution			0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension		
Method of Administration	Single intravenous administration			Single oral administration		
Dose (mg/kg as free base)	0.5			1		
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 μCi/mg)					
Sample	Plasma for radioactivity and naldemedine, Blood for radioactivity					
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent), Naldemedine					
Assay	LSC for radioactivity, LC/MS/MS for naldemedine					
Pharmacokinetic Parameters	After Intravenous Administration			After Oral Administration		
	Radioactivity in Plasma	Naldemedine in Plasma	Radioactivity in Blood	Radioactivity in Plasma	Naldemedine in Plasma	Radioactivity in Blood
CL _{tot} (ng/mL)	268 ± 18	671 ± 72	379 ± 28			
C _{max} (ng/mL)				235 ± 100	207 ± 113	146 ± 65
T _{max} (hr)				2.75 ± 2.22	2.38 ± 2.50	2.75 ± 2.22
t _{1/2,z} (hr)	21.2 ± 1.9	1.00 ± 0.06	19.7 ± 0.9	16.6 ± 1.5	1.82 ± 0.43	15.0 ± 0.9
Vd _{ss} (mL/kg)	4710 ± 510	559 ± 83	6900 ± 370			
MRT _{inf} (hr)	17.6 ± 2.2	0.831 ± 0.055	18.3 ± 0.7	18.3 ± 1.4	3.84 ± 1.67	18.4 ± 1.8
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	1870 ± 130	751 ± 80	1330 ± 110	2430 ± 100	885 ± 121	1810 ± 100
AUC Ratio to Radioactivity (%)		40.4 ± 5.8			36.5 ± 4.8	
BA (%)					59.5 ± 10.3	
Data are expressed as the mean ± S.D.						
Study Number	R-297995-PB-068-N					
Location in CTD	4.2.2.2-09					

2.6.5.3.11 Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Plasma Concentration of Naldemedine after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Dogs

Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Dog/TOYO Beagle		
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4		
Feeding Condition	Non-fasted		
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension		
Method of Administration	Single oral administration		
Dose (mg/kg as free base)	1		
Radionuclide	¹⁴ C		
Specific Activity	2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg)		
Sample	Plasma for radioactivity and naldemedine, Blood for radioactivity		
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent), Naldemedine		
Assay	LSC for radioactivity, LC/MS/MS for naldemedine		
Pharmacokinetic Parameters	Radioactivity in Plasma	Naldemedine in Plasma	Radioactivity in Blood
C _{max} (ng/mL)	342 ± 63	276 ± 61	211 ± 43
T _{max} (hr)	1.75 ± 0.50	1.50 ± 0.58	1.75 ± 0.50
t _{1/2,z} (hr)	32.1 ± 9.7	1.74 ± 0.72	35.5 ± 18.9
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	2730 ± 580	999 ± 69	2210 ± 1130
MRT _{inf} (hr)	28.4 ± 11.6	2.95 ± 0.78	36.8 ± 26.3
AUC Ratio to Radioactivity (%)		37.8 ± 7.3	
BA (%)		50.6 ± 2.5	
Data are expressed as the mean ± S.D.			
Study Number	S-297995-PB-177-N		
Location in CTD	4.2.2.2-10		

2.6.5.3.12 Dose-Linearity of Naldemedine after a Single Intravenous Administration of Naldemedine Tosylate in Dogs

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Dog/TOYO Beagle	
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Group	
Feeding Condition	Non-fasted	
Vehicle/Formulation	(N,N-Dimethylacetamide/Saline)/solution	
Method of Administration	Single intravenous administration	
Dose (mg/kg as free base)	0.5, 1	
Sample	Plasma	
Analyte	Naldemedine	
Assay	LC/MS/MS	
Pharmacokinetic Parameters	0.5 mg/kg	1 mg/kg
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	989 ± 72	1970 ± 190
CL _{tot} (mL/min/kg)	508 ± 36	512 ± 47
t _{1/2,z} (hr)	1.28 ± 0.03	1.24 ± 0.03
Vd _{ss} (L/kg)	461 ± 58	467 ± 30
MRT _{inf} (hr)	0.907 ± 0.098	0.916 ± 0.071
Data are expressed as the mean ± S.D.		
Study Number	S-297995-PB-161-N	
Location in CTD	4.2.2.2-11	

2.6.5.3.13 Dose-Linearity and Food Effect of Naldemedine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Dogs

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Dog/TOYO Beagle				
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Group				
Method of Administration	Single oral administration				
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension				
Feeding Condition	Non-fasted for 0.3, 1, 3, 10 mg/kg, fasted for 1 mg/kg				
Dose (mg/kg as free base)	0.3, 1, 3, 10				
Sample	Plasma				
Analyte	Naldemedine				
Assay	LC/MS/MS				
Pharmacokinetic Parameters	Non-fasted Dog				Fasted Dog
	0.3 mg/kg	1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	1 mg/kg
C _{max} (ng/mL)	57.9 ± 35.8	213 ± 81	963 ± 346	4110 ± 630	655 ± 54
T _{max} (hr)	1.75 ± 1.50	1.38 ± 1.75	1.63 ± 1.60	1.13 ± 0.63	0.250 ± 0.000
t _{1/2, z} (hr)	3.14 ± 0.93	2.36 ± 0.61	1.70 ± 0.22	2.26 ± 0.08	1.36 ± 0.13
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	291 ± 45	989 ± 127	3700 ± 500	19500 ± 2800	849 ± 65
MRT _{inf} (hr)	5.22 ± 2.03	4.11 ± 1.39	3.23 ± 1.17	3.98 ± 1.01	1.41 ± 0.09
BA (%)	48.9 ± 4.0	49.9 ± 3.5	62.4 ± 7.9	98.6 ± 11.2	
Data are expressed as the mean ± S.D.					
Study Number	S-297995-PB-161-N				
Location in CTD	4.2.2.2-11				

2.6.5.3.14 Dose-linearity of Naldemedine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Ferrets with Subcutaneously Administered Morphine-Induced Emesis

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Ferret/Marshall			
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Group			
Feeding Condition	Non-fasted			
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension			
Method of Administration	Single oral administration			
Dose (mg/kg as free base)	0.01, 0.03, 0.1, 0.3			
Morphine Treatment	Morphine hydrochloride (0.6 mg/kg) was administered subcutaneously 30 minutes after dosing of naldemedine tosylate.			
Sample	Plasma			
Analyte	Naldemedine			
Assay	LC/MS/MS			
Pharmacokinetic Parameters	0.01 mg/kg	0.03 mg/kg	0.1 mg/kg	0.3 mg/kg
C _{max} (ng/mL)	4.72 ± 4.57	5.01 ± 3.88	10.9 ± 6.6	77.3 ± 75.9
T _{max} (hr)	0.63 ± 0.43	1.31 ± 1.80	1.50 ± 1.68	0.69 ± 0.38
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	9.65 ± 5.87	21.8 ± 12.4	52.7 ± 27.7	291 ± 140
Data are expressed as the mean ± S.D.				
Study Number	R-297995-PF-088-N (CRO Study No. ■■■3824-G)			
Location in CTD	4.2.2.2-12			

2.6.5.3.15 Plasma Concentrations of Naldemedine and Morphine after a Single Oral Administration of Naldemedine Tosylate in Ferrets with Orally Administered Morphine-Induced Emesis

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Ferret/Marshall				
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Group				
Feeding Condition	Non-fasted				
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension				
Method of Administration	Single oral administration				
Dose (mg/kg as free base)	0 (vehicle), 0.01, 0.03, 0.1, 0.3				
Morphine Treatment	Morphine hydrochloride (1.2 mg/kg) was orally administered 30 minutes after vehicle or naldemedine tosylate administration.				
Sample	Plasma				
Analyte	Naldemedine, Morphine				
Assay	LC/MS/MS				
Pharmacokinetic Parameters of Naldemedine	Vehicle	Naldemedine tosylate			
		0.01 mg/kg ^(a)	0.03 mg/kg	0.1 mg/kg	0.3 mg/kg
C _{max} (ng/mL)		2.75 ± 0.69	8.93 ± 2.17	26.6 ± 6.3	86.3 ± 16.3
T _{max} (hr)		0.667 ± 0.289	0.563 ± 0.315	0.625 ± 0.250	0.625 ± 0.250
t _{1/2,z} (hr)		1.14 ± 0.27	1.30 ± 0.26	1.51 ± 0.59	2.70 ± 0.28
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)		5.81 ± 1.72	16.5 ± 2.8	61.8 ± 25.1	203 ± 65
Pharmacokinetic Parameters of Morphine	Vehicle	Morphine			
		0.01 mg/kg	0.03 mg/kg	0.1 mg/kg	0.3 mg/kg
C _{max} (ng/mL)	54.8 ± 16.6	72.4 ± 13.5	74.1 ± 8.0	72.7 ± 18.3	75.2 ± 13.2
T _{max} (hr)	0.375 ± 0.144	0.375 ± 0.144	0.438 ± 0.125	0.313 ± 0.125	0.250 ± 0.000
t _{1/2,z} (hr)	0.964 ± 0.428	0.545 ± 0.068	0.878 ± 0.756	1.33 ± 1.14	1.68 ± 0.83
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	82.9 ± 29.8	83.6 ± 7.9	97.5 ± 37.9	94.4 ± 21.6	114 ± 25
Data are expressed as the mean ± S.D.					
^(a) Data are the mean ± S.D. of the results from 3 animals.					
Study Number	S-297995-PF-250-N (CRO Study No. 055-269)				
Location in CTD	4.2.2.2-13				

2.6.5.4 薬物動態試験： 吸収：反復投与

2.6.5.4.1 Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Naldemedine after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RatsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)					
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Group					
Feeding Condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension					
Method of Administration	Repeated oral administrations, once daily for 14 days					
Dose (mg/kg as free base)	1					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	2.58 MBq/mg (69.6 µCi/mg)					
Sample	Plasma for radioactivity and naldemedine, Blood for radioactivity					
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent), naldemedine					
Assay	LSC for radioactivity, LC/MS/MS for naldemedine					
Pharmacokinetic Parameters in Plasma	Single Administration		7th Administration		14th Administration	
	Radioactivity	Naldemedine	Radioactivity	Naldemedine	Radioactivity	Naldemedine
C _{max} (ng/mL)	37.7 ± 10.7	33.7 ± 9.7	62.4 ± 11.8	48.8 ± 8.3	61.2 ± 19.5	47.8 ± 15.2
T _{max} (hr)	1.75 ± 0.50	1.75 ± 0.50	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	2.00 ± 1.41	2.00 ± 1.41
t _{1/2,z} (hr) ^(a)	6.51 ± 4.18	3.06 ± 1.73	25.1 ± 7.2	2.30 ± 1.34	44.0 ± 17.1	1.89 ± 0.18
AUC _{0-24hr} (ng·hr/mL)	302 ± 55	217 ± 51	449 ± 72	228 ± 20	505 ± 88	268 ± 48
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	317 ± 68	219 ± 47	679 ± 192	229 ± 20	941 ± 421	266 ± 39
MRT _{inf} (hr)	7.64 ± 1.66	5.54 ± 2.53	24.4 ± 8.1	3.92 ± 1.48	42.9 ± 23.3	4.02 ± 0.78
AUC Ratio to Radioactivity (%) ^(b)		69.2 ± 4.5		51.3 ± 6.1		53.3 ± 6.6
Data are expressed as the mean ± S.D.						
^(a) Radioactivity after single administration, t _{1/2} (12-24hr or 8-12hr); naldemedine tosylate after single administration, t _{1/2} (4-12hr or 4-8hr); radioactivity after the 7th administration, t _{1/2} (24-48hr or 12-48hr); naldemedine tosylate after the 7th administration, t _{1/2} (4-12hr or 4-8hr); radioactivity after the 14th administration, t _{1/2} (24-48hr); naldemedine tosylate after the 14th administration, t _{1/2} (4-8hr or 8-12hr or 4-12hr).						
^(b) Single administration, AUC _{0-inf} ratio; 7th and 14th administrations, AUC _{0-24hr} ratio.						

(続く)

2.6.5.4.1 Plasma and Blood Concentrations of Radioactivity and Naldemedine after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats (続き)

Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Pharmacokinetic Parameters of Radioactivity in Blood	Single Administration			7th Administration			14th Administration	
C _{max} (ng/mL)	18.0 ± 5.1			28.6 ± 8.9			39.2 ± 12.5	
T _{max} (hr)	2.75 ± 1.50			2.00 ± 1.41			2.13 ± 1.44	
t _{1/2,z} (hr) ^(a)	12.1 ± 7.1			150 ± 196			108 ± 60	
AUC _{0-24hr} (ng·hr/mL)	174 ± 64			383 ± 89			601 ± 232	
AUC _{0-inf} (ng·hr/mL)	235 ± 83			3570 ± 4890			3200 ± 1040	
MRT _{inf} (hr)	16.2 ± 7.2			214 ± 282			151 ± 82	
Trough Concentrations of Radioactivity in Plasma (ng/mL)	1st-24 hr	3rd-24 hr	5th-24 hr	7th-24 hr	9th-24 hr	11th-24 hr	13th-24 hr	
	1.59 ± 0.92	3.20 ± 0.76	4.44 ± 1.43	4.21 ± 1.19	4.72 ± 1.28	5.59 ± 2.09	4.75 ± 1.09	
Data are expressed as the mean ± S.D. (^a) Single administration, t _{1/2} (12-24hr or 8-12hr); 7th administration, t _{1/2} (12-48hr); 14th administration, t _{1/2} (24-48hr).								
Study Number	S-297995-PB-190-N							
Location in CTD	4.2.2.2-14							

2.6.5.5 薬物動態試験： 分布

2.6.5.5.1 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RatsTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)					
Gender (M/F)/Number of Animals	M/1/Time point					
Feeding Condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension					
Method of Administration	Single oral administration					
Dose (mg/kg as free base)	1					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)					
Sample	Adrenal gland, Blood in the heart, Blood in the hepatic vein, Blood in the portal vein, Blood in the renal vein, Bone marrow, Brain cerebellum, Brain cerebrum, Brown fat, Cervical lymph node, Exorbital lacrimal gland, Harderian gland, Heart, Hypophysis, Liver, Lung, Pancreas, Intestinal wall, Parotid gland, Pineal body, Preputial gland, Prostate, Rectal mucosa, Renal cortex, Renal cortico medullary junction, Renal medulla, Seminal vesicle, Skeletal muscle, Skin, Spinal cord, Spleen, Submaxillary gland, Testis, Thymus, Thyroid, White fat					
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent)					
Assay	Quantitative whole-body autoradiography (QWBA)					
Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	0.25 hr	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr
Adrenal gland	N.D.	143	65.7	106	N.D.	N.D.
Blood in the heart	N.D.	34.6	14.7	40.1	N.D.	N.D.
Blood in the hepatic vein	N.D.	52.1	15.2	45.4	N.D.	N.D.
Blood in the portal vein	N.D.	97.2	30.8	74.3	N.D.	N.D.
Blood in the renal vein	N.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.
N.C., Not calculated (Not distinguished from the around tissue). N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, below lower limit of quantification (< approximately 16.3 ng/g) and N.D. were treated as zero, and N.C. was not used. When the data on all sections were N.D. (N.C.), the mean is expressed as "N.D." ("N.C.").						

(続く)

2.6.5.5.1 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats (続き)Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	0.25 hr	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr
Bone marrow	N.D.	60.3	35.3	73.3	N.D.	N.D.
Brain cerebellum	N.D.	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.
Brain cerebrum	N.D.	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.
Brown fat	N.D.	56.0	26.5	105	N.D.	N.D.
Cervical lymph node	N.D.	50.2	39.2	87.5	N.D.	N.D.
Exorbital lacrimal gland	N.D.	80.8	83.4	236	N.D.	N.D.
Harderian gland	N.D.	102	180	315	N.D.	N.D.
Heart	N.D.	62.1	40.8	195	N.D.	N.D.
Hypophysis	N.D.	N.C.	176	269	N.D.	N.D.
Liver	130	649	611	525	104	26.0
Lung	N.D.	95.6	59.6	79.8	N.D.	N.D.
Pancreas	N.D.	80.8	57.0	127	N.D.	N.D.
Intestinal wall	N.D. or N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.
Parotid gland	N.D.	64.0	66.1	457	N.D.	N.D.
Pineal body	N.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.
Preputial gland	N.D.	84.0	51.7	120	N.D.	N.D.
Prostate	N.D.	49.6	28.2	69.9	N.D.	N.D.
Rectal mucosa	N.D.	88.1	52.0	972	70.8	N.D.
Renal cortex	N.D.	149	101	164	23.6	N.D.
Renal cortico-medullary junction	N.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.D.
Renal medulla	N.D.	122	80.4	183	N.C.	N.D.
Seminal vesicle	N.D.	10.3	9.28	31.8	N.D.	N.D.
Skeletal muscle	N.D.	29.8	21.3	69.6	N.D.	N.D.

BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 16.3 ng/g).

N.C., Not calculated (Not distinguished from the around tissue).

N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background).

When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero, and N.C. was not used. When the data on all sections were BLQ (N.D. or N.C.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D." or "N.C.").

(続く)

2.6.5.5.1 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats (続き)Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	0.25 hr	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr
Skin	N.D.	26.3	2.41	34.1	N.D.	N.D.
Spinal cord	N.D.	BLQ	BLQ	BLQ or N.C.	N.D.	N.D.
Spleen	N.D.	90.3	77.7	84.2	N.D.	N.D.
Submaxillary gland	N.D.	139	118	628	23.8	N.D.
Testis	N.D.	BLQ or N.C.	3.72	54.9	29.4	N.D.
Thymus	N.D.	28.9	34.9	144	N.D.	N.D.
Thyroid	N.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.
White fat	N.D.	BLQ	BLQ or N.C.	6.52	N.D.	N.D.
BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 16.3 ng/g). N.C., Not calculated (Not distinguished from the around tissue). N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero, and N.C. was not used. When the data on all sections were BLQ (N.D. or N.C.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D." or "N.C.").						
Study Number	R-297995-PB-057-N					
Location in CTD	4.2.2.3-01					

2.6.5.5.2 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RatsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)					
Gender (M/F)/Number of Animals	M/1/Time point					
Feeding Condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension					
Method of Administration	Single oral administration					
Dose (mg/kg as free base)	1					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg)					
Sample	Adrenal gland, Blood in the heart, Blood in the hepatic vein, Blood in the portal vein, Blood in the renal vein, Bone marrow, Brain cerebellum, Brain cerebrum, Brown fat, Cervical lymph node, Exorbital lacrimal gland, Harderian gland, Heart, Hypophysis, Intestinal wall, Liver, Lung, Pancreas, Parotid gland, Pineal body, Preputial gland, Prostate, Rectal mucosa, Renal cortex, Renal cortico medullary junction, Renal medulla, Renal papilla, Seminal vesicle, Skeletal muscle, Skin, Spinal cord, Spleen, Submaxillary gland, Testis, Thymus, Thyroid, White fat					
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent)					
Assay	QWBA					
Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	0.25 hr	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr
Adrenal gland	N.D.	108	88.6	9.27	N.D.	N.D.
Blood in the heart	N.D.	29.9	19.9	BLQ	N.D.	N.D.
Blood in the hepatic vein	N.D.	53.8	31.1	BLQ	N.D.	N.D.
Blood in the portal vein	26.7	94.5	38.8	BLQ	N.D.	N.D.
Blood in the renal vein	N.D.	32.9	26.3	BLQ	N.D.	N.D.
Bone marrow	N.D.	49.9	53.7	N.D.	N.D.	N.D.
Brain cerebellum	N.D.	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Brain cerebrum	N.D.	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Brown fat	N.D.	48.0	39.5	N.D.	N.D.	N.D.
Cervical lymph node	N.D.	44.0	47.7	N.D.	N.D.	N.D.
BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 15.5 ng/g). N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were BLQ (N.D.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D.").						

(続く)

2.6.5.5.2 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	0.25 hr	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr
Exorbital lacrimal gland	N.D.	60.3	124	22.5	N.D.	N.D.
Harderian gland	N.D.	76.0	304	196	35.6	N.D.
Heart	N.D.	51.9	42.4	N.D.	N.D.	N.D.
Hypophysis	N.D.	137	184	102	57.8	N.D.
Intestinal wall	N.D.	110	N.C.	17.7	N.D.	N.D.
Liver ^(a)	178	708	665	773	43.2	23.7
Lung	N.D.	85.6	107	32.1	N.D.	N.D.
Pancreas	N.D.	82.5	64.3	26.5	BLQ	N.D.
Parotid gland	N.D.	53.4	50.3	N.D.	N.D.	N.D.
Pineal body	N.D.	93.3	N.C.	N.D.	N.D.	N.D.
Preputial gland	N.D.	77.0	96.4	49.0	N.D.	N.D.
Prostate	N.D.	33.2	56.5	N.D.	N.D.	N.D.
Rectal mucosa	N.D.	51.0	104	4244	56.2	N.D.
Renal cortex	23.7	112	96.6	29.6	BLQ	N.D.
Renal cortico-medullary junction ^(a)	N.C.	N.C.	N.C.	60.1	23.1	21.0
Renal medulla	9.43	86.3	75.9	11.0	BLQ	N.D.
Renal papilla	BLQ or N.C.	115	75.8	31.6	BLQ	N.D.
Seminal vesicle	N.D.	BLQ	17.8	N.D.	N.D.	N.D.
Skeletal muscle	N.D.	27.3	25.6	N.D.	N.D.	N.D.
Skin	N.D.	24.0	22.8	N.D.	N.D.	N.D.
Spinal cord	N.D.	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Spleen	N.D.	88.6	79.4	20.3	N.D.	N.D.

BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 15.5 ng/g).

N.C., Not calculated (Not distinguished from the around tissue).

N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background).

When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero, and N.C. was not used. When the data on all sections were BLQ (N.D. or N.C.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D." or "N.C.").

^(a) The radioactivity in liver and renal cortico-medullary junction gradually decreased with $t_{1/2,z}$ values of 55.4 and 349 hours, respectively.

(続く)

2.6.5.5.2 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	0.25 hr	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr
Submaxillary gland	N.D.	110	99.5	17.4	N.D.	N.D.
Testis	N.D.	BLQ	15.3	26.5	BLQ	N.D.
Thymus	N.D.	28.3	33.9	N.D.	N.D.	N.D.
Thyroid	N.D.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.	N.D.
White fat	N.D.	4.05	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.
BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 15.5 ng/g). N.C., Not calculated (Not distinguished from the around tissue). N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero, and N.C. was not used. When the data on all sections were BLQ (N.D. or N.C.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D." or N.C.").						
Study Number	R-297995-PB-096-N					
Location in CTD	4.2.2.3-02					

2.6.5.5.3 Tissue Distribution after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RatsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)											
Gender (M/F)/Number of Animals	M/1/Time point											
Feeding Condition	Non-fasted											
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension											
Method of Administration	Repeated oral administrations, once daily for 14 days											
Dose (mg/kg as free base)	1											
Radionuclide	¹⁴ C											
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)											
Sample	Adrenal gland, Blood in the heart, Blood in the hepatic vein, Blood in the portal vein, Blood in the renal vein, Bone marrow, Brain cerebellum, Brain cerebrum, Brown fat, Cervical lymph node, Connective tissue, Epididymis, Exorbital lacrimal gland, Eye ball, Harderian gland, Heart, Hypophysis, Intestinal wall, Liver, Lung, Lymph fluid, Nasal bone, Pancreas, Parotid gland, Pineal body, Preputial gland, Prostate, Rectal mucosa, Renal cortex, Renal cortico-medullary junction, Renal medulla, Skeletal muscle, Skin, Spinal cord, Spleen, Sublingual gland, Submaxillary gland, Testis, Thymus, Thyroid, Trachea, White fat, Renal papilla, Seminal vesicle											
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent)											
Assay	QWBA											
Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	24 hr after Single Admini stration	24 hr after 7th Admini stration	24 hr after 13th Admini stration	1 hr after 14th Admini stration	4 hr after 14th Admini stration	8 hr after 14th Admini stration	24 hr after 14th Admini stration	72 hr after 14th Admini stration	168 hr after 14th Admini stration	336 hr after 14th Admini stration	672 hr after 14th Admini stration	1008 hr after 14th Admini stration
Adrenal gland	N.D.	N.D.	N.D.	63.8	156	74.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Blood in the heart	N.D.	N.D.	N.D.	19.8	41.5	25.2	BLQ or N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Blood in the hepatic vein	N.D.	N.D.	N.D.	23.5	63.3	28.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Blood in the portal vein	N.D.	N.D.	N.D.	34.4	79.1	42.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 16.0 ng/g). N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were BLQ (N.D.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D."). When the data contained BLQ and N.D., the mean is expressed as "BLQ or N.D.".												

(続く)

2.6.5.5.3 Tissue Distribution after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	24 hr after Single Admini- stration	24 hr after 7th Admini- stration	24 hr after 13th Admini- stration	1 hr after 14th Admini- stration	4 hr after 14th Admini- stration	8 hr after 14th Admini- stration	24 hr after 14th Admini- stration	72 hr after 14th Admini- stration	168 hr after 14th Admini- stration	336 hr after 14th Admini- stration	672 hr after 14th Admini- stration	1008 hr after 14th Admini- stration
Blood in the renal vein	N.D.	N.D.	N.D.	25.9	35.2	22.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bone marrow	N.D.	N.D.	N.D.	38.7	79.5	41.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain cerebellum	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain cerebrum	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brown fat	N.D.	BLQ or N.D.	3.37	38.8	75.7	27.7	9.40	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Cervical lymph node	N.D.	N.D.	N.D.	28.4	70.7	52.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Connective tissue	N.D.	N.D.	N.D.	N.C.	37.2	24.8	N.C.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Epididymis	N.D.	BLQ or N.D.	N.D.	N.C.	58.6	56.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Exorbital lacrimal gland	N.D.	BLQ	22.0	40.3	124	110	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Eye ball	N.D.	N.D.	N.D.	BLQ	11.5	15.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Heart	N.D.	N.D.	N.D.	31.0	70.2	42.1	BLQ or N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hypophysis	N.D.	N.D.	N.D.	76.7	243	168	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Intestinal wall	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Liver	69.9	241	365	685	1064	826	473	318	104	24.7	N.D.	N.D.
Lung	N.D.	BLQ or N.D.	BLQ or N.D.	46.7	158	122	4.69	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Lymph fluid	N.D.	N.D.	N.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 16.0 ng/g).
N.C., Not calculated (Not distinguished from the around tissue).
N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background).
When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero, and N.C. was not used. When the data on all sections were BLQ (N.D. or N.C.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D." or "N.C."). When the data contained BLQ and N.D., the mean is expressed as "BLQ or N.D.".

(続く)

2.6.5.5.3 Tissue Distribution after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	24 hr after Single Admini- stration	24 hr after 7th Admini- stration	24 hr after 13th Admini- stration	1 hr after 14th Admini- stration	4 hr after 14th Admini- stration	8 hr after 14th Admini- stration	24 hr after 14th Admini- stration	72 hr after 14th Admini- stration	168 hr after 14th Admini- stration	336 hr after 14th Admini- stration	672 hr after 14th Adminis- tration	1008 hr after 14th Adminis- tration
Nasal bone	N.D.	291	4502	4978	7414	3935	2810	67.9	2242	4281	N.D.	2264
Pancreas	N.D.	BLQ or N.D.	BLQ or N.D.	42.2	104	58.3	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Parotid gland	N.D.	BLQ or N.D.	N.D.	32.8	72.5	45.1	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Pineal body	N.D.	N.D.	163	N.C.	109	68.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Preputial gland	N.D.	N.D.	42.9	67.9	129	86.7	64.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Prostate	N.D.	N.D.	N.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Rectal mucosa	122	N.C.	156	509	405	264	728	—	42.9	N.D.	N.D.	N.D.
Renal cortex	BLQ or N.D.	36.3	68.3	141	204	127	58.6	58.3	30.8	8.43	N.D.	N.D.
Renal cortico-medullary junction	34.0	153	246	239	346	226	178	138	107	53.7	N.D.	N.D.
Renal medulla	BLQ	BLQ	BLQ	47.9	131	58.8	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.
Renal papilla	6.43	BLQ	6.99	93.6	112	82.1	BLQ	11.1	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.
Seminal vesicle	N.D.	N.D.	N.D.	N.C.	22.6	29.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Skeletal muscle	N.D.	BLQ or N.D.	BLQ	6.36	41.8	22.6	BLQ or N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Skin	N.D.	7.48	6.39	17.0	40.6	26.5	22.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Spinal cord	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
—, Not estimated because the tissue concentration in each section was not represented. BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 16.0 ng/g). N.C., Not calculated (Not distinguished from the around tissue). N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero, and N.C. was not used. When the data on all sections were BLQ (N.D. or N.C.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D." or "N.C."). When the data contained BLQ and N.D., the mean is expressed as "BLQ or N.D.".												

(続く)

2.6.5.5.3 Tissue Distribution after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	24 hr after Single Admini- stration	24 hr after 7th Admini- stration	24 hr after 13th Admini- stration	1 hr after 14th Admini- stration	4 hr after 14th Admini- stration	8 hr after 14th Admini- stration	24 hr after 14th Admini- stration	72 hr after 14th Admini- stration	168 hr after 14th Admini- stration	336 hr after 14th Admini- stration	672 hr after 14th Admini- stration	1008 hr after 14th Admini- stration
Spleen	N.D.	BLQ or N.D.	5.18	69.8	139	94.5	20.7	13.1	BLQ or N.D.	BLQ or N.D.	N.D.	N.D.
Sublingual gland	N.D.	N.D.	N.C. or N.D.	N.C. or N.D.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Submaxillary gland	N.D.	N.D.	BLQ or N.D.	54.8	150	67.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Testis	BLQ	9.05	18.4	21.6	39.3	50.4	16.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Thymus	N.D.	N.D.	N.D.	N.C.	46.9	34.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Thyroid	N.D.	40.3	35.6	62.5	150	86.2	18.2	54.3	21.4	N.D.	N.D.	N.D.
Trachea	N.D.	N.R.	N.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
White fat	N.D.	N.D.	N.D.	N.C.	N.C.	N.C.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 16.0 ng/g). N.C., Not calculated (Not distinguished from the around tissue). N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background). N.R., Not represented (Tissue not present in section). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero, and N.C. was not used. When the data on all sections were BLQ (N.D. or N.C.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D." or "N.C."). When the data contained BLQ and N.D., the mean is expressed as "BLQ or N.D.". When the data contained N.C. and N.D., the mean is expressed as "N.C. or N.D.".												
Study Number	S-297995-PB-192-N											
Location in CTD	4.2.2.3-03											

2.6.5.5.4 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pigmented RatsTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/HsdBlu:LE							
Gender (M/F)/Number of Animals	M/1/Time point							
Feeding Condition	Non-fasted							
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension							
Method of Administration	Single oral administration							
Dose (mg/kg as free base)	1							
Radionuclide	¹⁴ C							
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)							
Sample	Adrenal gland, Arterial walls, Bile, Blood, Bone, Bone marrow, Brain cerebellum, Brain cerebrum, Brain choroid plexus, Brain medulla, Brain olfactory lobe, Bulbo-urethral gland, Cecum, Contents (cecum), Contents (esophageal), Contents (large intestine), Contents (small intestine), Contents (stomach), Diaphragm, Epididymis, Esophagus, Exorbital lacrimal gland, Eye, Eye lens, Eye uveal tract, Fat (abdominal), Fat (brown), Harderian gland, Intra-orbital lacrimal gland, Kidney, Kidney cortex, Small intestine, Spinal cord, Spleen, Stomach, Testis, Thymus, Thyroid, Urinary bladder, Urine, Kidney medulla, Large intestine, Liver, Lung, Lymph nodes, Muscle, Myocardium, Nasal turbinates, Pancreas, Pituitary gland, Preputial gland, Prostate gland, Salivary gland, Seminal vesicle, Skin (nonpigmented), Skin (pigmented)							
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent)							
Assay	QWBA							
Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	336 hr	840 hr
Adrenal gland	113	144	131	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Arterial walls	60.8	63.1	78.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bile	2850	2200	260	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Blood	29.0	27.2	34.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bone	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bone marrow	54.6	70.3	84.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain cerebellum	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain cerebrum	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 13.1 ng/g). N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background or surrounding tissue). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were BLQ (N.D.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D.").								

(続く)

2.6.5.5.4 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pigmented Rats (続き)Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	336 hr	840 hr
Brain choroid plexus	63.8	42.1	29.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain medulla	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain olfactory lobe	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bulbo-urethral gland	67.1	95.7	201	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Cecum	59.1	484	423	84.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Contents (cecum)	43.0	6010	16200	218	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Contents (esophageal)	360	518	83.4	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Contents (large intestine)	BLQ	9630	25900	592	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Contents (small intestine)	60400	26200	2860	59.1	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Contents (stomach)	12700	12700	269	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Diaphragm	50.8	103	107	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Epididymis	18.2	35.5	80.6	16.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Esophagus	497	90.8	322	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Exorbital lacrimal gland	77.8	110	188	16.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Eye	20.3	73.1	93.7	99.1	115	50.2	20.4	BLQ
Eye lens	BLQ	BLQ	BLQ	16.2	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Eye uveal tract ^(a)	102	386	461	346	541	246	115	48.9
Fat (abdominal)	BLQ	30.2	14.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fat (brown)	54.9	50.7	86.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Harderian gland	104	181	177	25.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Intra-orbital lacrimal gland	97.8	127	172	13.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Kidney	123	147	193	25.1	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.
Kidney cortex	129	149	157	24.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 13.1 ng/g).

N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background or surrounding tissue).

When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were BLQ (N.D.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D.").

^(a) The radioactivity in the uveal tract decreased with t_{1/2,z} values of 309 hour.

(続く)

2.6.5.5.4 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pigmented Rats (続き)Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	336 hr	840 hr
Kidney medulla	91.0	156	280	24.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Large intestine	48.5	87.2	161	49.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Liver	859	819	504	77.4	48.4	17.1	BLQ	N.D.
Lung	96.6	143	78.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Lymph nodes	49.8	71.8	83.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Muscle	28.0	33.6	71.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Myocardium	51.1	76.5	167	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Nasal turbinates	24.2	32.3	73.7	14.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Pancreas	69.6	102	158	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Pituitary gland	193	578	188	25.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Preputial gland	50.1	56.3	94.8	N.R.	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Prostate gland	27.7	59.7	51.7	16.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Salivary gland	80.4	206	731	36.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Seminal vesicle	19.3	24.9	35.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Skin (nonpigmented)	21.7	23.6	36.4	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Skin (pigmented)	22.4	27.1	65.6	22.6	16.8	19.5	BLQ	BLQ
Small intestine	475	209	270	14.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Spinal cord	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Spleen	72.8	88.2	81.7	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Stomach	72.4	75.4	122	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Testis	BLQ	23.0	53.8	27.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Thymus	29.0	56.5	116	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Thyroid	66.1	50.2	79.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 13.1 ng/g).

N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background or surrounding tissue).

N.R., Not represented (Tissue not present in section).

When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were BLQ (N.D.), the mean is expressed as "BLQ" ("N.D.").

(続く)

2.6.5.5.4 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pigmented Rats (続き)Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	336 hr	840 hr
Urinary bladder	54.4	94.1	176	16.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Urine	163	1240	1490	209	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background or surrounding tissue). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were N.D., the mean is expressed as "N.D.".								
Study Number	S-297995-PF-213-N (CRO Study No. 8223166)							
Location in CTD	4.2.2.3-04							

2.6.5.5.5 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pigmented RatsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/HsdBlu:LE							
Gender (M/F)/Number of Animals	M/1/Time point							
Feeding Condition	Non-fasted							
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension							
Method of Administration	Single oral administration							
Dose (mg/kg as free base)	1							
Radionuclide	¹⁴ C							
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)							
Sample	Adrenal gland, Arterial walls, Bile, Blood, Bone, Bone marrow, Brain cerebellum, Brain cerebrum, Brain choroid plexus, Brain medulla, Brain olfactory lobe, Bulbo-urethral gland, Cecum, Contents (cecum), Contents (esophageal), Contents (large intestine), Contents (small intestine), Contents (stomach), Diaphragm, Epididymis, Esophagus, Exorbital lacrimal gland, Eye, Eye lens, Eye uveal tract, Fat (abdominal), Fat (brown), Harderian gland, Intra-orbital lacrimal gland, Kidney, Kidney cortex, Kidney medulla, Large intestine, Liver, Lung, Lymph nodes, Muscle, Myocardium, Nasal turbinates, Pancreas, Pituitary gland, Preputial gland, Prostate gland, Salivary gland, Seminal vesicle, Skin (nonpigmented), Skin (pigmented), Small intestine, Spinal cord, Spleen, Stomach, Testis, Thymus, Thyroid, Urinary bladder, Urine							
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent)							
Assay	QWBA							
Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	336 hr	840 hr
Adrenal gland	142	82.7	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Arterial walls	62.0	43.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bile	3810	1690	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Blood	37.6	22.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bone	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 14.0 ng/g). N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background or surrounding tissue). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were BLQ (N.D.), the mean was expressed as "BLQ" ("N.D.").								

(続く)

2.6.5.5.5 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pigmented Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	336 hr	840 hr
Bone marrow	58.2	49.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain cerebellum	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain cerebrum	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain choroid plexus	32.2	91.5	32.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain medulla	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Brain olfactory lobe	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bulbo-urethral gland	74.7	46.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Cecum	52.9	280	38.8	N.R.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Contents (cecum)	64.2	8200	24000	N.R.	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Contents (esophageal)	839	642	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Contents (large intestine)	26.4	2580	37600	2160	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Contents (small intestine)	68400	31300	1110	25.4	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Contents (stomach)	9700	24400	48.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Diaphragm	58.8	48.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Epididymis	27.3	23.9	28.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Esophagus	193	35.7	59.8	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Exorbital lacrimal gland	102	55.4	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Eye	22.8	49.0	106	80.9	47.7	31.2	16.6	BLQ
Eye lens	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Eye uveal tract ^(a)	136	244	571	407	222	148	72.0	59.6
Fat (abdominal)	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fat (brown)	54.2	36.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Harderian gland	136	212	284	42.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Intra-orbital lacrimal gland	95.8	64.0	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 14.0 ng/g).

N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background or surrounding tissue).

N.R., Not represented (Tissue not present in section).

When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were BLQ (N.D.), the mean was expressed as "BLQ" ("N.D.").

^(a) The radioactivity in the uveal tract decreased with $t_{1/2\alpha}$ values of 447 hour.

(続く)

2.6.5.5.5 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pigmented Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	336 hr	840 hr
Kidney	129	102	35.7	19.8	BLQ	14.1	N.D.	N.D.
Kidney cortex	136	105	36.3	22.3	BLQ	15.9	N.D.	N.D.
Kidney medulla	116	92.5	34.9	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.
Large intestine	56.6	101	66.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Liver	976	806	672	116	55.0	BLQ	BLQ	N.D.
Lung	123	106	20.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Lymph nodes	51.9	40.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Muscle	37.3	26.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Myocardium	62.1	37.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Nasal turbinates	BLQ	35.7	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Pancreas	79.9	61.6	19.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Pituitary gland	137	128	139	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Preputial gland	54.5	60.5	22.5	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Prostate gland	38.4	26.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Salivary gland	116	80.1	59.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Seminal vesicle	14.6	22.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Skin (nonpigmented)	21.1	17.5	BLQ	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.
Skin (pigmented)	27.2	26.8	29.1	20.1	15.0	BLQ	N.D.	N.D.
Small intestine	45.1	200	69.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Spinal cord	BLQ	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Spleen	83.4	66.6	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Stomach	77.5	64.3	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Testis	BLQ	14.1	20.4	BLQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Thymus	36.9	32.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Thyroid	63.9	60.5	BLQ	16.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 14.0 ng/g).

N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background or surrounding tissue).

When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were BLQ (N.D.), the mean is expressed as BLQ or N.D., respectively.

(続く)

2.6.5.5.5 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pigmented Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	336 hr	840 hr
Urinary bladder	30.9	172	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Urine	61.8	508	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 14.0 ng/g). N.D., Not detectable (Sample shape not discernible from background or surrounding tissue). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were BLQ (N.D.), the mean is expressed as BLQ or N.D., respectively.								
Study Number	S-297995-PF-213-N (CRO Study No. 8223166)							
Location in CTD	4.2.2.3-04							

2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合及び血球移行

2.6.5.6.1 *In Vitro* Protein Binding of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine TosylateTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Study System	<i>In vitro</i> , sera obtained from male Sprague-Dawley and Wistar rats, male beagle dogs, male Marshall ferrets, and male human volunteers or human serum protein (human serum albumin, α_1 -acid glycoprotein, and 1% γ -globulin) solution		
Radionuclide	¹⁴ C		
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 μ Ci/mg)		
Concentration (μ g/mL as free base)	0.02, 0.2, 2		
Centrifugation	At 2500 rpm for 1 minute (α_1 -acid glycoprotein solution), 3 minutes (albumin solution and γ -globulin solution), 5 minutes (rat sera), 10 minutes (dog and human sera), or 15 minutes (ferret sera) at 37°C		
Sample	Serum, Human serum protein solution, Filtrate		
Analyte	Radioactivity		
Assay	Ultrafiltration Method, LSC		
Protein Binding Ratio in Serum (%)	0.02 μ g/mL	0.2 μ g/mL	2 μ g/mL
Sprague-Dawley rat (Male)	89.2 $\pm$ 1.5	90.4 $\pm$ 0.4	90.5 $\pm$ 0.4
Wistar rat (Male)	88.9 $\pm$ 0.9	90.7 $\pm$ 0.7	91.0 $\pm$ 0.3
Beagle dog (Male)	92.7 $\pm$ 1.2	92.7 $\pm$ 0.6	92.7 $\pm$ 0.9
Marshall ferret (Male)	89.3 $\pm$ 3.9	89.5 $\pm$ 3.1	89.9 $\pm$ 3.5
Human (Male)	93.2 $\pm$ 0.3	94.2 $\pm$ 0.2	94.2 $\pm$ 0.2
Data are expressed as the mean $\pm$ S.D. of 3 individuals.			
Protein Binding Ratio in Human Serum Protein Solution (%)	0.02 μ g/mL	0.2 μ g/mL	2 μ g/mL
4% Albumin	95.3 $\pm$ 0.2	95.9 $\pm$ 0.1	96.0 $\pm$ 0.1
0.08% α_1 -Acid glycoprotein	22.7 $\pm$ 2.6	24.4 $\pm$ 1.1	25.9 $\pm$ 0.4
1% γ -Globulin	19.5 $\pm$ 2.5	17.2 $\pm$ 1.3	18.5 $\pm$ 0.6
Data are expressed as the mean $\pm$ S.D. of triplicate assays.			
Study Number	R-297995-PB-024-N		
Location in CTD	5.3.2.1-01		

2.6.5.6.2 *In Vitro* Distribution of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate to Blood CellsTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Study System	<i>In vitro</i> , blood obtained from male Sprague-Dawley rats, male beagle dogs, and male human volunteers		
Radionuclide	¹⁴ C		
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)		
Concentration (µg/mL as free base)	0.02, 0.2, 2		
Incubation	At 37°C for 15 min		
Sample	Blood, Plasma		
Analyte	Radioactivity		
Assay	LSC		
Plasma/Blood Cell Partitioning in Blood (%)	0.02 µg/mL	0.2 µg/mL	2 µg/mL
Sprague-Dawley rat (Male)	15.5 ± 1.8	13.9 ± 2.0	14.3 ± 1.8
Beagle dog (Male)	20.3 ± 5.6	16.2 ± 1.6	18.0 ± 1.1
Human (Male)	13.5 ± 4.0	16.3 ± 1.2	16.0 ± 1.5
Data are expressed as the mean ± S.D. of 3 individuals.			
Study Number	R-297995-PB-023-N		
Location in CTD	5.3.2.1-02		

2.6.5.6.3 Distribution to Blood Cells after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate or [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats

Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)	
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4/Time point	
Feeding Condition	Non-fasted	
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension	
Method of Administration	Single oral administration	
Dose (mg/kg as free base)	1	
Radionuclide	¹⁴ C	
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg) for [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate, 2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg) for [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	
Sample	Blood, Plasma	
Analyte	Radioactivity	
Assay	LSC	
Distribution of Radioactivity to Blood Cells (%)	[Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	[Carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate
15 min	20.1 ± 3.3	13.9 ± 4.7
30 min	19.8 ± 7.7	15.0 ± 1.2
1 hr	20.3 ± 2.2	16.1 ± 1.5
2 hr	22.9 ± 6.6	18.3 ± 4.3
4 hr	29.7 ± 6.2	22.2 ± 1.5
8 hr	49.6 ± 3.0	27.5 ± 5.5
12 hr	53.2 ± 1.7	30.4 ± 10.6
24 hr	55.5 ± 8.0	34.8 ± 7.7
48 hr	Not calculated	Not calculated
Data are expressed as the mean ± S.D.		
Study Number	R-297995-PB-059-N	R-297995-PB-097-N
Location in CTD	4.2.2.2-01	4.2.2.2-02

2.6.5.6.4 Distribution to blood Cells after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate or [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Dogs

Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Dog/TOYO Beagle	
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4	
Feeding Condition	Non-fasted	
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension	
Method of Administration	Single oral administration	
Dose (mg/kg as free base)	1	
Radionuclide	¹⁴ C	
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg) for [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate, 2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg) for [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	
Sample	Blood, Plasma	
Analyte	Radioactivity	
Assay	LSC	
Distribution of Radioactivity to Blood Cells (%)	[Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	[Carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate
15 min	8.4 ± 2.1	6.9 ± 2.9
30 min	12.9 ± 6.4	8.0 ± 2.4
1 hr	11.4 ± 3.7	7.6 ± 1.5
2 hr	13.5 ± 1.3	10.8 ± 1.8
4 hr	15.9 ± 3.1	15.7 ± 5.3
6 hr	21.2 ± 5.3	21.5 ± 7.1
8 hr	28.7 ± 5.5	25.4 ± 6.7
10 hr	32.7 ± 4.3	26.2 ± 9.7
12 hr	33.9 ± 3.7	28.9 ± 9.5
24 hr	36.9 ± 2.3	32.1 ± 10.3
48 hr	25.6 ± 4.0	30.3 ± 15.3
Data are expressed as the mean ± S.D.		
Study Number	R-297995-PB-068-N	S-297995-PB-177-N
Location in CTD	4.2.2.2-09	4.2.2.2-10

2.6.5.7 薬物動態試験： 妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.7.1 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pregnant RatsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)				
Gender (M/F)/Number of Animals	F/1/Time point				
Gestation Day	Day 18 of gestation				
Feeding Condition	Non-fasted				
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension				
Method of Administration	Single oral administration				
Dose (mg/kg as free base)	1				
Radionuclide	¹⁴ C				
Specific Activity	1.41 MBq/mg (38.1 µCi/mg)				
Sample	Aorta, Plasma, Whole blood, Whole blood (cardiac), Vena cava, Cerebellum, Cerebrum, Choroid plexus, Meninges, Pineal body, Spinal cord, Eye (lens), Uveal tract/retina, Kidney cortex, Kidney medulla, Liver, Lung, Myocardium, Spleen, Adrenal gland, Exorbital lacrimal gland, Harderian gland, Intra-orbital lacrimal gland, Mandibular lymph nodes, Mesenteric lymph nodes, Mucous gland, Nasal mucosa, Pancreas, Pituitary, Parotid salivary gland, Salivary gland, Thymus, Thyroid, Clitoral gland, Mammary gland, Ovary, Uterus wall, Bone marrow, Bone surface, Fat (abdominal), Fat (brown), Muscle (skeletal), Skin, Tongue, Trachea, Stomach wall, Small intestine wall, Caecum wall, Large intestine wall, Urinary bladder wall, Amnion membrane, Foetus (whole), Foetal blood, Foetal brain, Foetal kidney, Foetal liver, Foetal lung, Placenta				
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent)				
Assay	LSC for plasma and whole blood, QWBA for other tissues				
Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr
Aorta	0.073	0.061	0.034	BLQ	BLQ
Plasma ^(a)	0.082	0.076	0.020	BLQ	BLQ
Whole blood ^(b)	0.056	0.055	0.015	BLQ	BLQ
BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 0.007 µg/g). ^(a) Determined by LSC. ^(b) Determined by sample oxidation and LSC. When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ and N.D. were treated as zero. When the data on all sections were BLQ "N.D.", the mean is expressed as "BLQ" ("N.D.").					

(続く)

2.6.5.7.1 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pregnant Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr
Whole blood (cardiac)	0.070	0.052	0.018	0.009	BLQ
Vena cava	0.062	0.045	BLQ	BLQ	BLQ
Cerebellum	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Cerebrum	BLQ	0.007	BLQ	BLQ	BLQ
Choroid plexus	0.190	0.230	0.059	BLQ	BLQ
Meninges	0.131	0.120	0.044	BLQ	BLQ
Pineal body	0.208	0.114	0.041	BLQ	BLQ
Spinal cord	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Eye (lens)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Uveal tract/retina	0.061	0.085	0.056	0.008	BLQ
Kidney cortex	0.278	0.239	0.080	0.018	0.029
Kidney medulla	0.167	0.167	0.038	0.028	0.012
Liver	1.15	1.37	0.523	0.095	0.048
Lung	0.146	0.190	0.082	0.008	BLQ
Myocardium	0.114	0.098	0.026	BLQ	BLQ
Spleen	0.192	0.215	0.082	0.011	BLQ
Adrenal gland	0.226	0.179	0.042	0.018	BLQ
Exorbital lacrimal gland	0.191	0.214	0.130	0.012	BLQ
Harderian gland	0.230	0.573	0.671	BLQ	BLQ
Intra-orbital lacrimal gland	0.224	0.225	0.141	BLQ	BLQ
Mandibular lymph nodes	0.110	0.087	0.040	BLQ	BLQ
Mesenteric lymph nodes	0.136	0.115	0.062	BLQ	BLQ
Mucous gland	0.113	0.124	0.045	0.010	BLQ
Nasal mucosa	0.011	0.020	0.029	0.012	BLQ
Pancreas	0.148	0.152	0.045	BLQ	BLQ

BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 0.007 µg/g).

When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ was treated as zero.

When the data on all sections were BLQ, the mean is expressed as "BLQ".

(続く)

2.6.5.7.1 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pregnant Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr
Pituitary	0.234	0.337	0.101	BLQ	BLQ
Parotid salivary gland	0.094	0.134	0.037	BLQ	BLQ
Salivary gland	0.217	0.297	0.109	BLQ	BLQ
Thymus	0.079	0.099	0.053	BLQ	BLQ
Thyroid	0.118	0.141	0.050	BLQ	BLQ
Clitoral gland	0.040	0.168	0.195	BLQ	BLQ
Mammary gland	0.083	0.080	0.045	BLQ	BLQ
Ovary	0.048	0.057	0.023	0.007	BLQ
Uterus wall	0.107	0.053	0.040	BLQ	BLQ
Bone marrow	0.109	0.101	0.034	BLQ	BLQ
Bone surface ^(a)	0.018	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Fat (abdominal) ^(a)	0.025	0.058	0.022	BLQ	BLQ
Fat (brown)	0.074	0.066	0.022	BLQ	BLQ
Muscle (skeletal)	0.038	0.053	0.016	BLQ	BLQ
Skin	0.018	0.030	0.025	BLQ	BLQ
Tongue	0.077	0.082	0.024	BLQ	BLQ
Trachea	0.032	0.049	0.024	BLQ	BLQ
Stomach wall	0.098	0.256	0.057	BLQ	BLQ
Small intestine wall	1.16	0.241	0.099	0.041	BLQ
Caecum wall	0.074	0.342	0.251	0.056	BLQ
Large intestine wall	0.167	0.553	0.403	0.259	0.137
Urinary bladder wall	0.045	0.051	0.342	BLQ	BLQ
Amnion membrane	0.105	0.697	0.291	0.060	0.026
Foetus (whole)	0.007	0.014	0.011	BLQ	BLQ

BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 0.007 µg/g).

^(a) Tissue corrected for quenching

When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ was treated as zero.

When the data on all sections were BLQ, the mean is expressed as "BLQ".

(続く)

2.6.5.7.1 Tissue Distribution after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Pregnant Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g)	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr
Foetal blood	0.014	0.011	BLQ	BLQ	BLQ
Foetal brain	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Foetal kidney	0.016	0.011	BLQ	BLQ	BLQ
Foetal liver	0.014	0.017	0.013	BLQ	BLQ
Foetal lung	0.007	0.017	0.015	BLQ	BLQ
Placenta	0.073	0.067	0.028	BLQ	BLQ
BLQ, Below lower limit of quantification (< approximately 0.007 µg/g). When quantitative data for 1 tissue were obtained from multiple sections, data are expressed as the mean value of each data. In the calculation of mean, BLQ was treated as zero. When the data on all sections were BLQ, the mean is expressed as "BLQ".					
Study Number	S-297995-PF-238-N (CRO Study No. ■■■0025)				
Location in CTD	4.2.2.3-05				

2.6.5.7.2 Excretion into Milk after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Nursing RatsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)				
Gender (M/F)/Number of Animals	F/3/Time point				
Feeding Condition	Non-fasted				
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension				
Method of Administration	Single oral administration				
Dose (mg/kg as free base)	1				
Radionuclide	¹⁴ C				
Specific Activity	1.41 MBq/mg (38.1 µCi/mg)				
Sample	Milk, Plasma				
Analyte	Radioactivity (naldemedine equivalent)				
Assay	LSC				
Radioactivity Concentration in Tissue (ng/g) or Ratio	1 hr	2 hr	4 hr	8 hr	24 hr
Milk Concentration	74.6 ± 20.7	68.9 ± 16.3	35.0 ± 8.9	8.65 ± 2.74	BLQ
Plasma Concentration	115 ± 26	68.0 ± 11.1	33.1 ± 11.6	7.71 ± 1.70	BLQ
Milk/plasma Ratio	0.64 ± 0.06	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	N.C.
BLQ, Below lower limit of quantification (milk, < 3.08 to 7.16 ng/g; plasma, < 1.59 to 1.71 ng/g). N.C., Not calculated. Data are expressed as the mean ± S.D.					
Study Number	S-297995-PF-239-N (CRO Study No. ■■■■0026)				
Location in CTD	4.2.2.5-05				

2.6.5.8 薬物動態試験： その他の分布試験

該当する試験なし.

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：In Vivo

2.6.5.9.1 Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in MiceTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Mouse/Crlj:CD1(ICR)							
Gender (M/F)/Number of Animals	M/15/Time point							
Feeding Condition	Non-fasted							
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension							
Method of Administration	Single oral administration							
Dose (mg/kg as free base)	5							
Radionuclide	¹⁴ C							
Specific Activity	1.41 MBq/mg (38.1 µCi/mg)							
Sample	Plasma 0.5 or 2 hours post-dose							
Analyte	Naldemedine, Naldemedine 3-G, Nor-naldemedine, Naldemedine 6-G, Naldemedine-CA, Benzamidine, Naldemedine (7S)-7-hydroxide, Other metabolites							
Assay	High performance liquid chromatography with radiodetector (Radio-HPLC), LC/MS/MS							
Identification or Estimation	LC/MS/MS							
Peak Area Ratio (%) on Radio-HPLC Chromatogram	Naldemedine	Naldemedine 3-G	Nor-naldemedine	Naldemedine 6-G	Naldemedine -CA	Benzamidine	Naldemedine (7S)-7-hydroxide	Other metabolites
0.5-hr plasma	70	Trace level ^(a)	6	Trace level ^(a)	Trace level ^(a)	Not measured	Trace level ^(a)	6 ^(b)
2-hr plasma	45	Not measured	9	Not measured	Not measured	Trace level ^(a)	Not measured	17 ^(b)
^(a) Detected only in LC/MS/MS analysis.								
^(b) A metabolite estimated as a glucuronide of nor-naldemedine was detected.								
Study Number	S-297995-PB-241-N							
Location in CTD	4.2.2.4-02							

2.6.5.9.2 Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RatsTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)					
Gender (M/F)/Number of Animals	M/2 intact rats/Time point (For plasma collection 1 or 4 hours post-dose), M/3 intact rats (For urine and feces collection at 1 mg/kg), M/2 bile duct-cannulated rats (For urine, bile and feces collection at 1 mg/kg)					
Feeding Condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension					
Method of Administration	Single oral administration					
Dose (mg/kg as free base)	5 (For plasma collection), 1 (For urine and feces collection or urine, bile, and feces collection)					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)					
Sample	Plasma collected 1 or 4 hours post-dose, Bile collected from 0 to 6 hours post-dose, Urine collected from 0 to 6 hours post-dose, Feces collected from 0 to 24 hours post-dose					
Analyte	Naldemedine, Naldemedine 3-G, Nor-naldemedine, Naldemedine 6-G, Benzamidine, Other metabolites					
Assay	Radio-HPLC					
Identification or Estimation	LC/MS/MS					
Peak Area Ratio (%) on Radio-HPLC Chromatogram	Naldemedine	Naldemedine 3-G	Nor-naldemedine	Naldemedine 6-G	Benzamidine	Other metabolites
1-hr plasma	59	13	4	Not detected	Not detected	Not detected
4-hr plasma	22	5	3	Not detected	47	Not detected
Bile (collected from 0 to 6 hours post-dose)	49.3	39	8	1	Not detected	Not detected
Urine (collected from 0 to 6 hours post-dose)	6	Not detected	Not detected	Not detected	56	Not detected
Feces (collected from 0 to 24 hours post-dose)	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	58	Not detected
Study Number	R-297995-PB-060-N					
Location in CTD	4.2.2.4-03					

2.6.5.9.3 Metabolite Profiling of Naldemedine after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RatsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)					
Gender (M/F)/Number of Animals	M/2 intact rats/Time point (For plasma collection 1, 4, 6, or 8 hours post-dose), M/2 intact rats (For urine and feces collection), M/2 bile duct-cannulated rats (For urine, bile and feces collection)					
Feeding Condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension					
Method of Administration	Single oral administration					
Dose (mg/kg as free base)	5 (For plasma collection), 1 (For urine and feces collection or urine, bile, and feces collection)					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg)					
Sample	Plasma collected 1, 4, 6, or 8 hours post-dose, Bile collected from 0 to 6 hours post-dose, Urine collected from 0 to 6 hours post-dose, Feces collected from 0 to 24 hours post-dose					
Analyte	Naldemedine, Naldemedine 3-G, Nor-naldemedine, Naldemedine 6-G, Naldemedine-CA, Other metabolites					
Assay	Radio-HPLC					
Identification or Estimation	LC/MS/MS					
Peak Area Ratio (%) on Radio-HPLC Chromatogram	Naldemedine	Naldemedine 3-G	Nor-naldemedine	Naldemedine 6-G	Naldemedine-CA	Other metabolites
1-hr plasma	61	8	6	Not detected	Not detected	Not detected
4-hr plasma	69	3	2	Not detected	2 ^(a)	Not detected
Bile (collected from 0 to 6 hours post-dose)	Not detected	58	15	1	Not detected	Not detected
Urine (collected from 0 to 6 hours post-dose)	50	10 ^(a)	4 ^(a)	3 ^(a)	Not detected	Not detected
Feces (collected from 0 to 24 hours post-dose)	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	36 ^(a)	Several prominent peaks ^(b)
^(a) Not identified.						
^(b) Several metabolites estimated to be produced by eliminating benzamidine from naldemedine or biliary metabolites were detected.						
Study Number	R-297995-PB-099-N					
Location in CTD	4.2.2.4-04					

2.6.5.9.4 Metabolite Profiling of Naldemedine after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RabbitsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rabbit/Kbl:JW					
Gender (M/F)/Number of Animals	F/1					
Feeding Condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension					
Method of Administration	Single oral administration					
Dose (mg/kg as free base)	5					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	1.41 MBq/mg (38.1 µCi/mg)					
Sample	Plasma 0.5 or 2 hours post-dose					
Analyte	Naldemedine, Naldemedine 3-G, Nor-naldemedine, Naldemedine 6-G, Benzamidine, Other metabolites					
Assay	Radio-HPLC, LC/MS/MS					
Identification or Estimation	LC/MS/MS					
Peak Area Ratio (%) on Radio-HPLC Chromatogram	Naldemedine	Naldemedine 3-G	Nor-naldemedine	Naldemedine 6-G	Benzamidine	Other metabolites
0.5-hr plasma	NA	62	NA	NA	NA	4 ^(b)
2-hr plasma	Trace level ^a	70	Trace level ^(a)	Trace level ^(a)	Trace level ^(a)	5 ^(b)
NA, not applicable. ^(a) Detected only in LC/MS/MS analysis. ^(b) A metabolite estimated as a glucuronide of nor-naldemedine was detected.						
Study Number	S-297995-PB-240-N					
Location in CTD	4.2.2.4-05					

2.6.5.9.5 Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in DogsTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Dog/TOYO Beagle					
Gender (M/F)/Number of Animals	M/1					
Feeding Condition	Fasted					
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution / suspension					
Method of Administration	Single oral administration					
Dose (mg/kg as free base)	1					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)					
Sample	Plasma collected 1, 4, or 8 hours post-dose, Bile collected from 0 to 24 hours post-dose ^(a) , Urine collected from 0 to 24 hours post-dose ^(a) , Feces collected from 0 to 24 hours post-dose ^(a)					
Analyte	Naldemedine, Naldemedine 3-G, Nor-naldemedine, Naldemedine 6-G, Benzamidine, Other metabolites					
Assay	Radio-HPLC					
Identification or Estimation	LC/MS/MS					
Peak Area Ratio (%) on Radio-HPLC Chromatogram	Naldemedine	Naldemedine 3-G	Nor-naldemedine	Naldemedine 6-G	Benzamidine	Other metabolites
1-hr plasma	65	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	Trace level
4-hr plasma	27	Not detected	Not detected	Not detected	11	Not detected
8-hr plasma	5	Not detected	Not detected	Not detected	34	Not detected
Bile (collected from 0 to 24 hours post-dose)	4	11	8	4	Not detected	≤ 5% ^(b)
Urine (collected from 0 to 24 hours post-dose)	3	Not detected	Not detected	Not detected	60	Trace level
Feces (collected from 0 to 24 hours post-dose)	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	46	≤ 6% ^(c)
^(a) Samples were diverted from another study [Report R-297995-PB-068-N in module 4.2.2.2].						
^(b) Several metabolites estimated as metabolite having an oxadiazole cleavage structure with morphinan moiety, its glucuronic acid conjugate, oxidized metabolites, and their glucuronic acid conjugate were detected.						
^(c) Related metabolites of benzamidine were detected.						
Study Number	R-297995-PB-061-N					
Location in CTD	4.2.2.4-06					

2.6.5.9.6 Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in DogsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Dog/TOYO Beagle
Gender (M/F)/Number of Animals	M/1
Feeding Condition	Non-fasted
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension
Method of Administration	Single oral administration
Dose (mg/kg as free base)	5
Radionuclide	¹⁴ C
Specific Activity	2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg)
Sample	Plasma collected 1, 4, or 8 hours post-dose, Bile collected from 0 to 6 hours or from 6 to 24 hours post-dose ^(a) , Urine collected from 0 to 6 hours or from 6 to 24 hours post-dose, Feces collected from 0 to 24 hours post-dose
Analyte	Naldemedine, Naldemedine 3-G, Nor-naldemedine, Naldemedine 6-G, Other metabolites
Assay	Radio-HPLC
Identification or Estimation	LC/MS/MS
^(a) Samples were diverted from another study [Report S-297995-PB-177-N in module 4.2.2.4].	

(続く)

2.6.5.9.6 Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Dogs (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Peak Area Ratio (%) on Radio-HPLC Chromatogram	Naldemedine	Naldemedine 3-G	Naldemedine 6-G	Nor-naldemedine	Other metabolites
1-hr plasma	77	Not detected	Not detected	3 ^(b)	Not detected
4-hr plasma	68	Not detected	Not detected	4 ^(b)	2 metabolites (≤ 4 each)
8-hr plasma	66	Not detected	Not detected	4 ^(b)	2 metabolites (≤ 4 each)
Bile (collected from 0 to 6 hours post-dose)	2	9	Peak ^(a)	8	20 prominent metabolites (≤ 9 each) ^(c)
Urine (collected from 6 to 24 hours post-dose)	14	< 5	Not detected	< 5	11 metabolites (< 7 each)
Feces (collected from 0 to 24 hours post-dose)	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	15 metabolites ^(d) (≤ 17 each)
^(a) Detected as a mixture of naldemedine 6-G and the oxidative metabolite. ^(b) Detected as a mixture of nor-naldemedine and an oxidative metabolite. ^(c) Detected as the metabolites speculated to be oxidative metabolites, its glucuronides, a metabolite which has a morphinan structure and was speculated to be <i>N-O</i> bond cleavage structure, and metabolites subsequently oxidized and/or conjugated with glucuronic acid. ^(d) Detected as the metabolites speculated to be naldemedine-carboxylic acid, and the metabolites which might be produced by eliminating benzamidine from biliary metabolites (nor-naldemedine and the metabolites speculated to be oxidative metabolites).					
Study Number	S-297995-PB-136-N				
Location in CTD	4.2.2.4-07				

2.6.5.9.7 Metabolite profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in FerretsTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Ferret/Marshall					
Gender (M/F)/Number of Animals	M/1/Time point					
Feeding Condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension					
Method of Administration	Single oral administration					
Dose (mg/kg as free base)	1					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)					
Sample	Plasma collected 1 or 4 hours post-dose					
Analyte	Naldemedine, Naldemedine 3-G, Nor-naldemedine, Naldemedine 6-G, Benzamidine, Other metabolites					
Assay	Radio-HPLC					
Identification or Estimation	LC/MS/MS					
Peak Area Ratio (%) on Radio-HPLC Chromatogram	Naldemedine	Naldemedine 3-G	Nor-naldemedine	Naldemedine 6-G	Benzamidine	Other metabolites
1-hr plasma	72	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected
4-hr plasma	34	Not detected	Not detected	Not detected	34	Not detected
Study Number	R-297995-PB-062-N					
Location in CTD	4.2.2.4-08					

2.6.5.9.8 Metabolite Profiling of Naldemedine Tosylate after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in FerretsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Ferret/Marshall					
Gender (M/F)/Number of Animals	M/1/Time point					
Feeding Condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension					
Method of Administration	Single oral administration					
Dose (mg/kg as free base)	5					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg)					
Sample	Plasma collected 1 or 4 hours post-dose					
Analyte	Naldemedine, Naldemedine 3-G, Nor-naldemedine, Naldemedine 6-G, Benzamidine, Other metabolites					
Assay	Radio-HPLC, LC/MS/MS					
Identification or Estimation	LC/MS/MS					
Peak Area Ratio (%) on Radio-HPLC Chromatogram	Naldemedine	Naldemedine 3-G	Nor-naldemedine	Naldemedine 6-G	Benzamidine	Other metabolites
1-hr plasma	81	5	Trace level ^(a)	Trace level ^(a)	Not detected	2 ^(b)
4-hr plasma	86	2	Not detected	Not detected	Trace level ^(a)	2 ^(b)
^(a) Peaks which were detected only in LC/MS/MS analysis.						
^(b) A metabolite which molecular weight is 16 dalton larger than naldemedine was detected.						
Study Number	S-297995-PB-156-N					
Location in CTD	4.2.2.4-09					

2.6.5.9.9 Preliminary Measurement of Naldemedine-(7*R*)-7-Hydroxide in Rat or Dog Plasma after Repeated Administrations of Naldemedine Tosylate

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/ Strain	Gender (M/F)/ Number of Animals	Feeding Condition	Vehicle/ Formulation	Method of Administration/ Dose (mg/kg as free base)	Sample/ Analyte/Assay	Noteworthy Findings
Rat/Crl: CD(SD)	M and F/ 4/Group	Non-fasted	0.5 w/v% methyl-cellu lose aqueous solution/ suspension	Repeated oral administrations, once daily for 14 days/30, 100	Plasma/ Naldemedine-(7 <i>R</i>)-7-hydroxi de/ LC/MS/MS	Plasma samples (Pre-dose [only on Day 14] and 0.5, 1, 2, 4, 8, and 24 hours post-dose on Days 1 and 14) were measured. Naldemedine-(7 <i>R</i>)-7-hydroxide was measurable in almost (159/160) of plasma 0.5-, 1-, 2-, 4-, and 8-hour post-dose (from 0.0769 to 35.6 ng/mL) and in some (7/32) of pre-dose samples and plasma 24-hour post-dose after 14th administration (from 0.0420 to 0.200 ng/mL). Naldemedine-(7 <i>R</i>)-7-hydroxide in plasma 24-hour post-dose after 1st administration was below lower limit of quantification (< 0.04 ng/mL).
Dog/ Beagle	M and F/ 4/Group	Non-fasted	0.5 w/v% methyl-cellu lose aqueous solution/ suspension	Repeated oral administrations, once daily for 9 months/20	Plasma/ Naldemedine-(7 <i>R</i>)-7-hydroxi de/ LC/MS/MS	Plasma samples (Pre-dose and 0.25, 0.5, 1, 2, 7, and 24 hours post-dose on Day 273), which were diverted from another study [Report S-297995-TF-219-L in module 4.2.3.2], were measured. Naldemedine-(7 <i>R</i>)-7-hydroxide was measurable in all of plasma after 273rd administration (from 0.123 to 99.4 ng/mL).
Study Number		S-297995-TB-282-R				
Location in CTD		4.2.2.4-10				

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：In Vitro

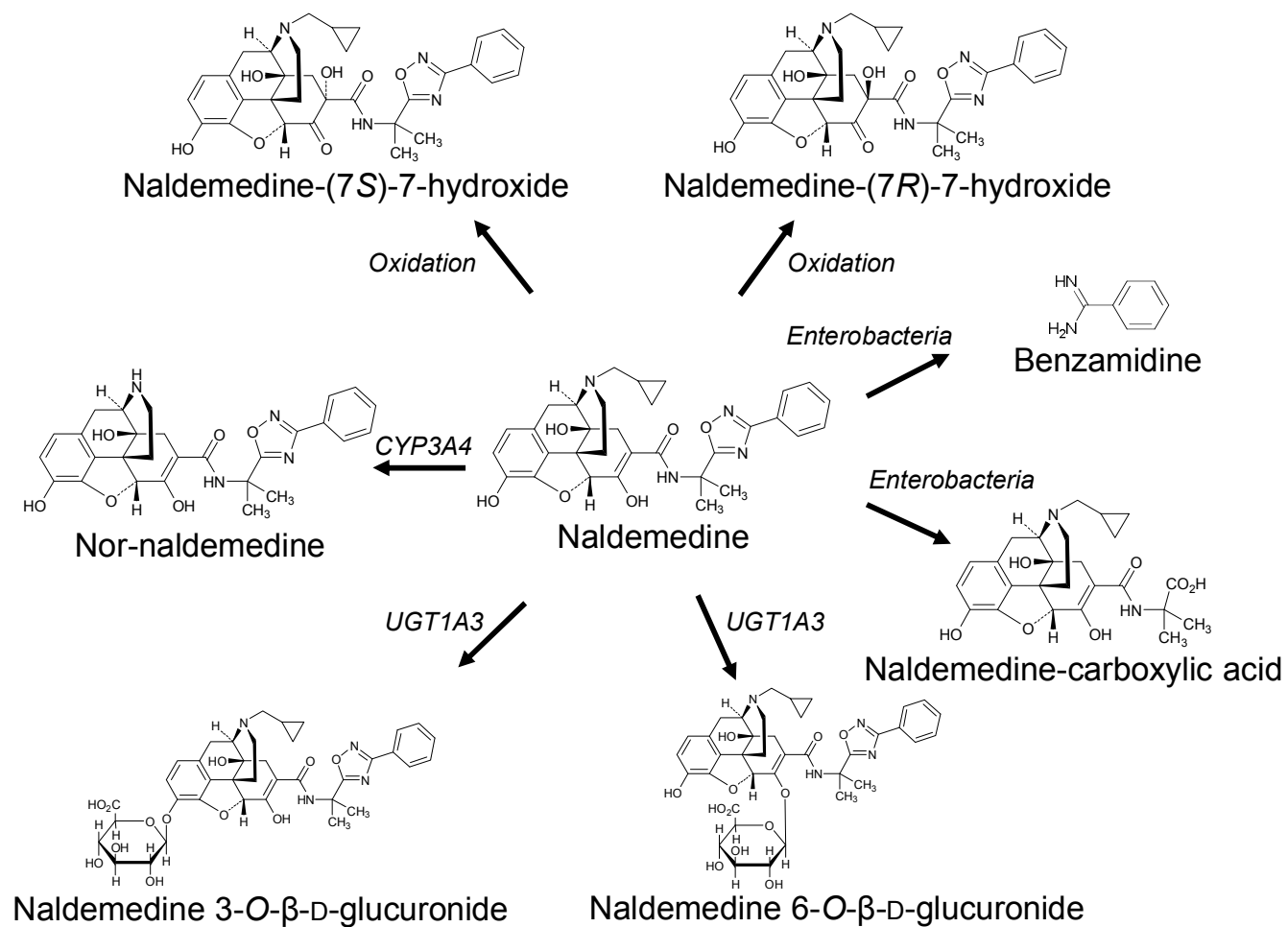
2.6.5.10.1 In Vitro Metabolism of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate with Human HepatocyteTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Study System	Cryopreserved human hepatocytes				
Batch	2 (Lot No. 670 and Lot No. 729)				
Incubation	At 37°C for 0 or 4 hours				
Concentration	5 or 50 µmol/L				
Radionuclide	¹⁴ C				
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)				
Sample	Reaction mixture after 4-hour incubation of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate with human hepatocyte				
Analyte	Naldemedine, Naldemedine 3-G, Nor-naldemedine, Naldemedine 6-G, Benzamidine, Other metabolites				
Assay	Radio-HPLC				
Identification or Estimation	LC/MS/MS				
Peak Area Ratio (%) on Radio-HPLC Chromatogram	Naldemedine	Naldemedine 3-G	Nor-naldemedine	Naldemedine 6-G	Other metabolites
4-hr incubation at 50 µmol/L	66 – 71	3	6 – 7	3	< 2 in each ^(a)
Benzamidine was not produced in human hepatocytes. ^(a) Three metabolites which molecular weight are 16 dalton larger, 2 metabolites which molecular weight are 2 dalton smaller, and 1 metabolite which molecular weight is 192 dalton larger, than naldemedine were detected.					
Study Number	R-297995-PB-063-N				
Location in CTD	5.3.2.2-01				

2.6.5.10.2 *In Vitro* Identification of Responsible Enzymes for Naldemedine Tosylate MetabolismTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Study System	Human liver microsomes (a pool of 50 individual), Recombinant CYP enzymes, Recombinant UGT enzymes									
Concentration (μmol/L)	50									
Recombinant Enzymes	CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4, UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B4, UGT2B7, UGT2B15 UGT2B17									
CYP Inhibitors	Furafylline (CYP1A2 inhibitor), Anti-CYP2A6 monoclonal antibody, ThioTEPA (CYP2B6 inhibitor), Trimethoprim (CYP2C8 inhibitor), Sulphaphenazole (CYP2C9 inhibitor), Benzylrivanol (CYP2C19 inhibitor), Quinidine (CYP2D6 inhibitor), Anti-CYP2E1 monoclonal antibody, Ketoconazole (CYP3A4 inhibitor)									
Radionuclide	¹⁴ C									
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 μCi/mg)									
Sample	Reaction mixture after incubation of [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate with recombinant enzymes or human liver microsomes									
Analyte	Naldemedine, Nor-naldemedine, Naldemedine 3-G, Naldemedine 6-G									
Assay	Radio-HPLC									
CYP Enzymes	Control	CYP1A2	CYP2A6	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP2E1	CYP3A4
Extent of Nor-naldemedine Formation (% of Compound in Sample)	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	0.44	NQ	NQ	4.05
Effects of CYP inhibitors on Nor-naldemedine Formation (% Inhibition from Control)		9.46	7.97	16.2	8.55	15.0	11.9	12.4	1.38	84.3
UGT Enzymes	Control	UGT1A1	UGT1A3	UGT1A4	UGT1A6	UGT1A9	UGT2B4	UGT2B7	UGT2B15	UGT2B17
Extent of Naldemedine 3-G Formation (% of Compound in Sample)	NQ	NQ	18.1	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Extent of Naldemedine 6-G Formation (% of Compound in Sample)	NQ	NQ	2.23	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
NQ, Not quantifiable. Data are expressed as the mean of triplicate assays.										
Study Number	S-297995-PF-200-N (CRO Study No. 8221179)									
Location in CTD	4.2.2.4-01									

2.6.5.11 薬物動態試験： 推定代謝経路



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 *In Vitro* Inhibitory Effects of Naldemedine Tosylate on Human CYP Enzymes

Test Article: Naldemedine Tosylate

Study System	Human liver microsomes (a pool of 16 individual)			
Concentration (μmol/L)	0 (control), 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 20			
Substrates (Concentration)	Phenacetin (40 μmol/L) for CYP1A2, Coumarin (0.75 μmol/L) for CYP2A6, Bupropion (50 μmol/L) for CYP2B6, Paclitaxel (10 μmol/L) for CYP2C8, Diclofenac (6 μmol/L) for CYP2C9, <i>S</i> -Mephenytoin (40 μmol/L) for CYP2C19, Dextromethorphan (7.5 μmol/L) for CYP2D6, Chlorzoxazone (30 μmol/L) for CYP2E1, Testosterone (100 μmol/L) for CYP3A4/5, Midazolam (4 μmol/L) for CYP3A4/5, Nifedipine (10 μmol/L) for CYP3A4/5, Atorvastatin (70 μmol/L) for CYP3A4/5, Lauric acid (2 μmol/L) for CYP4A11			
Sample	Reaction mixture after incubation of substrate with human liver microsomes in the presence of naldemedine tosylate			
Analyte	Acetaminophen, 7-Hydroxycoumarin, Hydroxybupropion, 6α-Hydroxypaclitaxel, 4'-Hydroxydiclofenac, 4'-Hydroxymephenytoin, Dextrophan, 6-Hydroxychlorzoxazone, 6β-Hydroxytestosterone, 1'-Hydroxymidazolam, Oxidized nifedipine, <i>O</i> -Hydroxyatorvastatin, 12-Hydroxylauric acid			
Assay	LC/MS/MS			
CYP Enzyme	Direct inhibition (0 min)		Time-dependent inhibition (30 min)	
	Maximum inhibition at 20 μmol/L (%)	Estimated 50% inhibitory concentration (μmol/L)	Maximum inhibition at 20 μmol/L (%)	Potential for time-dependent inhibition
CYP1A2	NA	> 20	8.0	Little or no
CYP2A6	NA	> 20	NA	Little or no
CYP2B6	NA	> 20	NA	Little or no
CYP2C8	0.1	> 20	5.4	Little or no
CYP2C9	11	> 20	8.2	Little or no
CYP2C19	1.3	> 20	NA	Little or no
CYP2D6	NA	> 20	NA	Little or no
CYP2E1	NA	> 20	NA	Little or no
CYP3A4/5 (Testosterone)	NA	> 20	13	Little or no
CYP3A4/5 (Midazolam)	0.8	> 20	15	Little or no
CYP3A4/5 (Nifedipine)	NA	> 20	16	Little or no
CYP3A4/5 (Atorvastatin)	NA	> 20	NA	Little or no
CYP4A11	NA	> 20	NA	Little or no
NA, Not applicable.				
Study Number	R-297995-PF-064-N (CRO Study No. ■■■085020)			
Location in CTD	5.3.2.2-02			

2.6.5.12.2 *In Vitro* Inhibitory Effects of Nor-Naldemedine on Human CYP Enzymes

Test Article: Nor-naldemedine

Study System	Human liver microsomes (a pool of 15 individual)			
Concentration (nmol/L)	0 (control), 1, 20			
Substrates (Concentration)	Phenacetin (50 µmol/L) for CYP1A2, Bupropion (100 µmol/L) for CYP2B6, Paclitaxel (15 µmol/L) for CYP2C8, Tolbutamide (100 µmol/L) for CYP2C9, <i>S</i> -Mephenytoin (40 µmol/L) for CYP2C19, Dextromethorphan (5 µmol/L) for CYP2D6, Testosterone (50 µmol/L) for CYP3A4/5, Midazolam (2.5 µmol/L) for CYP3A4/5			
Sample	Reaction mixture after incubation of substrate with human liver microsomes in the presence of nor-naldemedine			
Analyte	Acetaminophen, Hydroxybupropion, 6 α -Hydroxypaclitaxel, 4-Hydroxytolbutamide, 4-Hydroxymephenytoin, Dextrophan, 6 β -Hydroxytestosterone, 1-Hydroxymidazolam			
Assay	LC/MS/MS			
CYP Enzyme	Direct inhibition (0 min)		Time-dependent inhibition (30 min)	
	Maximum inhibition at 20 nmol/L (%)	Estimated 50% inhibitory concentration (nmol/L)	Maximum inhibition at 20 nmol/L (%)	Potential for time-dependent inhibition
CYP1A2	0.8	> 20	3.7	Little or no
CYP2B6	4.3	> 20	NA	Little or no
CYP2C8	NA	> 20	1.8	Little or no
CYP2C9	NA	> 20	1.9	Little or no
CYP2C19	NA	> 20	3.1	Little or no
CYP2D6	2.1	> 20	NA	Little or no
CYP3A4/5 (Testosterone)	NA	> 20	0.0	Little or no
CYP3A4/5 (Midazolam)	6.3	> 20	9.4	Little or no
NA, Not applicable.				
Study Number	S-297995-PB-338-N			
Location in CTD	5.3.2.2-03			

2.6.5.12.3 *In Vitro* CYP1A2, CYP3A4, UGT1A2, UGT1A6, and UGT2B7 Induction by Naldemedine Tosylate in Human Hepatocytes

Test Article: Naldemedine Tosylate

Study System	Primary cultures of fresh human hepatocytes (3 Donors [1 male and 2 females])											
Exposure	48 hours											
Concentration (μmol/L)	1, 3, 10											
Positive controls (Concentration)	Omeprazole (30 μmol/L) for prototypical inducer of CYP1A2, Rifampicin (50 μmol/L) for prototypical inducer of CYP3A4 and putative inducer of UGT enzymes											
Substrates (Concentration)	Phenacetin (150 μmol/L) for CYP1A2, Testosterone (250 μmol/L) for CYP3A4, Estradiol (30 μmol/L) for UGT1A2, Acetaminophen (2.5 mmol/L) for UGT1A6, Morphine (2 mmol/L) for UGT2B7											
Sample	Reaction mixture after incubation of substrate with human hepatocytes which were exposed with naldemedine tosylate or positive control											
Analyte	Acetaminophen, 6β-Hydroxytestosterone, Estradiol 3-glucuronide, Acetaminophen <i>O</i> -glucuronide, Morphine 3-glucuronide											
Assay	High performance liquid chromatography for 6β-Hydroxytestosterone, High performance liquid chromatography combined with mass spectrometry for other analyte											
Fold induction relative to the corresponding control	CYP1A2				CYP3A4							
	Naldemedine tosylate (μmol/L)			Omeprazole 30 μmol/L	Naldemedine tosylate (μmol/L)			Rifampicin 50 μmol/L				
	1	3	10		1	3	10					
Donor 1	1.0	1.2	1.2	37.4	1.1	1.8	2.2	4.0				
Donor 2	1.0	0.9	0.9	17.6	0.4	0.5	0.6	4.5				
Donor 3	1.0	1.1	1.3	32.1	0.9	1.0	1.5	2.6				
Fold induction relative to the corresponding control	UGT1A2				UGT1A6				UGT2B7			
	Naldemedine tosylate (μmol/L)			Rifampicin 50 μmol/L	Naldemedine tosylate (μmol/L)			Rifampicin 50 μmol/L	Naldemedine tosylate (μmol/L)			Rifampicin 50 μmol/L
	1	3	10		1	3	10		1	3	10	
Donor 1	1.1	1.1	1.2	0.57	1.0	1.0	1.0	1.2	1.1	1.2	1.2	1.0
Donor 2	1.1	1.3	1.2	0.6	1.0	1.1	1.2	1.1	1.1	1.3	1.2	1.0
Donor 3	1.3	1.4	1.7	0.7	1.1	1.1	1.2	1.0	0.9	1.1	1.1	1.1
Study Number	S-297995-PF-176-N (CRO Study No. 8214143)											
Location in CTD	5.3.2.2-04											

2.6.5.12.4 *In Vitro* CYP2B6 Induction by Naldemedine Tosylate in Human Hepatocytes

Test Article: Naldemedine Tosylate

Study System	Primary cultures of fresh human hepatocytes (3 Donors [1 male and 2 females])						
Exposure	72 hours						
Concentration (μmol/L)	0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10						
Positive control (Concentration)	Phenobarbital (750 μmol/L)						
Substrate (Concentration)	Bupropion (500 μmol/L)						
Sample	Reaction mixture after incubation of bupropion with human hepatocytes which were exposed with naldemedine tosylate or phenobarbital, Isolated RNA from human hepatocytes which were exposed with naldemedine tosylate or phenobarbital						
Analyte	Hydroxybupropion, CYP2B6 messenger ribonucleic acid (mRNA)						
Assay	LC/MS/MS, Quantitative real-time polymerase chain reaction						
Fold induction of enzyme activity relative to the corresponding control	Naldemedine tosylate (μmol/L)						Phenobarbital 750 μmol/L
	0.03	0.1	0.3	1	3	10	
Donor 1	-0.184	-0.170	0.0472	0.0145	0.431	0.806	5.64
Donor 2	0.0610	0.1000	0.143	0.240	0.567	1.97	14.7
Donor 3	-0.200	-0.211	-0.116	0.121	0.549	1.11	12.1
Fold induction of mRNA relative to the corresponding control	Naldemedine tosylate (μmol/L)						Phenobarbital 750 μmol/L
	0.03	0.1	0.3	1	3	10	
Donor 1	-0.0890	-0.0480	0.163	0.258	0.419	-0.0850	13.4
Donor 2	0.0300	0.183	0.387	0.346	0.557	0.817	31.1
Donor 3	-0.216	-0.240	-0.0700	0.620	0.219	0.235	10.7
Study Number	S-297995-PF-298-N (CRO Study No. 133131)						
Location in CTD	5.3.2.2-05						

2.6.5.12.5 *In Vitro* CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 Induction by Nor-Naldemedine in Human Hepatocytes

Test Article: Nor-naldemedine

Study System	Cryopreserved human hepatocytes (1 Donors [1 male])								
Exposure	72 hours								
Concentration (nmol/L)	0.932, 18.6								
Positive controls (Concentration)	Omeprazole (50 µmol/L) for prototypical inducer of CYP1A2, Phenobarbital (1000 µmol/L) for prototypical inducer of CYP2B6, Rifampicin (20 µmol/L) for prototypical inducer of CYP3A4								
Substrates (Concentration)	Phenacetin (400 µmol/L) for CYP1A2, Bupropion (1000 µmol/L) for CYP2B6, Midazolam (40 µmol/L) for CYP3A4								
Sample	Reaction mixture after incubation of substrate with human hepatocytes which were exposed with nor-naldemedine or positive control, Isolated RNA from human hepatocytes which were exposed with nor-naldemedine or positive control								
Analyte	Acetaminophen, Hydroxybupropion, 1-Hydroxymidazolam, mRNA								
Assay	LC/MS/MS, Quantitative real-time polymerase chain reaction								
Fold induction of enzyme activity relative to the corresponding control	CYP1A2			CYP2B6			CYP3A4		
	Nor-naldemedine (nmol/L)		Omeprazole 50 µmol/L	Nor-naldemedine (nmol/L)		Phenobarbital 1000 µmol/L	Nor-naldemedine (nmol/L)		Rifampicin 20 µmol/L
	0.932	18.6		0.932	18.6		0.932	18.6	
Donor 1	1.07	1.11	24.5	0.971	0.879	5.96	0.950	1.01	> 8.00 ^(a)
Fold induction of mRNA relative to the corresponding control	CYP1A2			CYP2B6			CYP3A4		
	Nor-naldemedine (nmol/L)		Omeprazole 50 µmol/L	Nor-naldemedine (nmol/L)		Phenobarbital 1000 µmol/L	Nor-naldemedine (nmol/L)		Rifampicin 20 µmol/L
	0.932	18.6		0.932	18.6		0.932	18.6	
Donor 1	0.841	0.758	80.3	0.827	0.853	13.8	0.865	0.797	189
^(a) The concentrations of 1'-hydroxymidazolam in 20 µmol/L rifampicin-treated wells were higher than upper limit of the standard curve. Therefore, the fold induction of enzymatic activity relative to the corresponding control in the 20 µmol/L rifampicin exposure group was determined as more than the value calculated using the value of upper limit of the standard curve.									
Study Number	S-297995-PB-339-R								
Location in CTD	5.3.2.2-06								

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1 Urinary and Fecal Excretion after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate or [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RatsTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)					
Gender (M/F)/Number of Animals	M/5			M/4		
Feeding Condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension					
Method of Administration	Single oral administration					
Dose (mg/kg as free base)	1					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 μCi/mg) for [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate, 2.05 MBq/mg (55.5 μCi/mg) for [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate					
Sample	Urine, Feces					
Analyte	Radioactivity					
Assay	LSC					
Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)	[Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate			[Carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate		
	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total
From 0 to 6 hours post-dose	6.0 ± 2.3	No sample	Not calculated	0.8 ± 0.1	No sample	Not calculated
From 0 to 24 hours post-dose	45.7 ± 2.1	45.8 ± 3.9	91.5 ± 3.2	1.4 ± 0.2	93.0 ± 2.3	94.4 ± 2.3
From 0 to 48 hours post-dose	48.3 ± 2.3	48.8 ± 2.6	97.1 ± 0.7	1.5 ± 0.2	97.0 ± 0.6	98.5 ± 0.4
From 0 to 72 hours post-dose	48.8 ± 2.4	48.9 ± 2.6	97.7 ± 0.6	1.5 ± 0.2	97.3 ± 0.5	98.8 ± 0.4
From 0 to 96 hours post-dose	49.0 ± 2.4	49.0 ± 2.6	98.0 ± 0.6	1.5 ± 0.2	97.3 ± 0.5	98.8 ± 0.3
From 0 to 120 hours post-dose	49.1 ± 2.4	49.0 ± 2.6	98.1 ± 0.6	1.5 ± 0.2	97.4 ± 0.5	98.9 ± 0.3
From 0 to 144 hours post-dose	49.1 ± 2.4	49.1 ± 2.6	98.2 ± 0.6	1.5 ± 0.2	97.4 ± 0.4	98.9 ± 0.3
From 0 to 168 hours post-dose	49.2 ± 2.4	49.1 ± 2.6	98.3 ± 0.6	1.5 ± 0.2	97.4 ± 0.4	98.9 ± 0.3
Data are expressed as the mean ± S.D.						
Study Number	R-297995-PB-025-N			R-297995-PB-098-N		
Location in CTD	4.2.2.5-01			4.2.2.5-02		

2.6.5.13.2 Urinary and Fecal Excretion after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RatsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)		
Gender (M/F)/Number of Animals	M/5		
Feeding Condition	Non-fasted		
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension		
Method of Administration	Repeated oral administrations, once daily for 14 days		
Dose (mg/kg/day as free base)	1		
Radionuclide	¹⁴ C		
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)		
Sample	Urine, Feces		
Analyte	Radioactivity		
Assay	LSC		
Cumulative Excretion of Radioactivity (% of cumulative dose)	Urine	Feces	Total
From 0 to 24 hours after the 1st-dose	1.1 ± 0.1	92.6 ± 1.0	93.7 ± 1.0
From 0 to 24 hours after the 2nd-dose	1.1 ± 0.1	93.6 ± 1.6	94.7 ± 1.5
From 0 to 24 hours after the 3rd-dose	1.2 ± 0.2	94.8 ± 0.8	96.0 ± 0.8
From 0 to 24 hours after the 4th-dose	1.1 ± 0.1	95.0 ± 1.5	96.2 ± 1.5
From 0 to 24 hours after the 5th-dose	1.1 ± 0.1	95.6 ± 0.9	96.7 ± 0.8
From 0 to 24 hours after the 6th-dose	1.1 ± 0.1	95.9 ± 0.6	97.0 ± 0.5
From 0 to 24 hours after the 7th-dose	1.1 ± 0.1	96.1 ± 0.6	97.2 ± 0.6
From 0 to 24 hours after the 8th-dose	1.1 ± 0.1	96.2 ± 0.5	97.4 ± 0.4
From 0 to 24 hours after the 9th-dose	1.5 ± 0.3	96.5 ± 0.5	98.0 ± 0.3
From 0 to 24 hours after the 10th-dose	2.0 ± 0.6	96.6 ± 0.4	98.5 ± 0.3
From 0 to 24 hours after the 11th-dose	2.0 ± 0.6	96.7 ± 0.2	98.7 ± 0.4
From 0 to 24 hours after the 12th-dose	2.0 ± 0.6	96.8 ± 0.3	98.8 ± 0.4
From 0 to 24 hours after the 13th-dose	2.0 ± 0.6	96.2 ± 0.4	98.2 ± 0.2
Data are expressed as the mean ± S.D.			

(続く)

2.6.5.13.2 Urinary and Fecal Excretion after Repeated Oral Administrations of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats (続き)Test Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Cumulative Excretion of Radioactivity (% of cumulative dose)	Urine	Feces	Total
From 0 to 24 hours after the 14th-dose	2.0 ± 0.6	96.6 ± 0.5	98.5 ± 0.3
From 0 to 48 hours after the 14th-dose	2.0 ± 0.6	97.1 ± 0.4	99.1 ± 0.3
From 0 to 72 hours after the 14th-dose	2.0 ± 0.6	97.2 ± 0.4	99.2 ± 0.3
From 0 to 96 hours after the 14th-dose	2.0 ± 0.6	97.2 ± 0.4	99.2 ± 0.3
From 0 to 120 hours after the 14th-dose	2.0 ± 0.6	97.3 ± 0.4	99.3 ± 0.3
From 0 to 144 hours after the 14th-dose	2.0 ± 0.6	97.3 ± 0.4	99.3 ± 0.3
From 0 to 168 hours after the 14th-dose	2.0 ± 0.6	97.3 ± 0.4	99.3 ± 0.3
Data are expressed as the mean ± S.D.			
Study Number	S-297995-PB-191-N		
Location in CTD	4.2.2.5-03		

2.6.5.13.3 Urinary and Fecal Excretion after a Single Intravenous or Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate or after a Single Oral Administration of [carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Dogs

Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Dog/TOYO Beagle								
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4			M/4			M/4		
Feeding Condition	Non-fasted								
Vehicle/Formulation	(N,N-Dimethylacetamide/Saline)/solution			0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension			0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension		
Method of Administration	Single intravenous administration			Single oral administration			Single oral administration		
Dose (mg/kg as free base)	0.5			1			1		
Radionuclide	¹⁴ C								
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 μCi/mg) for [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate, 2.05 MBq/mg (55.5 μCi/mg) for [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate								
Sample	Urine, Feces								
Analyte	Radioactivity								
Assay	LSC								
Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)	[Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate						[Carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate		
	After Intravenous Administration			After Oral Administration			After Oral Administration		
	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total
From 0 to 6 hours post-dose	7.0 ± 0.7	No sample	7.0 ± 0.7	3.6 ± 1.0	No sample	3.6 ± 1.0	2.3 ± 0.3	No sample	2.3 ± 0.3
From 0 to 24 hours post-dose	20.1 ± 3.4	55.4 ± 16.0	75.5 ± 12.6	18.8 ± 1.8	47.6 ± 18.5	66.4 ± 18.5	4.4 ± 1.2	80.9 ± 5.6	85.2 ± 5.3
From 0 to 48 hours post-dose	22.9 ± 4.9	66.2 ± 5.9	89.1 ± 1.0	24.2 ± 4.3	64.1 ± 5.4	88.3 ± 1.8	4.8 ± 1.3	89.9 ± 1.3	94.7 ± 0.7
From 0 to 72 hours post-dose	23.6 ± 5.0	67.1 ± 5.7	90.7 ± 0.9	25.0 ± 4.5	65.9 ± 4.2	90.9 ± 0.9	4.9 ± 1.3	90.8 ± 1.4	95.8 ± 0.4
From 0 to 96 hours post-dose	23.9 ± 5.0	67.6 ± 5.7	91.5 ± 0.9	25.3 ± 4.5	66.5 ± 4.2	91.8 ± 1.0	5.1 ± 1.4	91.4 ± 1.4	96.4 ± 0.4
From 0 to 120 hours post-dose	24.1 ± 5.0	67.8 ± 5.7	91.9 ± 0.9	25.5 ± 4.5	66.7 ± 4.2	92.2 ± 0.9	5.1 ± 1.4	91.7 ± 1.5	96.8 ± 0.4
From 0 to 144 hours post-dose	24.2 ± 5.0	68.0 ± 5.7	92.2 ± 0.8	25.6 ± 4.5	66.9 ± 4.2	92.5 ± 0.9	5.2 ± 1.4	91.9 ± 1.5	97.0 ± 0.3
From 0 to 168 hours post-dose	24.3 ± 5.0	68.2 ± 5.7	92.5 ± 0.9	25.7 ± 4.6	67.0 ± 4.2	92.8 ± 0.9	5.2 ± 1.4	92.0 ± 1.5	97.2 ± 0.3
Data are expressed as the mean ± S.D.									
Study Number	R-297995-PB-068-N						S-297995-PB-177-N		
Location in CTD	4.2.2.2-09						4.2.2.2-10		

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

2.6.5.14.1 Urinary, Biliary, and Fecal Excretion after a Single Oral Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate or [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Rats

Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)							
Gender (M/F)/Number of Animals	M/4				M/5			
Feeding Condition	Non-fasted							
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension							
Method of Administration	Single oral administration							
Dose (mg/kg as free base)	1							
Radionuclide	¹⁴ C							
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg) for [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate, 2.05 MBq/mg (55.5 µCi/mg) for [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate							
Sample	Urine, Bile, Feces, Stomach contents, Intestinal contents							
Analyte	Radioactivity							
Assay	LSC							
Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)	[Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate				[Carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate			
	Urine	Bile	Feces	Total	Urine	Bile	Feces	Total
From 0 to 6 hours post-dose	6.7 ± 6.8	11.4 ± 3.2	No sample	Not calculated	0.8 ± 0.7	15.5 ± 11.0	No sample	Not calculated
From 0 to 24 hours post-dose	41.7 ± 8.2	27.5 ± 6.7	19.4 ± 3.5	88.6 ± 4.7	2.0 ± 1.1	29.8 ± 11.7	33.0 ± 11.2	64.9 ± 22.3
From 0 to 48 hours post-dose	44.8 ± 8.9	28.2 ± 6.9	24.4 ± 2.6	97.5 ± 0.5	2.5 ± 0.9	31.3 ± 11.1	57.6 ± 16.2	97.6 ± 2.9 ^(a)
Data are expressed as the mean ± S.D.								
^(a) Including the radioactivity in stomach contents and intestinal contents 48 hours post-dose (0.4 ± 0.8% and 5.9 ± 10.1%, respectively).								
Study Number	R-297995-PB-025-N				R-297995-PB-098-N			
Location in CTD	4.2.2.5-01				4.2.2.5-02			

2.6.5.14.2 Enterohepatic Circulation of Radioactivity after a Single Oral Administration of [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in RatsTest Article: [Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)							
Gender (M/F)/Number of Animals	M/6 (3 donor rats and 3 recipient rats)							
Feeding Condition	Non-fasted							
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution / suspension							
Method of Administration	Single oral administration							
Dose (mg/kg as free base)	1							
Radionuclide	¹⁴ C							
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 μCi/mg)							
Sample	Urine, Bile, Feces, Gastrointestinal contents, Carcass							
Analyte	Radioactivity							
Assay	LSC							
Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)	Donor Rats				Recipient Rats			
	Urine	Bile	Feces	Total	Urine	Bile	Feces	Total
From 0 to 6 hours post-dose	1.0 ± 0.5	No sample	No sample	Not calculated	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	No sample	Not calculated
From 0 to 24 hours post-dose	1.9 ± 0.8	No sample	18.1 ± 15.3	20.0 ± 15.5	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	11.9 ± 10.4	12.4 ± 10.2
From 0 to 48 hours post-dose	2.1 ± 0.7	No sample	61.0 ± 10.9	70.0 ± 7.4 ^(a)	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	25.6 ± 6.1	27.7 ± 6.3 ^(b)
Total recovery				97.7 ± 1.2				
Reabsorption (% of dose)				1.1 ± 0.1				
Reabsorption (% of radioactivity recovered in recipient rat)				4.1 ± 0.9				
Enterohepatic circulation (% of dose)				0.3 ± 0.1				
Enterohepatic circulation (% of radioactivity recovered in recipient rat)				1.3 ± 0.9				
[Carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate was administered to donor rats. Data are expressed as the mean ± S.D. ^(a) Including the radioactivity in gastrointestinal contents and carcass 48 hours post-dose (5.2 ± 5.1% and 1.7 ± 0.8%, respectively). ^(b) Including the radioactivity in gastrointestinal contents and carcass 48 hours post-dose (1.0 ± 0.2% and 0.5 ± 0.2%, respectively).								
Study Number	S-297995-PB-184-N							
Location in CTD	4.2.2.5-04							

2.6.5.14.3 Urinary, Biliary, and Fecal Excretion after a Single Intraduodenal Administration of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate or [Carbonyl-¹⁴C]-Naldemedine Tosylate in Dogs

Test Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate;
[Carbonyl-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Species/Strain	Dog/TOYO Beagle							
Gender (M/F)/Number of Animals	M/2				M/4			
Feeding Condition	Fasted							
Vehicle/Formulation	0.5 w/v% methylcellulose aqueous solution/suspension							
Method of Administration	Single intraduodenal administration							
Dose (mg/kg as free base)	1							
Radionuclide	¹⁴ C							
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 μCi/mg) for [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate, 2.05 MBq/mg (55.5 μCi/mg) for [carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate							
Sample	Urine, Bile, Feces, Gastrointestinal contents							
Analyte	Radioactivity							
Assay	LSC							
Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)	[Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate				[Carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate			
	Urine	Bile	Feces	Total	Urine	Bile	Feces	Total
From 0 to 6 hours post-dose	17.7	49.1	No sample	66.8	9.3 ± 6.9	45.0 ± 10.3	No sample	54.3 ± 3.5
From 0 to 24 hours post-dose	26.7	56.8	8.9	92.4	12.9 ± 9.1	51.6 ± 11.8	12.8 ± 14.8	77.3 ± 17.2
From 0 to 48 hours post-dose	28.1	57.8	9.3	95.1	14.5 ± 10.4	52.4 ± 12.5	26.0 ± 2.5	93.1 ± 2.1 ^(a)
Data are expressed as the mean value ([Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate) or the mean ± S.D. ([Carbonyl- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate).								
^(a) Including the radioactivity in gastrointestinal contents at 48 hours post-dose (0.3 ± 0.4%).								
Study Number	R-297995-PB-068-N				S-297995-PB-177-N			
Location in CTD	4.2.2.2-09				4.2.2.2-10			

2.6.5.15 薬物動態試験： 薬物相互作用

2.6.5.15.1 *In Vitro* P-Glycoprotein-Mediated Drug Interaction of Naldemedine Tosylate

Test Article: Naldemedine Tosylate

Study System	Caco-2 cell systems			
Incubation	At 37°C for 2 hours			
Concentration (μmol/L)	0.2, 1, 5 (Naldemedine tosylate for inhibitor assessment)			
Positive control or substrate (Concentration)	[³ H]-Digoxin (10 μmol/L)			
Inhibitors (Concentration)	Cyclosporin A (10 μmol/L), Ketoconazole (10 μmol/L)			
Sample	Apical side solution, Basolateral side solution			
Analyte	Naldemedine			
Assay	LC-MS/MS			
P-gp Substrate Assessment	Inhibitor	Apparent Permeability ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux Ratio
		Apical to Basolateral	Basolateral to Apical	
[Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate	None	1.07 $\pm$ 0.34	28.2 $\pm$ 6.9	26.3
	Cyclosporin A	4.19 $\pm$ 1.58	6.62 $\pm$ 1.67	1.6
	Ketoconazole	5.64 $\pm$ 0.45	9.60 $\pm$ 1.52	1.7
[³ H]-Digoxin	None	0.51 $\pm$ 0.12	12.9 $\pm$ 2.2	25.1
	Cyclosporin A	3.15 $\pm$ 0.11	3.56 $\pm$ 0.32	1.1
	Ketoconazole	3.25 $\pm$ 0.17	4.70 $\pm$ 0.56	1.4
P-gp Inhibitor Assessment	Naldemedine tosylate or Inhibitor	Apparent Permeability ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux Ratio
		Apical to Basolateral	Basolateral to Apical	
[³ H]-Digoxin	None	0.46 $\pm$ 0.07	16.9 $\pm$ 1.6	36.8
	Naldemedine tosylate	0.55 $\pm$ 0.08	16.2 $\pm$ 0.5	29.5
	Cyclosporin A	4.68 $\pm$ 0.13	4.82 $\pm$ 0.69	1.0
	Ketoconazole	3.57 $\pm$ 0.63	5.99 $\pm$ 0.76	1.7
Data are expressed as the mean $\pm$ S.D. of triplicate assays.				
Study Number	R-297995-PF-067-N (CRO Study No. 8 [REDACTED] 1)			
Location in CTD	4.2.2.6-01			

2.6.5.15.2 *In Vitro* Substrate Assessments of Naldemedine Tosylate for Human Other Transporters

Test Article: Naldemedine Tosylate

Study System		Human uptake transporter (OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, or OAT3) transfected HEK-293 cells, Caco-2 cells, CPT-B1 (BCRP knockdown) cells							
Incubation		At 37°C for 2, 5, or 10 minutes (human uptake transporter transfected HEK-293 cells) or 2 hours (Caco-2 or CPT-B1 cells)							
Concentration (μmol/L)		0.5 or 2 (human uptake transporter assessments), or 0.5, 2, or 10 (BCRP assessment)							
Positive control (Concentration)		Atorvastatin (0.15 μmol/L for OATP1B1 and OATP1B3 assessments), <i>p</i> -Aminohippurate (10 μmol/L for OAT1 assessment), Furosemide (5 μmol/L for OAT3 assessment), 1-Methyl-4-phenylpyridinium iodide (MPP ⁺ , 5 μmol/L for OCT1 and OCT2 assessments), Estrone-3-sulfate (5 μmol/L for BCRP assessment)							
Sample		Apical side solution, Basolateral side solution, Cell lysate							
Analyte		Naldemedine, Atorvastatin, <i>p</i> -Aminohippurate, Furosemide, MPP ⁺ , Estrone-3-sulfate							
Assay		LC/MS/MS							
Human Uptake Transporters Substrate Assessment		Incubation Time (min)	Mean Influx Rate (pmol/mg protein) [Ratio to vector control-transfected cells]						
			Vector control-transfected cells	OATP1B1	OATP1B3	OAT1	OAT3	OCT1	OCT2
Naldemedine tosylate (μmol/L)	0.5	2	17.1	16.8 [1.0]	14.0 [0.8]	16.5 [1.0]	11.7 [0.7]	19.8 [1.2]	30.8 [1.8]
		5	10.8	11.7 [1.1]	10.4 [1.0]	13.2 [1.2]	9.07 [0.8]	14.7 [1.4]	17.8 [1.7]
		10	8.90	8.61 [1.0]	8.13 [0.9]	9.42 [1.1]	7.50 [0.8]	11.5 [1.3]	15.3 [1.7]
	2	2	57.2	54.8 [1.0]	50.2 [0.9]	56.7 [1.0]	46.5 [0.8]	72.2 [1.3]	100 [1.7]
		5	39.1	42.3 [1.1]	44.7 [1.1]	38.4 [1.0]	30.9 [0.8]	46.8 [1.2]	53.4 [1.4]
		10	32.4	32.8 [1.0]	34.9 [1.1]	32.1 [1.0]	30.0 [0.9]	43.0 [1.3]	48.4 [1.5]
Atorvastatin		5	1.03	12.4 [12.0]	8.03 [7.8]				
<i>p</i> -Aminohippurate		5	0.79			44.1 [55.6]			
Furosemide		5	1.99				140 [70.3]		
MPP ⁺		2	11.9					909 [76.6]	797 [67.1]
Data are expressed as the mean value of triplicate assays.									

(続く)

2.6.5.15.2 *In Vitro* Substrate Assessments of Naldemedine Tosylate for Human Other Transporters (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate

BCRP Substrate Assessment		Cells	Apparent Permeability (× 10 ⁻⁶ cm/sec)		Efflux Ratio ^(b)
			Apical to Basolateral	Basolateral to Apical	
Naldemedine tosylate (μmol/L)	0.5	Caco-2	1.78 ± 0.30	26.5 ^(a)	14.9
		CPT-B1	0.18 ± 0.07	23.6 ± 3.7	134
	2	Caco-2	1.41 ± 0.20	27.5 ± 0.4	19.5
		CPT-B1	0.48 ± 0.4	33.4 ± 0.8	69.7
	10	Caco-2	1.31 ± 0.10	20.3 ± 2.0	15.4
		CPT-B1	0.19 ± 0.06	26.0 ± 0.7	140
Estrone-3-sulfate		Caco-2	0.41 ± 0.03	26.4 ± 3.8	64.5
		CPT-B1	0.62 ± 0.24	17.6 ± 1.3	28.3

Data are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays.

^(a) The mean value of duplicate assays.

^(b) Quality control values for digoxin efflux ratio in Caco-2 and CPT-B1 cells:

Cells	Digoxin Efflux Ratio			
	Acceptance criteria	Batch 1	Batch 2	Batch 3
Caco-2	≥ 10	21.4 ^(*)	17.1 ^(†)	21.0 ^(‡)
CPT-B1	≥ 10	114 ^(§)	61.6 ^(‡)	

^(*) used in the tolerability assessment.

^(†) used in the first substrate assessment.

^(‡) used in the second substrate assessment.

^(§) used in the tolerability assessment and the first substrate assessment.

Study Number	S-297995-PF-285-N (CRO Study No. 12-2)
Location in CTD	4.2.2.6-02

2.6.5.15.3 *In Vitro* Inhibitor Assessments of Naldemedine Tosylate for Human Other Transporters

Test Article: Naldemedine Tosylate

Study System	Recombinant OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, or OAT1 expressed CHO cells, Recombinant OAT3 or BCRP expressed MDCKII cells				
Incubation	At 37°C for 3 minutes (recombinant OAT1 expressed CHO cells or recombinant OAT3 expressed MDCKII cells), 10 minutes (recombinant OATP1B1, OATP1B3, or OCT2 expressed CHO cells), 20 minutes (recombinant OCT1 expressed CHO cells), or 1 hour (recombinant BCRP expressed MDCKII cells)				
Concentration (μmol/L)	1 or 5 (OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, and OAT3 assessments), or 5 (BCRP assessment)				
Substrate (Concentration)	³ H]Estrone 3-sulfate (0.1 μmol/L, 1 μmol/L for OATP1B1 and OAT3 assessment), Fluo-3 (10 μmol/L for OATP1B3 assessment), [¹⁴ C]Metformin (10 μmol/L for OCT1 and OCT2 assessments), [³ H] <i>p</i> -Aminohippurate (5 μmol/L for OAT1 assessment), [³ H]Prazosin (1 μmol/L for BCRP assessment)				
Inhibitors (Concentration)	Cerivastatin (300 μmol/L for OATP1B1 assessment), Fluvastatin (30 μmol/L for OATP1B3 assessment), Verapamil (100 μmol/L for OCT1 and OCT2 assessments), Benzbromarone (200 μmol/L for OAT1 assessment), Probenecid (200 μmol/L for OAT3 assessment), Ko134 (1 μmol/L for BCRP assessment)				
Sample	Apical side solution, Basolateral side solution, Cell lysate				
Analyte	Radioactivity, Fluo-3				
Assay	LSC for radioactivity, Fluorescence (λ _{ex} =485 nm, λ _{em} =520 nm) for Fluo-3				
OATP1B1 Inhibitor Assessment	Naldemedine tosylate or Inhibitor		Amount of translocated probe substrate (pmol/mg protein)		Relative activity (%)
			Control	OATP1B1	
³ H]Estrone 3-sulfate (0.1 μmol/L)	None		0.287 ± 0.037	5.19 ± 0.10	100.0 ± 3.0
	Naldemedine tosylate (μmol/L)	1	0.347 ± 0.073	5.68 ± 0.26	108.8 ± 6.0
		5	0.360 ± 0.022	4.75 ± 0.10	89.5 ± 2.9
	Cerivastatin		0.507 ± 0.121	0.641 ± 0.020	2.7 ± 2.5
OATP1B3 Inhibitor Assessment	Naldemedine or Inhibitor		Amount of translocated probe substrate (pmol/mg protein)		Relative activity (%)
			Control	OATP1B3	
Fluo-3 (10 μmol/L)	None		1640000 ± 30000	2310000 ± 40000	100.0 ± 10.6
	Naldemedine tosylate (μmol/L)	1	1660000 ± 30000	2280000 ± 60000	92.5 ± 12.2
		5	1650000 ± 30000	2230000 ± 60000	86.6 ± 11.9
	Fluvastatin		1630000 ± 20000	1170000 ± 10000	−68.7 ± 6.1
Data are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays.					

(続く)

2.6.5.15.3 *In Vitro* Inhibitor Assessments of Naldemedine Tosylate for Human Other Transporters (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate

OCT1 Inhibitor Assessment	Naldemedine or Inhibitor		Amount of translocated probe substrate (pmol/mg protein)		Relative activity (%)
			Control	OCT1	
¹⁴ C]Metformin (10 μmol/L)	None		15.1 ± 9.4	285 ± 29	100.0 ± 6.1
	Naldemedine tosylate (μmol/L)	1	25.7 ± 2.8	289 ± 17	97.6 ± 12.7
		5	23.8 ± 4.3	287 ± 13	97.5 ± 12.1
	Verapamil		20.7 ± 7.5	24.7 ± 9.5	1.5 ± 4.5
OCT2 Inhibitor Assessment	Naldemedine or Inhibitor		Amount of translocated probe substrate (pmol/mg protein)		Relative activity (%)
			Control	OCT2	
¹⁴ C]Metformin (10 μmol/L)	None		14.9 ± 2.0	174 ± 19	100.0 ± 17.0
	Naldemedine tosylate (μmol/L)	1	24.0 ± 6.2	155 ± 25	82.3 ± 19.0
		5	14.9 ± 4.3	127 ± 7	70.5 ± 9.9
	Verapamil		13.7 ± 2.9	18.8 ± 6.2	3.2 ± 4.3
OAT1 Inhibitor Assessment	Naldemedine or Inhibitor		Amount of translocated probe substrate (pmol/mg protein)		Relative activity (%)
			Control	OAT1	
³ H]p-Aminohippurate (5 μmol/L)	None		4.04 ± 1.57	65.4 ± 4.6	100.0 ± 11.2
	Naldemedine tosylate (μmol/L)	1	3.42 ± 0.56	67.4 ± 2.9	104.3 ± 9.6
		5	5.38 ± 0.72	59.9 ± 3.5	88.9 ± 9.1
	Benzbromarone		3.31 ± 0.09	6.25 ± 0.97	4.8 ± 1.6
OAT3 Inhibitor Assessment	Naldemedine or Inhibitor		Amount of translocated probe substrate (pmol/mg protein)		Relative activity (%)
			Control	OAT3	
³ H]Estrone 3-sulfate (1 μmol/L)	None		2.37 ± 0.33	79.9 ± 1.8	100.0 ± 3.3
	Naldemedine tosylate (μmol/L)	1	3.11 ± 0.55	74.1 ± 1.2	91.6 ± 2.8
		5	2.01 ± 0.68	47.7 ± 3.0	58.9 ± 4.2
	Probenecid		2.67 ± 0.63	7.75 ± 0.41	6.6 ± 1.0
Data are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays.					

(続く)

2.6.5.15.3 *In Vitro* Inhibitor Assessments of Naldemedine Tosylate for Human Other Transporters (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate

BCRP Inhibitor Assessment	Naldemedine tosylate or Inhibitor	Cells	Apparent Permeability ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux Ratio	Net Efflux Ratio
			Apical to Basolateral	Basolateral to Apical		
[³ H]Prazosin (1 μ mol/L)	None	Madin-darby Canine Kidney Type II (MDCKII)	28.0 $\pm$ 4.6	26.9 $\pm$ 0.4	1.0	
		BCRP-MDCKII	3.60 ^(a)	52.7 $\pm$ 1.7	14.6	13.6
	Naldemedine tosylate (5 μ mol/L)	MDCKII	22.2 $\pm$ 2.4	20.5 $\pm$ 3.0	0.9	
		BCRP-MDCKII	3.44 $\pm$ 0.20	48.2 $\pm$ 4.9	14.0	13.1
	Ko134 (1 μ mol/L)	MDCKII	19.5 $\pm$ 8.6	21.3 $\pm$ 4.3	1.1	
		BCRP-MDCKII	15.1 $\pm$ 2.9	28.0 $\pm$ 3.5	1.9	0.8
Apparent permeability data are expressed as the mean $\pm$ S.D. of triplicate assays. ^(a) The mean value of duplicate assays						
Study Number	S-297995-PF-297-N (CRO Study No. ██████████ Shionogi-02 ██████████)					
Location in CTD	4.2.2.6-03					

2.6.5.15.4 *In Vitro* Inhibitor Assessments of Nor-Naldemedine for Human Transporters

Test Article: Nor-naldemedine

Study System	Recombinant OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, or OAT3 expressed HEK293 cells, Caco-2 cells				
Incubation	At 37°C for 2 minutes (recombinant OATP1B1, OATP1B3, OCT2, or OAT3 expressed HEK293 cells), 5 minutes (recombinant OCT1 expressed HEK293 cells), 0.5 minutes (recombinant OAT1 expressed HEK293 cells), or 2 hours (Caco-2 cells)				
Concentration (nmol/L)	1 or 20				
Substrate (Concentration)	$[^3\text{H}]$ Estradiol 17 β -D-Glucuronide (0.05 $\mu\text{mol/L}$ for OATP1B1 and OATP1B3 assessment), $[^{14}\text{C}]$ Metformin (10 $\mu\text{mol/L}$ for OCT1 and OCT2 assessments), $[^3\text{H}]p$ -Aminohippurate (1 $\mu\text{mol/L}$ for OAT1 assessment), $[^3\text{H}]$ Estrone 3-sulfate (0.05 $\mu\text{mol/L}$ for OAT3 assessment), $[^3\text{H}]$ Digoxin (1 $\mu\text{mol/L}$ for P-gp), $[^3\text{H}]$ Estrone 3-sulfate (0.1 $\mu\text{mol/L}$ for BCRP assessment)				
Inhibitors (Concentration)	Rifampicin (10 $\mu\text{mol/L}$ for OATP1B1 and OATP1B3 assessment), Quinidine (100 $\mu\text{mol/L}$ for OCT1 assessment and 300 $\mu\text{mol/L}$ for OCT2 assessment), Probenecid (100 $\mu\text{mol/L}$ for OAT1 and OAT3 assessments), Verapamil (30 $\mu\text{mol/L}$ for P-gp assessment), Ko143 (1 $\mu\text{mol/L}$ for BCRP assessment)				
Sample	Apical side solution, Basolateral side solution, Cell lysate				
Analyte	Nor-naldemedine				
Assay	LSC				
OATP1B1 Inhibitor Assessment	Nor-naldemedine or Inhibitor		Cleared volume ($\mu\text{L/mg}$ protein)		Relative activity (%)
			Control	OATP1B1	
$[^3\text{H}]$ Estradiol 17 β -D-Glucuronide (0.05 $\mu\text{mol/L}$)	None		0.711 $\pm$ 0.120	143 $\pm$ 3	100.0
	Nor-naldemedine (nmol/L)	1	0.775 $\pm$ 0.045	131 $\pm$ 6	91.5
		20	1.02 $\pm$ 0.39	134 $\pm$ 9	93.5
		Rifampicin		0.791 $\pm$ 0.108	6.53 $\pm$ 1.21
OATP1B3 Inhibitor Assessment	Nor-naldemedine or Inhibitor		Cleared volume ($\mu\text{L/mg}$ protein)		Relative activity (%)
			Control	OATP1B3	
$[^3\text{H}]$ Estradiol 17 β -D-Glucuronide (0.05 $\mu\text{mol/L}$)	None		0.711 $\pm$ 0.120	23.1 $\pm$ 0.9	100.0
	Nor-naldemedine (nmol/L)	1	0.775 $\pm$ 0.045	24.1 $\pm$ 0.4	104.2
		20	1.02 $\pm$ 0.39	22.1 $\pm$ 0.6	94.2
		Rifampicin		0.791 $\pm$ 0.108	1.06 $\pm$ 0.04
Data are expressed as the mean $\pm$ S.D. of triplicate assays.					

(続く)

2.6.5.15.4 *In Vitro* Inhibitor Assessments of Naldemedine Tosylate for Human Other Transporters (続き)

Test Article: Nor-naldemedine

OCT1 Inhibitor Assessment	Nor-naldemedine or Inhibitor		Cleared volume (μL/mg protein)		Relative activity (%)
			Control	OCT1	
^[14C] Metformin (10 μmol/L)	None		1.37 ± 0.03	22.5 ± 2.2	100.0
	Nor-naldemedine (nmol/L)	1	1.59 ± 0.10	23.8 ± 1.7	105.1
		20	1.62 ± 0.10	14.8 ± 0.5	62.4
	Quinidine		0.290 ± 0.050	1.02 ± 0.11	3.5
OCT2 Inhibitor Assessment	Nor-naldemedine or Inhibitor		Cleared volume (μL/mg protein)		Relative activity (%)
			Control	OCT2	
^[14C] Metformin (10 μmol/L)	None		0.837 ± 0.066	72.6 ± 3.1	100.0
	Nor-naldemedine (nmol/L)	1	0.928 ± 0.087	78.4 ± 6.1	108.0
		20	0.793 ± 0.062	73.7 ± 2.5	101.6
	Quinidine		0.210 ± 0.012	1.23 ± 0.14	1.4
OAT1 Inhibitor Assessment	Nor-naldemedine or Inhibitor		Cleared volume (μL/mg protein)		Relative activity (%)
			Control	OAT1	
^[3H] <i>p</i> -Aminohippurate (1 μmol/L)	None		0.406 ± 0.110	52.2 ± 0.6	100.0
	Nor-naldemedine (nmol/L)	1	0.359 ± 0.052	55.0 ± 3.3	105.5
		20	0.352 ± 0.054	48.8 ± 1.1	93.5
	Probenecid		0.292 ± 0.065	2.84 ± 0.10	4.9
OAT3 Inhibitor Assessment	Nor-naldemedine or Inhibitor		Cleared volume (μL/mg protein)		Relative activity (%)
			Control	OAT3	
^[3H] Estrone 3-sulfate (0.05 μmol/L)	None		0.630 ± 0.123	77.2 ± 1.9	100.0
	Nor-naldemedine (nmol/L)	1	0.665 ± 0.122	82.1 ± 8.0	106.4
		20	0.561 ± 0.031	83.4 ± 3.6	108.2
	Probenecid		0.590 ± 0.042	5.01 ± 0.49	5.8
Data are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays.					

(続く)

2.6.5.15.4 *In Vitro* Inhibitor Assessments of Naldemedine Tosylate for Human Other Transporters (続き)

Test Article: Nor-naldemedine

P-gp Inhibitor Assessment	Nor-naldemedine or Inhibitor		Apparent Permeability (× 10 ⁻⁶ cm/sec)		Efflux Ratio
			Apical to Basolateral	Basolateral to Apical	
^{[3]H} -Digoxin (1 μmol/L)	None		0.634 ± 0.042	13.1 ± 1.2	20.7
	Nor-naldemedine (nmol/L)	1	0.687 ± 0.135	13.9 ± 0.4	20.2
		20	0.620 ± 0.042	12.8 ± 1.1	20.6
	Verapamil		3.50 ± 0.09	4.62 ± 0.41	1.3
BCRP Inhibitor Assessment	Nor-naldemedine or Inhibitor		Apparent Permeability (× 10 ⁻⁶ cm/sec)		Efflux Ratio
			Apical to Basolateral	Basolateral to Apical	
^{[3]H} Estrone 3-sulfate (0.1 μmol/L)	None		0.942 ± 0.049	39.7 ± 0.8	42.1
	Nor-naldemedine (nmol/L)	1	0.797 ± 0.011	39.7 ± 2.2	49.8
		20	0.914 ± 0.058	38.7 ± 0.5	42.3
	Ko143		3.13 ± 0.10	4.78 ± 0.89	1.5
Apparent permeability data are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays.					
Study Number	S-297995-PF-340-N (CRO Study No. [REDACTED] 1425-G)				
Location in CTD	4.2.2.6-04				

2.6.5.15.5 *In Vitro* Investigation for Protein Binding Site of [Oxadiazole-¹⁴C]-Naldemedine TosylateTest Article: [Oxadiazole-¹⁴C]-naldemedine Tosylate

Study System	Human serum albumin (HSA) solution				
Test System	Ultrafiltration Method				
Radionuclide	¹⁴ C				
Specific Activity	1.98 MBq/mg (53.5 µCi/mg)				
Concentration (µg/mL)	0.2 (0.35 µmol/L)				
Inhibitors (Concentration)	Warfarin for Site I (0.35, 1.75, 3.5, 7, 14 µmol/L in 0.2% HSA solution, 1.75, 14 µmol/L in 4% HSA solution), Diazepam for Site II (0.35, 1.75, 3.5, 7, 14 µmol/L in 0.2% HSA solution, 1.75, 14 µmol/L in 4% HSA solution), Digitoxin for Site III (0.35, 1.75, 3.5, 7, 14 µmol/L in 0.2% HSA solution)				
Centrifugation	At 2500 rpm for 45 seconds (0.2% HSA solution) or 3 minutes (4% HSA solution) at 37°C				
Sample	HSA solution, Filtrate				
Analyte	Radioactivity				
Assay	LSC				
Protein Binding Ratio (%)	0.2% HSA			4% HSA	
	Warfarin (Site I)	Diazepam (Site II)	Digitoxin (Site III)	Warfarin (Site I)	Diazepam (Site II)
Control (no inhibitor)	42.0 ± 0.5			90.7 ± 0.3	
Inhibitor 0.35 µmol/L (1:1) ^(a)	42.1 ± 0.7	39.3 ± 1.0 *	40.9 ± 0.5	90.9 ± 0.0	90.1 ± 0.1 *
Inhibitor 1.75 µmol/L (1:5) ^(a)	40.5 ± 0.7	37.4 ± 1.0 *	41.0 ± 0.1		
Inhibitor 3.5 µmol/L (1:10) ^(a)	42.2 ± 0.2	39.4 ± 0.9 *	41.4 ± 0.0	90.7 ± 0.2	90.4 ± 0.2
Inhibitor 7 µmol/L (1:20) ^(a)	41.7 ± 0.3	37.9 ± 0.6 *	41.7 ± 0.2		
Inhibitor 14 µmol/L (1:40) ^(a)	39.8 ± 0.5 *	35.8 ± 1.0 *	43.7 ± 1.1 *		
Data are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays. ^(a) The ratio of inhibitor to [oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate ([Oxadiazole- ¹⁴ C]-naldemedine tosylate : Inhibitor). * P < 0.05 vs. control group (Dunnett's multiple comparison test).					
Study Number	S-297995-PB-169-N				
Location in CTD	5.3.2.1-03				

2.6.5.15.6 Effects on Hepatic Drug Metabolizing Enzymes in Samples Obtained from 1-Month Repeat-Dose Oral Toxicity Study in Rats

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)									
Evaluation Items	Microsomal protein, Testosterone 6β-hydroxylase activity (T6β-OHase; a marker activity for CYP3A), Testosterone 16α-hydroxylase activity (T16α-OHase; a marker activity for CYP2C11/CYP2B1), Testosterone 16β-hydroxylase activity (T16β-OHase; a marker activity for CYP2B), Testosterone 2α-hydroxylase activity (T2α-OHase; a marker activity for CYP2C11), Ethoxyresorufin <i>O</i> -deethylase activity (EROD; a marker activity for CYP1A)									
Hepatic microsomes	Prepared using liver samples obtained from the main group (Dose: 0 [control], 30, 100, and 1000 mg/kg/day, 6 animals/sex/group) and recovery group (Dose: 0 [control] and 1000 mg/kg/day, 5 animals/sex/group) of 1-month repeat-dose oral toxicity study of naldemedine tosylate in rats [Report R-297995-TB-048-L in module 4.2.3.2]									
Sample	Hepatic microsomes for microsomal protein, Reaction mixture after incubation of testosterone or ethoxyresorufin with hepatic microsomes for enzyme activities									
Analyte	Microsomal protein, 6β-Hydroxytestosterone, 16α-Hydroxytestosterone, 16β-Hydroxytestosterone, 2α-Hydroxytestosterone, Hydroxyresorufin									
Assay	Spectrophotometer for microsomal protein, HPLC for 6β-, 16α-, 16β-, and 2α-hydroxytestosterone, Fluorescence spectrophotometer for hydroxyresorufin									
Group	Male						Female			
	Protein (mg/g liver)	Activity (nmol/min/mg protein)					Protein (mg/g liver)	Activity (nmol/min/mg protein)		
		T6β-OHase	T16α-OHase	T16β-OHase	T2α-OHase	EROD		T6β-OHase	T16β-OHase	EROD
Main group										
Control	44.5 [3.3]	0.821 [0.133]	2.378 [0.274]	0.010 [0.001]	1.694 [0.185]	0.106 [0.008]	50.0 [2.7]	0.082 [0.004]	0.018 [0.003]	0.113 [0.027]
30-mg/kg/day	49.2 * [3.4]	0.634 [0.254]	1.889 [0.731]	0.008 [0.002]	1.349 [0.514]	0.096 [0.023]	43.7 * [4.3]	0.108 * [0.011]	0.023 [0.005]	0.119 [0.026]
100-mg/kg/day	43.3 [2.3]	0.628 [0.076]	1.977 [0.350]	0.011 [0.002]	1.387 [0.230]	0.111 [0.023]	43.6 * [3.3]	0.131 ** [0.030]	0.028 ** [0.006]	0.141 [0.010]
1000-mg/kg/day	38.4 ** [2.0]	0.323 ** [0.079]	1.278 ** [0.383]	0.012 [0.002]	0.884 ** [0.263]	0.100 [0.022]	45.0 [4.9]	0.123 ** [0.010]	0.029 ** [0.002]	0.140 [0.020]
Data are expressed as the mean value (Figures in the bracket are respective S.D.). * P < 0.05. ** P < 0.01. vs. control group (Dunnett's multiple comparison test).										

(続く)

2.6.5.15.6 Effects on Hepatic Drug Metabolizing Enzymes in Samples Obtained from 1-Month Repeat-Dose Oral Toxicity Study in Rats (続き)

Test Article: Naldemedine Tosylate

Group	Male						Female			
	Protein (mg/g liver)	Activity (nmol/min/mg protein)					Protein (mg/g liver)	Activity (nmol/min/mg protein)		
		T6β-OH ase	T16α- OHase	T16β- OHase	T2α- OHase	EROD		T6β- OHase	T16β- OHase	EROD
Recovery group										
Control	46.8 [3.6]	0.911 [0.380]	2.208 [0.363]	0.011 [0.003]	1.577 [0.239]	0.103 [0.014]	49.4 [2.0]	0.113 [0.022]	0.021 [0.002]	0.127 [0.020]
1000-mg/kg/day	51.3* [2.3]	0.633 [0.089]	2.252 [0.687]	0.008 [0.001]	1.609 [0.472]	0.124 [0.023]	50.0 [2.9]	0.113 [0.015]	0.024 [0.005]	0.145 [0.026]
Data are expressed as the mean value (Figures in the bracket are respective S.D.). * P < 0.05 vs. control group (Dunnett's multiple comparison test).										
Study Number	R-297995-PB-049-L									
GLP Compliance	Yes									
Location in CTD	4.2.2.6-05									

2.6.5.15.7 Effects on Hepatic Drug Metabolizing Enzymes in Samples Obtained from 1-Month Repeat-Dose Oral Toxicity Study in Dogs

Test Article: Naldemedine Tosylate

Species/Strain	Dog/TOYO Beagle							
Evaluation Items	Microsomal protein, T6β-OHase (a marker activity for CYP3A12), T16α-OHase (a marker activity for CYP2B11/2C21), EROD (a marker activity for CYP1A)							
Hepatic microsomes	Prepared using liver samples obtained from the main group (Dose: 0 [control], 1, 3, 10, and 50 mg/kg/day, 3 animals/sex/group) and recovery group (Dose: 0 [control] and 50 mg/kg/day, 2 animals/sex/group) of 1-month repeat-dose oral toxicity study of naldemedine tosylate in dogs [Report R-297995-TB-046-L in module 4.2.3.2]							
Sample	Hepatic microsomes for microsomal protein, Reaction mixture after incubation of testosterone or ethoxyresorufin with hepatic microsomes for enzyme activities							
Analyte	Microsomal protein, 6β-Hydroxytestosterone, 16α-Hydroxytestosterone, Hydroxyresorufin							
Assay	Spectrophotometer for microsomal protein, HPLC for 6β- and 16α-hydroxytestosterone, Fluorescence spectrophotometer for hydroxyresorufin							
Group	Male				Female			
	Protein (mg/g liver)	Activity (nmol/min/mg protein)			Protein (mg/g liver)	Activity (nmol/min/mg protein)		
		T6β-OHase	T16α-OHase	EROD		T6β-OHase	T16α-OHase	EROD
Main group								
Control	23.7 [3.1]	0.780 [0.107]	0.322 [0.057]	0.038 [0.013]	32.1 [0.7]	0.618 [0.014]	0.331 [0.035]	0.065 [0.006]
1-mg/kg/day	30.1 ** [1.9]	0.651 [0.066]	0.299 [0.074]	0.048 [0.003]	28.1 [4.2]	0.583 [0.072]	0.274 [0.015]	0.039 ** [0.007]
3-mg/kg/day	29.9 * [1.2]	0.755 [0.136]	0.328 [0.034]	0.044 [0.016]	31.4 [5.2]	0.681 [0.228]	0.322 [0.058]	0.025 ** [0.009]
10-mg/kg/day	28.6 * [1.4]	0.918 [0.131]	0.321 [0.003]	0.039 [0.010]	29.0 [1.8]	0.703 [0.063]	0.299 [0.058]	0.035 ** [0.006]
50-mg/kg/day	29.1 * [2.0]	0.736 [0.241]	0.204 [0.055]	0.023 [0.008]	32.8 [5.1]	0.676 [0.048]	0.194 ** [0.032]	0.015 ** [0.003]
Recovery group								
Control	25.6	0.466	0.141	0.020	24.2	0.636	0.220	0.033
50-mg/kg/day	26.8	0.681	0.234	0.042	27.4	0.597	0.207	0.035
Data are expressed as the mean value (Figures in the bracket are respective S.D.). * P < 0.05, ** P < 0.01, vs. control group (Dunnett’s multiple comparison test).								
Study Number	R-297995-PB-050-L							
GLP Compliance	Yes							
Location in CTD	4.2.2.6-06							

2.6.5.16 薬物動態試験： その他

2.6.5.16.1 *In Vitro* Solubility of Naldemedine Tosylate

Test Article: Naldemedine Tosylate

Study System	Shake-flask method for solubility	
Application of naldemedine tosylate	Approximately 2.0 mg as free base was placed in a 4 mL amber vial, and approximately 2 mL of the appropriate pH buffer was added	
Incubation	At 37°C for approximately 23 hours	
pH	1.0, 3.5, 4.5, 5.5, 7.5	
Sample	Filtrate (using a pre-warmed 0.45 µm nylon syringe filter) of the solution	
Analyte	Naldemedine	
Assay	LC/MS/MS	
pH (Buffer)	Measured Concentrations of Naldemedine (mg/mL)	Coefficient of Variation (% S.D./mean × 100)
1.0 (HCl)	0.397	9.24
3.5 (Acid phthalate)	0.101	6.19
4.5 (Neutralized phthalate)	0.0826	9.03
5.5 (Neutralized phthalate)	0.135	17.9
7.5 (Phosphate)	0.420	7.01
Data are expressed as the mean value of 4 replicate samples.		
Study Number	S-297995-PF-288-L (CRO Study No. 13 [REDACTED] 1GLP240)	
GLP Compliance	Yes	
Location in CTD	4.2.2.7-01	

2.6.5.16.2 *In Vitro* Permeability of Naldemedine Tosylate

Test Article: Naldemedine Tosylate

Study System	Caco-2 cell systems		
Incubation	At 37°C for 45 minutes		
Concentration (nmol/L)	14, 140, 1400		
Internal controls (Concentration)	Minoxidil (10 µmol/L), Atenolol (100 µmol/L)		
Sample	Apical side solution, Basolateral side solution		
Analyte	Naldemedine, Minoxidil Atenolol		
Assay	LC/MS/MS		
Appical to Basolateral Apparent Permeability ($\times 10^{-6}$ cm/sec)	Naldemedine concentration		
	14 nmol/L	140 nmol/L	1400 nmol/L
Naldemedine tosylate only	N.D.	1.99 $\pm$ 0.815	1.63 $\pm$ 0.142
Minoxidil with naldemedine tosylate	7.56 $\pm$ 0.194 ^(a)	5.67 $\pm$ 0.489	5.48 $\pm$ 0.215
Atenolol with naldemedine tosylate	0.286 $\pm$ 0.0336	0.241 $\pm$ 0.0490	0.210 $\pm$ 0.0285
Data are expressed as the mean $\pm$ S.D. of 4 replicate samples. N.D., Not detectable. ^(a) The mean $\pm$ S.D. of triplicate samples, because 1 replicate fell outside the upper limit of the acceptable range of minoxidil.			
Study Number	S-297995-PF-288-L (CRO Study No. 13 [REDACTED] 1GLP240)		
GLP Compliance	Yes		
Location in CTD	4.2.2.7-01		