TABLE OF CONTENTS

略語一覧 3
1. まとめ 4
1.1. 吸収／薬物動態 5
1.2. 分布 6
1.3. 代謝 6
1.4. 排泄 7
1.5. 薬物相互作用 7
2. 分析法 8
2.1. 血漿中のロミデプシン；HPLC 分析 8
2.2. 高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法によるラット血漿中ロミデプシン濃度定量法のバリデーション 8
2.3. 高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法によるイヌ血漿中ロミデプシン濃度定量法のバリデーション 9
2.4. 高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法によるラット血漿中ロミデプシン濃度定量法のパーシャルバリデーション 10
3. 吸収 12
3.1. ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与したときの放射能の分布及び排泄 12
3.2. ラットにロミデプシンを 26 週間静脈内ボーラス投与したときの血漿中濃度の測定 13
3.3. イヌにロミデプシンを 4 時間持続静脈内投与したときの血漿中濃度の測定 14
3.4. イヌにおけるロミデプシンの薬物動態及び用量設定 15
3.5. イヌにロミデプシンを 1 時間持続静脈内投与したときの薬物動態及び用量設定 15
4. 分布 17
4.1. ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与したときの放射能の分布及び排泄 17
4.2. ラット、イヌ、ヒト血清及びヒト血漿に対するロミデプシンの in vitro タンパク結合 19
4.3. ラット、イヌ及びヒトにおけるロミデプシンの in vitro 血球移行性性 20
5. 代謝 21
5.1. ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを静脈内ボーラス投与したときの代謝 21
5.2. ラット、イヌ及びヒトにおけるロミデプシンの肝代謝の種差 22
5.3. 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法によるロミデプシンの in vitro 及び in vivo 代謝物の同定 23

5.4. ROMI-ADVM-002（進行性がん患者においてリファンピシンの反復経口投与がロミデプシンの単回投与薬物動態に与える影響評価のための第一/二期非盲検試験）の代謝物分析と同定 24
5.5. ロミデプシンの代謝に関与するヒト P450 酵素の同定 24
6. 排泄 26
6.1. ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与したときの放射能の分布及び排泄 26
7. 薬物相互作用 28
7.1. ヒト肝ミクロソーム中でのロミデプシンのチトクローム P450 活性に対する阻害作用 28
7.2. ヒト肝ミクロソームにおける CYP2B6 及び CYP2C8 阻害剤としてのロミデプシンの in vitro 評価 29
7.3. 初代培養ヒト肝細胞中でのロミデプシンのチトクローム P450 誘導作用に関する in vitro 評価 29
7.4. 取り込み及び排出薬物トランスポータに対するロミデプシンの相互作用の評価 30
8. その他の薬物動態試験 32
9. 考察及び結論 33
10. 参考文献 35

LIST OF TABLES

Table 1: ロミデプシンの薬物動態試験 5
Table 2: 分析法 8
Table 3: ロミデプシンを用いて実施した薬物動態試験 12
Table 4: 試験 501650 におけるロミデプシンの TK パラメータ（平均値） 14
Table 5: 試験 GLR040231 におけるロミデプシンの薬物動態パラメータ 15
Table 6: ロミデプシンを用いて実施した分布試験 17
Table 7: ラットに 0.3 mg/kg の[^{14}C]-ロミデプシンを静脈内ボーラス投与したときの組織及び器官中平均放射能濃度 19
Table 8: ロミデプシンを用いて実施した代謝試験 21
Table 9: ロミデプシンを用いて実施した排泄試験 26
Table 10: ロミデプシンを用いて実施した薬物相互作用試験 28

略語一覧

略　語	定　義
AUC	Area under the concentration-time curve　濃度時間曲線下面積
AUC_{∞}	Area under the concentration-time curve from time zero to infinity 時間 0 から無限時間までの濃度時間曲線下面積
AUC_{last}	Area under the concentration-time curve calculated to the last observable concentrationat 時間 0 から血漿中濃度測定可能最終時点までの濃度時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein　乳がん耐性タンパク質
BSEP	Bile salt export pump　胆汁酸トランスポーター
C_{max}	Peak maximum plasma concentration of the drug　最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450　チトクローム P450
FDA	Food and Drug Administration　米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice　医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HDAC	Histone deacetylate　ヒストン脱アセチル化酵素
HEK	Human embryonic kidney　ヒト胎児腎臓
HPLC	High-performance liquid chromatography　高速液体クロマトグラフィー
IS	Internal standaed　内標準物質
Km	Michaelis constant　ミカエリス定数
LC/MS/MS	Liquid chromatography/tandem mass spectrometry　液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LLC-PK1	Pig kidney epithelial cells　ブタ腎臓近位尿細管由来上皮細胞
MDR1	Multiple drug resistance 1　多剤耐性タンパク質 1，P 糖タンパク（P-gp）
MRP2	Multidrug resistance-associated protein 2　多剤耐性関連タンパク質 2
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form　還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
OAT	Organic anion transporter　有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide　有機アニオントランスポータータンパク質
OCT	Organic cation transporter　有機カチオントランスポーター
PK	Pharmacokinetics　薬物動態
P-gp	P-glycoprotein　P 糖タンパク
S2	S2 segment derived from transgenic mice　マウス由来近位尿細管細胞
SD ラット	Sprague-Dawley rat　Sprague-Dawley ラット
$t_{1/2}$	Elimination half-life　消失半減期
TK	Toxicokinetics　トキシコキネティクス
t_{max}	Time to peak plasma concentration　最高血漿中濃度到達時間
UV	Ultraviolet　紫外吸光

1. まとめ

ロミデプシンの薬物動態（PK）試験の内容を Table 1 に示した。

また、PK 試験で用いた分析法を Table 2 に示した。ロミデプシンの PK 及びトキシコキネティクス（TK）試験は、ラット及びイヌを用いて、静脈内投与により、ボーラス及び 4 時間静脈内持続注入の 2 種類の方法により実施した。また、ラットにおけるロミデプシンの組織内分布、代謝及び排泄を評価するため、[^{14}C]-ロミデプシンを用いて試験を実施した。さらに、ラット、イヌ及びヒトの血清並びにヒト血漿を用いて、ロミデプシンの in vitro でのタンパク結合を評価した。また、ロミデプシンのチトクローム P450（CYP）の薬物代謝酵素の誘導及び阻害、並びにロミデプシンの薬物トランスポータの阻害による薬物相互作用の可能性について in vitro 試験を実施した。

これらの試験から、以下の知見が明らかになった。

- ロミデプシンを静脈内投与したときの血漿中濃度推移は、初期の速やかな消失相に続いて、緩徐な終末消失相を示す二相性を示した。
- 用量が増加すると、全身曝露量は増加し、概ね用量相関性が認められた。
- ラットにおいてロミデプシンは全身に広く分布するが、脳への移行は極わずかであった。
- ラットにおいてロミデプシン及びその代謝物は主として胆汁を介して糞中に排泄された。
- ロミデプシンは in vitro において主に CYP3A4 を介して代謝され、その他の CYP の寄与率は 20%未満であった。

Table 1:　ロミデプシンの薬物動態試験

試験の種類	試験系	投与方法	試験番号	添付資料
吸収				
吸収	ラット	単回及び反復静脈内投与	CRD040009	4.2.2.2.1
	ラット		501650	4.2.2.2.2
	イヌ		GLR040231	4.2.2.2.3
	イヌ		[redacted]2-6464-XCV	4.2.2.2.4
	イヌ		[redacted]3-6464-XCVI	4.2.2.2.5
分布				
分布及び排泄	ラット	静脈内	CRD040009	4.2.2.3.3
血清及び血漿タンパク結合	ラット、イヌ、ヒト	In vitro	CRD040011	4.2.2.3.1
血球移行性	ラット、イヌ、ヒト	In vitro	CRD040012	4.2.2.3.2
代謝				
血漿、胆汁、尿及び糞中代謝物	ラット	静脈内	CRD040010	4.2.2.4.1
肝代謝	ラット、イヌ、ヒト	In vitro	CRD030200	4.2.2.4.2
In vitro 及び胆汁中代謝物	ラット、ヒト	静脈内／in vitro	CRD040013	4.2.2.4.3
チトクローム P450 活性	ヒト	In vitro	CRD030201	4.2.2.4.4
排泄				
分布及び排泄	ラット	静脈内	CRD040009	4.2.2.5.1
薬物動態学的薬物相互作用				
チトクローム P450 阻害	ヒト	In vitro	CRD030209	4.2.2.6.3
チトクローム P450 阻害	ヒト	In vitro	ROMI-DMPK-1479	4.2.2.6.1
チトクローム P450 誘導	ヒト	In vitro	ROMI-DMPK-001	4.2.2.6.4
取り込み及び排出トランスポータに係る相互作用	膜小胞、LLC-PK1 細胞、S2 細胞、HEK293 細胞、ヒト凍結肝細胞	In vitro	ROMI-DMPK-1442	4.2.2.6.2

1.1. 吸収／薬物動態

雄のラットに[^{14}C]-ロミデプシンを 0.3 mg/kg（28.6 µCi/kg）の用量で静脈内ボーラス投与したときの放射能の血液中放射能濃度は、すべての時点で血漿中濃度に比べて高かった（CRD040009）。血漿中に比べて血液中の放射能の終末相消失半減期（$t_{1/2}$）は長く、濃度-時間曲線下面積（AUC_{∞}）は高かった。投与後 5 分の放射能濃度の平均値は、血漿中で 276.5 ng ロミデプシン換算/mL（ng eq./mL）、血液中で 412.0 ng eq./mL であった。血漿及び血液いずれにおいても、放射能濃度は多相性に低下したが、血漿でより速やかな消失が認められ、投与後 8～48 時間までの放射能濃度の $t_{1/2}$ は血漿中で 13.2 時間、血液中で 19.6 時間であった。放射能濃度に基づく血漿の AUC_{∞}は 483.5 ng eq.·h/mL、血液の AUC_{∞}は 2546.4 ng eq.·h/mL であった。

雌雄のイヌにロミデプシン 0.3 及び 1.0 mg/kg/4h を持続静脈内投与したときの血漿中ロミデプシン濃度を LC/MS/MS 法を用いて分析した（GLR040231）。いずれの群においても、血漿中ロミデプシン濃度は投与開始後から速やかに上昇し、t_{max} は投与後 1 又は 2 時間であった。曝露量（C_{max} 及び AUC）の平均値は投与用量にほぼ相関して増加した。4 時間持続投与終了後、血漿中ロミデプシン濃度は速やかに低下し、いずれの投与量においても、投与 10 時間後までにほぼ定量下限（0.5 ng/mL）未満となった。

雌雄のラットの 26 週間反復間欠静脈内ボーラス投与毒性試験（501650）において、LC/MS/MS 法を用いて血漿中ロミデプシン濃度を分析した。3 用量（0.1、0.33 及び 0.67/1.0 mg/kg）のロミデプシン

を週 1 回で 3 週間投与して 1 週休薬を繰り返して 26 週間静脈内ボーラス投与したときの TK 測定を行った。Day 1 及び Day 176 のいずれにおいても、血漿 C_{max} 及び AUC_{last} は投与用量に相関して増加した。3 用量（0.1、0.33 及び 0.67/1.0 mg/kg）のロミデプシンを月に週 1 回で 3 週間静脈内ボーラス投与しても明らかな性差は認められなかった（Table 4 ）。いずれの投与群についても、ロミデプシンの曝露量は Day 1 に比べて Day 176 で増加した。

1.2. 分布

ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを 0.3 mg/kg の用量で静脈内ボーラス投与したときの放射能の分布を調べた（CRD040009）。放射能は全身に速やかに分布し、回腸を除くすべての組織において、最初の採取時点である投与後 5 分で最高となった。投与後 5 分の血漿中放射能濃度に対する組織内放射能濃度の比率は、腎臓（8.03）、膀胱、空腸、肝臓及び副腎（2.15～2.76）で高く、脳、精巣、白色脂肪、眼球及び大腿骨では低かった（0.28 以下）。投与後 4 時間に採取した組織内放射能濃度は血漿中放射能濃度と同程度か又はそれ以上であったが、脳、眼球及び精巣内の放射能濃度は血漿中放射能濃度に比べて低いか、又は定量下限未満であった。投与後 24 時間における血漿中放射能濃度に対する組織内放射能濃度の比率はすべて投与後 4 時間に比べて高く、組織からの放射能の消失は血漿からの消失に比べて緩徐であることが示された。投与後 168 時間には、脳、白色脂肪及び前立腺に放射能は検出されず、血漿中放射能濃度は定量限界未満であった。

ラット、イヌ及びヒト血清、並びにヒト血漿を用いて in vitro で[^{14}C]-ロミデプシンのタンパク結合率を限外濾過法により、 50～5000 ng/mL の濃度範囲で調べた（CRD040011）。ロミデプシンのタンパク結合率は、ラット血清に比べてイヌ及びヒト血清で高く、ヒト血清とヒト血漿の間で差は認められなかった。ヒト血漿中でのタンパク結合率の平均値は、検討した濃度範囲（50～5000 ng/mL）で 82～94%であった。ヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質に対する結合率は、それぞれ 19.91%及び 93.51%であり、ヒト血清中での主要結合タンパクは α_1-酸性糖タンパクであることが示唆された。

ラット、イヌ及びヒト血液を用いて、氷冷下で[^{14}C]-ロミデプシンの in vitro 血液／血漿中濃度比を 50～5000 ng/mL の濃度範囲で評価した（CRD040012）。ラット及びヒトの血液／血漿中濃度比は、検討した濃度範囲で一定であった。しかし、イヌでは血液／血漿中濃度比は 5000 ng/mL で上昇する傾向がみられた。血球移行率は、ラットで 15.6～25.2%、イヌで 1.5～12.3%、ヒトで 1.4～8.7%であった。したがって、ラット、イヌ及びヒト血液中で[^{14}C]-ロミデプシン由来の放射能は血球に比べて血漿に高濃度に分布した。

1.3. 代謝

ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを 0.3 mg/kg 静脈内ボーラス投与したときの血漿、尿、糞及び胆汁中の代謝物プロファイルを検討した。投与後 48 時間までに採取した糞を HPLC で分離後、液体シンチレーションカウンターで測定した放射能濃度を基に作成したラジオクロマトグラム上に少なくとも 30 本の放射性ピークが検出された（CRD040010）。投与後 48 時間までの尿中に排泄された放射能は主に未変化体であったが、尿中排泄はマイナーな排泄経路であった。血漿、尿及び胆汁の HPLC のラジオクロマトグラム上で認められた放射能ピークは糞に比べて少なかったが、12 種類以上の代謝物が存在していた。血漿中で放射能の大部分がタンパク質画分に存在していることから、高い血漿タンパク結合が示唆された。ロミデプシンを単回静脈内投与した進行性がん患者の循環血漿中に含まれる薬物関連成分はロミデプシンのみであった。

ラット、イヌ及びヒトの肝 S9 画分及びミクロソームを用いて、ロミデプシンの in vitro 代謝を検討した（CRD030200）。[^{14}C]-ロミデプシンを各動物種由来の肝ミクロソームとともにインキュベーションしたとき、少なくとも 20 種類の推定代謝物が生成した。この試験において、ロミデプシンの消失速度はラットとヒトで類似していたが、イヌのミクロソームによる消失速度はこれらより緩徐で

あった。反応液にジチオスレイトール（DTT）を添加したとき、放射能の回収率が上昇したことから、可逆的ジスルフィド結合による[^{14}C]-ロミデプシンのタンパク質への結合が示唆された。[^{14}C]-ロミデプシンは中性条件で迅速かつ非酵素的にグルタチオンと反応し、還元型ロミデプシンを産生した。ラット、イヌ及びヒト由来肝ミクロソームにおけるロミデプシンの代謝は、質的及び量的に顕著な差は認められなかった。

ラット及びヒトの肝ミクロソーム並びに静脈内投与後のラット胆汁中の 28 種類の代謝物の化学構造を解明した（CRD040013）。これらの代謝物の中で量的に突出したのものはなく、ヒトの毒性評価に適した動物種としてラットの使用が妥当と考えらえた。ロミデプシンの生成代謝物には、DTT とインキュベーションしたときの還元生成物及び親化合物のグルタチオン抱合体に加えて、様々な構造の代謝物が含まれていた。

ヒト肝ミクロソームを用いた検討で、ロミデプシンの代謝に関与する主な酵素は CYP3A4 で、次いで 3A5、1A1、2B6 及び 2C19 であったが、CYP3A4 以外のアイソザイムが代謝に占める割合は 20%未満であった。これら以外の CYP アイソザイムはロミデプシンの代謝に寄与しなかった（CRD030201）。特異的 CYP3A 阻害剤（ケトコナゾール）を添加したとき、ヒト肝ミクロソームによるロミデプシンの消失は大幅に抑制された。

1.4. 排泄

無処置ラット及び胆管カニュレーション処置ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを 0.3 mg/kg 静脈内ボーラス投与したときの総放射能の排泄を検討した（CRD040009）。ラットにおける総放射能の主な排泄経路は肝臓を介した経路であった。無処置ラットでは、投与後 168 時間までに投与放射能の 79.4%が糞中に排泄され、胆管カニュレーション処置ラットでは、投与後 48 時間までに投与放射能の 66.1%が胆汁中、5.2%が糞中に排泄された。いずれの群においても、放射能の尿中排泄率は投与量の約 20%であったことから、ロミデプシン及び関連代謝物の肝クリアランスが最も重要な消失経路であることが示唆された。

1.5. 薬物相互作用

ロミデプシンは CYP 酵素阻害剤と考えられ（CRD030209 及び ROMI-DMPK-1479）、30 µmol/L 以上の濃度で CYP3A4、2C19、2D6、2B6 及び 2C8 を阻害した。しかし、臨床における平均 C_{max} の約 10 倍高濃度である 10 µmol/L で、ロミデプシンはいずれの CYP 酵素の活性も阻害しなかった。このことからロミデプシンは臨床濃度において CYP 酵素阻害による薬物相互作用を起こさないと考えられた。ヒト培養肝細胞をロミデプシン（0.5～10 µmol/L）で 2 日間連続処理しても、CYP2B6 及び CYP3A4/5 の酵素活性及び mRNA 発現は誘導されなかった。ロミデプシンは CYP1A2 に対して弱い誘導作用（陽性対照の 10%未満）を示したが、それは臨床的には問題にならないと予想された（ROMI-DMPK-001）。

In vitro 試験において、ロミデプシンは BCRP、BSEP、MRP2、OAT1、OAT3、OATP1B1、及び OCT2 の基質ではなかった（ROMI-DMPK-1442）。ヒト凍結肝細胞へのロミデプシンの時間依存的、温度依存的取り込みが認められ、ロミデプシンの OATP 以外の能動的肝取り込みの関与が示された。ロミデプシンは BCRP、MRP2、MDR1、及び OAT3 の阻害剤ではなかった。ロミデプシンは OAT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、及び BSEP を臨床濃度の 1 µmol/L では阻害しなかったが、10 µmol/L では軽度の阻害が認められた。

2. 分析法

イヌ及びラット血漿試料中のロミデプシンを測定するため、2 種類の分析法を開発した。当初は、紫外線（UV）検出器を用いる HPLC 法（定量範囲：0.2～6 µg/mL）を使用した。その後、分析感度を上げるため、検出器としてタンデム質量分析計を用いる HPLC（LC/MS/MS）法（定量下限：0.5 ng/mL）を開発し、イヌ及びラット血漿試料でバリデーションを行った。

生体試料中のロミデプシン及び[^{14}C]-ロミデプシンの代謝を評価するために使用した方法の詳細については、試験報告書 CRD040010 及び CRD040013 に示す。これらの方法のバリデーションは行わなかった。

分析法の一覧及び関連する報告書を Table 2 に示す。

Table 2:　分析法

説明	試験番号	添付資料
HPLC（HPLC/UV）法による血漿中ロミデプシン（環状ペプチド）濃度の測定	ACD-3234A	4.2.2.1.1
高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（LC/MS/MS）法によるラット血漿中ロミデプシン（FK228）濃度の測定	[redacted]066391	4.2.2.1.2
高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（LC/MS/MS）法によるイヌ血漿中ロミデプシン（FK228）濃度の測定	[redacted]036481	4.2.2.1.3
ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを投与したときの血漿、胆汁、尿及び糞中代謝物の分離及び分析に使用した分析法の詳細	CRD040010	4.2.2.1.5
ラット／ヒト肝ミクロソームとのインキュベーション試料、及びロミデプシンを投与したラット胆汁中のロミデプシン代謝物の分析に使用した分析法の詳細	CRD040013	4.2.2.1.6
LC/MS/MS 法でラット血漿中ロミデプシン濃度を測定するためのパーシャルバリデーション	ROMI-DMPK-003	4.2.2.1.4

2.1. 血漿中のロミデプシン；HPLC 分析

［試験番号 ACD-3234A、添付資料 4.2.2.1.1、評価資料］

動物試験におけるロミデプシンの動態を検討するため、米国国立がん研究所（NCI）によって血漿中ロミデプシン濃度を測定するための分析法が開発された。なお、この方法では、HPLC/UV（215 nm）を使用した。

血漿 500 µL に内標準物質（N-tert-butoxycarbonyl-L-glutamic acid alpha-benzyl ester）の 0.1 mg/mL のアセトニトリル：水（20:80）の混合溶液 25 µL、アセトニトリル：水（1:1）の混合溶液 60 µL 及び飽和 NaF 溶液（NaF として約 50 mg）500 µL を添加した後、酢酸エチル 3 mL を加えて 10 分間振とうして抽出した。遠心（1800-2500 rpm で 10 分間）後、有機層を採取し、30ºC で窒素気流下溶媒留去した。残渣を移動相（アセトニトリル：5 mM 硫酸テトラブチルアンモニウム＝36：64）300 µL で再溶解し、0.2 µm Acrodisc® LC-13 フィルターを通してろ過した。この溶解試料 110 µL をアイソクラティック HPLC/UV システムを用いて分析した。この分析法の検量線の定量範囲は 0.2～6 µg/mL であり、非臨床試験におけるロミデプシンの血漿中濃度推移を詳細に評価するには感度が不十分であった。

2.2. 高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法によるラット血漿中ロミデプシン濃度定量法のバリデーション

［試験番号 [redacted]066391、添付資料 4.2.2.1.2、評価資料］

ラット血漿中のロミデプシン濃度を測定するための LC/MS/MS 法について、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準」（平成 9 年 3 月 26 日厚生省令第 21 号）及び「医薬品の臨床薬物動態試験」（平成 13 年 6 月 1 日医薬審発第 796 号）に従ってバリデーションを行った。

ラット血漿試料に内標準物質（IS）（Boc-Met-Leu-Phe-OH）を添加し、酢酸エチルを用いてロミデプシン及び IS を抽出した。遠心後、有機層を採取し、40ºC で窒素気流下溶媒留去した。残渣に移動相（メタノール：12 mmol/L 酢酸アンモニウム：アセトニトリル＝60：30：10、v/v/v）100 µL に再溶解した。この試料 20 µL を、Spherisorb® S5 C8 カラム（内径 4.6 mm × 50 mm、Waters 社）を装着した LC/MS/MS システムに注入し、ポジティブイオンを用いる多重反応モニタリングモード（ロミデプシン：m/z 541→272、IS： m/z 510→217）により、ロミデプシン及び IS を検出した。

本分析法のバリデーション結果を以下に記載した。

- 雌雄各 3 例のラットから採取した試料を分析することにより選択性を確認した。ロミデプシン及び IS の溶出位置に妨害ピークは認められなかった。
- 検量線は 0.5～500 ng/mL の濃度範囲内で 3 日間にわたり良好な直線性を示した。相関係数（r）は 0.999644～0.999992 の範囲で判定基準を満たした。相対誤差（%RE）は定量下限で-17.8～ +2.4%、その他の濃度で-9.3～+8.0%であり、バリデーションの判定基準を満たした。
- 日内再現性（intra-assay repeatability）は判定基準を満たした。なお、精度基準は変動係数（%CV）に基づいて、真度基準は%RE に関連して設定した。検討した濃度（0.5～400 ng/mL）における%CV は 2.0～5.9%、%RE は-8.6～1.8%の範囲であった。また、日間再現性（inter-assay reproducibility）も判定基準を満たした。平均%CV は定量下限で 11.4%、その他の濃度で 5.2～6.8%であり、平均%RE は-3.3%～-1.8%の範囲であった。ラット血漿 100 µL を用いたときのロミデプシンの定量下限は 0.5 ng/mL であった。
- 濃度範囲 1～400 ng/mL におけるロミデプシンの平均回収率は 89.7～96.2%、固定濃度における IS の回収率は 87.1%であった。
- 安定性試験において、ラット血漿中のロミデプシンは、3 回の凍結（-80°C）融解、室温で 1 時間及び-80°C で 1 ヵ月間（30 日間）保存で安定であった。また、前処理試料中のロミデプシンは 4°C で 48 時間安定であった。ラットのブランク血漿で希釈しても測定に影響はなかった。

結論として、本試験により、ラット血漿中のロミデプシン濃度定量法の妥当性が確認された。

2.3. 高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法によるイヌ血漿中ロミデプシン濃度定量法のバリデーション

［試験番号 [redacted]036481、添付資料 4.2.2.1.3、評価資料］

イヌ血漿中のロミデプシン濃度を測定するための LC/MS/MS 法を開発し、GLP 省令及び医薬品の臨床薬物動態試験通知に従ってバリデーションを行った。イヌ血漿中のロミデプシン濃度を測定する際の信頼性を保証するため、本 LC/MS/MS 法のバリデーションを実施した。

イヌ血漿試料にリン酸緩衝液（pH 4.0）及び IS（Boc-Met-Leu-Phe-OH）溶液を添加し、酢酸エチルを用いてロミデプシン及び IS を抽出した。遠心後、有機層を採取し、40ºC で窒素気流下溶媒留去した。残渣に移動相（メタノール：12 mmol/L 酢酸アンモニウム：アセトニトリル＝60：30：10、v/v/v）100 µL を添加して再溶解した。この試料 20 µL を、Spherisorb® S5 C8 カラム（内径 4.6 mm × 50 mm、Waters 社）を装着した LC/MS/MS システムに注入し、ポジティブイオンを用いる

多重反応モニタリングモード（ロミデプシン：m/z 541→272、IS：m/z 510→217）により、ロミデプシン及び IS を検出した。

本分析法のバリデーション結果を以下に記載した。

- 雌雄各 3 例のイヌから採取した血漿試料を分析することにより選択性を確認した。ロミデプシン及び IS の溶出位置に妨害ピークは認められなかった。
- （3 日間にわたり）検量線は 0.5～500 ng/mL の濃度範囲で良好な直線性を示した。相関係数（r）は 0.999089～0.999680 の範囲で、判定基準を満たした。%RE は-11.8～+14.3%と判定基準を満たした。
- 日内再現性及び日間再性は判定基準を満たした。なお、精度基準は%CV に基づいて、真度基準は%真度として表した。検討したロミデプシン濃度範囲（0.5～400 ng/mL）を通して、3 日間にわたり測定した真度は 93.5～110.9%の範囲であり、%CV は 1.4～9.9%であった。イヌ血漿 100 µL を用いたときのロミデプシンの定量下限は 0.5 ng/mL であった。
- 濃度範囲 1～400 ng/mL におけるロミデプシンの平均回収率は 89.9～93.6%、固定濃度 100 ng/mL における IS の回収率は 91.6%であった。
- 安定性試験において、イヌ血漿中のロミデプシンは、3 回の凍結（-20 ± 5°C）融解、室温で 4 時間及び-20 ± 5°C で 1 ヵ月間（31 日間）の保存で安定であった。また、イヌ全血液中のロミデプシンは氷冷下で 4 時間安定であったが、37°C では不安定であった。また、前処理後のロミデプシンは 4°C で 48 時間安定であった。イヌのブランク血漿で 10 倍希釈しても測定に影響はなかった。

結論として、本試験により、イヌ血漿中のロミデプシン濃度定量法の妥当性が確認された。

2.4. 高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法によるラット血漿中ロミデプシン濃度定量法のパーシャルバリデーション

［試験番号 ROMI-DMPK-003、添付資料 4.2.2.1.4、評価資料］

ラット血漿中のロミデプシン濃度を測定するための LC/MS/MS 法について、米国連邦規則集（CFR）タイトル 21、パート 58 に明記されている米国食品医薬品局（FDA）の「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準（GLP）」及び FDA の業界向けガイダンス「生物学的分析法のバリデーション」（2001 年 5 月）に従ってパーシャルバリデーションを行った。

ROMI-DMPK-003 で、バリデーションされた [redacted]066391 の方法に基づいてパーシャルバリデーションを行った。ラット血漿試料（50.0 µL）に内標準物質（Boc-Met-Leu-Phe-OH）を添加し、液-液抽出法により処理した後、検出器としてエレクトロスプレーイオン化（ESI）MS/MS を接続した逆相 HPLC 法を用いて分析した。ロミデプシン及びその内標準物質のポジティブイオンを MRM モードでモニターした。ロミデプシンは Phenomenex HyperClone™ BDS C8 カラム（50 × 2.0 mm、5 µm、130Å）を用いて分離した。分析時間は 6.0 分で、ロミデプシン及び Boc-Met-Leu-Phe-OH の保持時間はそれぞれ、約 3.1 分及び 3.4 分であった。標準試料の定量対象物質と内標準物質のピーク面積比を用い、最小二乗法（重み；$1/x^2$）により、検量線を作成した。凍結／融解を 5 回繰り返したラット血漿中におけるロミデプシンの安定性、並びに氷冷下に 2 時間放置した血液及び血漿中におけるロミデプシンの安定性試験を実施した。さらに、システム適合性により堅牢性を評価した。

本分析法のバリデーション結果を以下に記載した。

- IS を含まない 6 個体のラットのブランク血漿（ダブルブランク）及び IS を含む 6 個体のラットのブランク血漿（コントロールブランク）を分析することにより、選択性を評価した。また、同じ 6 個体のラットのブランク血漿にロミデプシン（LLOQ）及び IS（0.500 ng/mL）を添加し分析した。ロミデプシン又は IS の分析を妨害するピークは認められず、LLOQ の精度（%CV）はいずれの個体も 20%をこえなかった。
- ロミデプシンの検量線は 0.500～500 ng/mL の濃度範囲内で直線性を示した。また、検量線用標準試料を分析したときの日間再現性の真度は-0.60～5.60%及び精度は 1.01～4.29%と判定基準を満たした。
- 再現性を確認するため、検量線範囲内の 4 濃度の QC 試料を分析し、本分析法の精度（%CV）及び真度（%RE）を求めた。3 回の分析を行ったときの日内再現性での精度は 4.11%以下及び真度は-10.50～9.40%、並びに日間再現性の精度は 6.39%以下及び真度は-6.00～4.50%であった。
- バリデーションの中で、2 検体の高濃度標準試料を注入後にダブルブランク試料を注入してキャリーオーバーを評価した。定量対象物質のキャリーオーバーの平均値は、ロミデプシンの LLOQ のピーク面積の 0.00%であり、判定基準である 20.0%の範囲内であった。
- 安定性試験において、ロミデプシンは凍結／融解を 5 回繰り返したラット血漿中、及びラット血液及び血漿中で氷冷下で 2 時間、並びに凍結（-70°C）保存で 47 日間安定であった。

結論として、本試験により、ラット血漿中のロミデプシン濃度定量法の妥当性が確認された。

3. 吸収

ラット及びイヌを用いた複数の試験でロミデプシンの血漿中濃度を評価した。これらの試験を Table 3 に示す。

ロミデプシンは臨床で持続静脈内投与される予定である。したがって、血管外投与経路による吸収は評価しなかった。

Table 3:　ロミデプシンを用いて実施した薬物動態試験

表題	動物種／系統	試験番号	添付資料
FR901228 の動態試験　ラットにおける単回静脈内投与後の分布および排泄	ラット／SD（IGS）	CRD040009	4.2.2.2.1
ラットにロミデプシンを 26 週間静脈内投与毒性試験	ラット／SD	501650	4.2.2.2.2
FR901228 のビーグル犬を用いた 4 時間持続静脈内投与による血漿中薬物濃度測定	イヌ／ビーグル	GLR040231	4.2.2.2.3
イヌにおけるロミデプシンの PK 及び用量設定	イヌ／ビーグル	[redacted]2-6464-XCV	4.2.2.2.4
イヌにロミデプシンを 1 時間持続静脈内投与したときの PK 及び用量設定	イヌ／ビーグル	[redacted]3-6464-XCVI	4.2.2.2.5

3.1. ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与したときの放射能の分布及び排泄

［試験番号 CRD040009、添付資料 4.2.2.2.1、参考資料］

本試験の目的は、[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与したときの放射能の血漿中濃度、組織内分布、並びに尿、糞、胆汁及び呼気中排泄を評価することであった。総放射能の血漿中濃度の結果について本項で要約し、組織内分布の結果は 2.6.4.4.1 項、排泄の結果は 2.6.4.6.1 項に示す。

1 群 3 例の雄ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを 0.3 mg/kg の用量で、並びに 1 例の雄ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを 1.0 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。コード番号 6710 の放射化学的純度は 98%以上、化学的純度は 96.4%であった。

0.3mg/kg 投与の場合、ラットの投与時の体重は 254.1～312.0 g であった。各動物に 5.0 mL/kg の容量を尾静脈内ボーラス投与した。ロミデプシンは、エタノール及びプロピレングリコール（1：4）混合液に溶解した後、生理食塩液で 1：10 に希釈して使用した。

投与後 5、15、30 分及び 1、2、4、6、8、24、48、72、144、168 時間に血液を採取した。0.3 mg/kg 投与群の動物から採取した各血液を 2 検体に分け、そのうち 1 検体を処理して血漿を得た。血液及び血漿試料を処理し、シンチレーションカウンターで放射能濃度を測定した。1.0 mg/kg 投与群から採取した血液については、血漿用の処理は行わなかった。

[^{14}C]-ロミデプシンを 0.3 mg/kg（28.6 μCi/kg）の用量で静脈内ボーラス投与したとき、血漿及び血液中の放射能濃度は最初の採血時点である投与後 5 分が最も高かった。放射能の血漿中濃度の平均値は 277 ng eq./mL 及び血液中の平均濃度は 412 ng eq./mL であった。血漿及び血液中総放射能濃度は多次元指数関数的に低下し、投与後 1 時間では血漿及び血液中放射能濃度は、投与後 5 分の約 27%に低下した。放射能濃度の終末相の消失半減期は、血漿中で 13.2 時間、血液中で 66.9 時間であった。総放射能濃度の AUC_{∞}は、血漿が 484 ng eq.·h/mL 及び血液が 2550 ng eq.·h/mL であった。血漿中放射能度に対する血液中放射能濃度の比は、投与後 2 時間までは 1.19～1.90 であったが、投与後 4 時間では 3.06、投与後 48 時間では 10.6 と経時的に上昇した。その後の時点については、血漿中放射能濃度が定量下限未満となり、算出できなかった。

動物 1 例に 1.0 mg/kg（95.3 μCi/kg）の用量で静脈内投与したとき、血液中放射能濃度は最初の採血時点である投与後 5 分が最も高く、2552 ng eq./mL であった。投与後 15 分では放射能濃度は投与後 5 分の 35.6%に低下し、投与後 8 時間では 5 分値の 5.6%であった。投与後 168 時間の濃度は 8.7 ng eq./mL であった。

結論として、[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与したとき、血液及び血漿中総放射能濃度は最初の採血時点で最も高く、その後速やかに消失した。8～48 時間の消失半減期は血液（19.6 時間）に比べて血漿（13.2 時間）で短く、血液／血漿中総放射能濃度比は投与後 48 時間まで経時的に上昇したが、その後は血漿中放射能濃度が定量下限未満となり、算出できなかった。

3.2. ラットにロミデプシンを 26 週間静脈内ボーラス投与したときの血漿中濃度の測定

［試験番号 501650、添付資料 4.2.2.2.2、評価資料］

本試験の目的は、ラットにロミデプシンを月 3 回の頻度で 26 週間にわたり静脈内ボーラス投与したときの毒性及び TK の評価であった。

1 群雌雄各 10 例のラットにロミデプシン又は溶媒を尾静脈内低速ボーラス投与し、TK を評価した。投与は Day 1、8、15、29、36、43、57、64、71、85、92、99、113、120、127、141、148、155、169 及び 176 に実施した。TK で用いたラットは約 6 週齢で投与開始し、その時の体重は雄 187～235 g、雌 141～176 g であった。

計画時のロミデプシン投与量は 0.1、0.33 及び 0.67 mg/kg であったが、最高用量群の全例における最初の 2 回の投与時の忍容性が良好であったことから、Day 15 以降、最高用量を 0.67 mg/kg から 1.0 mg/kg に増量した。溶媒は 2%エタノール／98%注射用生理食塩液（v/v）で、投与容量はすべての群で 5 mL/kg とし、各動物の最新の体重から投与量を計算した。

Day 1 及び Day 176 の投与後 10 分及び 0.5、1、2、4、6 時間に、各時点 1 群雌雄各 3 例の TK 評価用動物から血液試料（ヘパリンナトリウム処理血液約 0.5 mL）を採取した。血液試料は頸静脈から採取し、各動物から採取日毎に最大 2 回採血した。試料は直ちに氷冷し、遠心（2700 rpm、4℃、10 分間）した。血漿試料はドライアイスで輸送時まで凍結保存（-80℃）し、ドライアイス同梱で指定されたスポンサーに送付した。

血漿中ロミデプシン濃度は、バリデートされた LC/MS/MS 法を用いて測定し、この分析法の定量下限は 0.5 ng/mL であった（[redacted]066391）。この血漿中濃度データを用いて、CRL Preclinical Services Montreal Inc.でノンコンパートメント法による PK 解析を行い、t_{max}、C_{max}、AUC_{last}、k_{el} 及び $t_{1/2el}$ を算出した。解析には WinNonlin（バージョン 3.2fs、Pharsight Corp.、米国、カリフォルニア州、マウンテンビュー）を使用し、血管外投与用のノンコンパートメントモデルを用いて、報告された濃度に基づいて実施した。

定量下限未満の血漿中濃度、測定できる試料がない場合は評価の際に 0 として処理した。血漿中濃度データは各時点で異なる動物から得られたものであるため、平均値を用いて各群の TK プロファイルを作成した。平均採血時間が目標時間から 10%以上（又は 6 分以上）逸脱している場合、解析には、実際の平均採血時間を使用した。

Day 1 及び Day 176 の血漿中濃度の測定で得られたロミデプシンの C_{max} は、概ね投与用量の増加に伴って高くなった（Table 4 ）。血漿の C_{max} は、低用量群で 9.5～19.2 ng/mL、中用量群で 37.1～129 ng/mL、高用量群の Day 1（0.67 mg/kg 投与）で 60.7 ng/mL（雄）及び 93.0 ng/mL（雌）、Day 176（1.0 mg/kg 投与）で 377 ng/mL（雄）及び 362 ng/mL（雌）であった。

Table 4:　試験 501650 におけるロミデプシンの TK パラメータ（平均値）

Day	投与量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·h/mL)	t_{last} (h)
1	0.1	13.7	2.13	0.5
1	0.33	45.1	9.83	1.5
1	0.67	76.9	17.9	3.0
176	0.1	19.1	4.69	1.0
176	0.33	111	24.6	3.0
176	1.0	370	80.1	6.0

すべての群及び両採血日において、時間 0 の血漿中濃度を外挿し AUC_{last} を算出した。Day 1 及び Day 176 の AUC_{last} も、概ね用量増加に伴って増加した。AUC_{last} は、低用量群で 1.76～5.16 ng·h/mL、中用量群で 7.96～28.7 ng·h/mL、高用量群の Day 1（0.67 mg/kg 投与）で AUC_{last} は 17.0 ng·h/mL（雄）及び 18.7 ng·h/mL（雌）、Day 176（1.0 mg/kg 投与）で AUC_{last} は 86.9 ng·h/mL（雄）及び 73.2 ng·h/mL（雌）であった。

C_{max} 及び AUC_{last} に明白な性差は認められなかった。

用量で補正した曝露量パラメータ（C_{max} 及び AUC_{last}）を用いて、用量比例性を評価した。Day 1 及び Day 176 のいずれについても、曝露量は用量に比例して増加した。

また、C_{max} 及び AUC_{last} を用いて、反復投与後に曝露量が変化するかどうか評価した。ロミデプシンの曝露量は、C_{max} 及び AUC_{last} のいずれで評価した場合にも、すべての群で Day 1 に比べて Day 176 で高い値を示した。

結論として、ロミデプシンを単回投与及び月 3 回の頻度で 6 ヵ月間投与したときの曝露量は、性別に関係なく、概ね用量に比例して増加し、反復投与による薬物動態の変化によって AUC_{last} が上昇することが示唆された。

3.3. イヌにロミデプシンを 4 時間持続静脈内投与したときの血漿中濃度の測定

［試験番号 GLR040231、添付資料 4.2.2.2.3、評価資料］

本試験の目的は、イヌにロミデプシンを 4 時間持続静脈内投与したときのロミデプシンの薬物動態を評価することであった。

1 群雌雄各 3 例のイヌに、橈側皮静脈よりロミデプシンを 0.3 mg/kg 又は 1.0 mg/kg の用量で 4 時間単回持続静脈内投与した。投与開始時のイヌは 6 ヵ月齢であり、体重は雄 7.3～8.6 kg、雌 6.8～8.3 kg であった。

この試験では、ロミデプシン原薬ロット 201102L を使用した。各動物には、投与速度 2 mL/kg/h で 4 時間かけて静脈内投与した。ロミデプシンはエタノール及びプロピレングリコール（1：4）の混合液に溶解した後、生理食塩液で 1：100 に希釈した。

各動物から持続投与開始後 1、2、4（持続投与終了直前）、4.25、4.5、5、6、8、10 及び 24 時間に血液試料 1 mL を採取した。血液を処理して血漿を採取し、定量下限 0.5 ng/mL のバリデートされた LC/MS/MS 法（[redacted]036481）を用いて、血漿中ロミデプシン濃度を測定した。

両用量群の各動物の血漿中ロミデプシン濃度は、持続投与開始後から上昇し、投与開始後 1～2 時間に最高値に達した（Table 5 ）。0.3 mg/kg 投与群の C_{max} 平均値は、雄で 48.8 ng/mL、雌で 43.3 ng/mL であり、1.0 mg/kg 投与群の C_{max} 平均値は、雄で 218 ng/mL、雌で 146 ng/mL であった。C_{max} 平均値は用量 0.3 mg/kg から 1.0 mg/kg にかけて、用量にほぼ比例して上昇すると考えられた。4 時間の持続静脈内投与終了後、血漿中ロミデプシン濃度は速やかに低下し、いずれの用量でも、大部分の動

物で投与開始後 10 時間までに定量下限（0.5 ng/mL）未満に低下した。持続投与開始後から最終濃度測定可能時点までの AUC の平均値は、0.3 mg/kg 投与群の雄及び雌でそれぞれ 163 ng·h/mL 及び 143 ng·h/mL、1.0 mg/kg 投与群の雄及び雌でそれぞれ 671 ng·h/mL 及び 454 ng·h/mL であった。

Table 5:　試験 GLR040231 におけるロミデプシンの薬物動態パラメータ

性別	投与量 (mg/kg/4h)	t_{max} 平均値 (h)	C_{max} 平均値 (ng/mL)	AUC_{last} 平均値 (ng·h/mL)
雄	0.3	1.0	48.8	163.4
	1.0	1.0	218	670.9
雌	0.3	1.7	43.3	143.2
	1.0	1.3	146	454.4

結論として、4 時間の持続投与中、血漿中ロミデプシン濃度は投与開始後 1～2 時間までに最高値に達し、曝露量は用量にほぼ比例すると考えられた。持続投与終了後、血漿中ロミデプシン濃度は速やかに低下した。

3.4. イヌにおけるロミデプシンの薬物動態及び用量設定

［試験番号 [redacted]2-6464-XCV、添付資料 4.2.2.2.4、参考資料］

本試験の目的は、イヌにロミデプシンを反復静脈内投与したときの薬物動態を明らかにし、その毒性を評価することであった。

1 群当たり雌雄各 1～2 例のイヌに、ロミデプシンを Day 1、12 及び 19 に 0、0.5、1.0 及び 2.0 mg/kg の用量で静脈内投与した。Day 1 は、投与容量を 1 mL/kg とし、約 30 秒間で静脈内ボーラス投与した。Day 12 には、投与容量 4 mL/kg、投与速度 10 mL/min、総投与時間約 4 分で静脈内投与した。Day 19 には、投与速度 2 mL/kg/h で 1 時間持続静脈内投与した。投与開始時のイヌは約 8～11 ヵ月齢であり、投与開始前の体重は雄 7.2～9.4 kg、雌 7.0～8.4 kg であった。

ロミデプシンをエタノール及びプロピレングリコール（1：4）混合液に溶解した後、生理食塩液でさらに希釈した。

ロミデプシンの投与 1 日（30 秒間ボーラス投与）及び投与 19 日（1 時間持続投与）の投与前並びに投与終了後 2、5、10、20、30、60、90、120 分、及び 4、6、8、12 時間に PK 用の血液試料を採取した。血液を処理して血漿を採取し、定量下限 0.1 µg/mL の HPLC/UV 法（検出波長 215 nm）（ACD-3234）を用いて、血漿中ロミデプシン濃度を測定した。

血漿中ロミデプシン濃度は、ボーラス投与又は 1 時間持続投与のいずれで静脈内投与するかに関係なく、最初の採血時点である投与終了後 2 分に最高値を示した。すべての用量及び投与方法において、血漿中濃度は投与終了後 30 分までに定量下限未満に低下した。ボーラス投与後（Day 1）の最高血漿中濃度に明白な用量依存性は認められず、検討した用量を通して 1.2～3.8 µg/mL の範囲であった。1 時間持続静脈内投与後（Day 19）の最高血漿中濃度は、検討した用量を通して 0.27～0.47 µg/mL の範囲であった。

結論として、最高血漿中ロミデプシン濃度は、静脈内ボーラス投与後に比べて 1 時間持続静脈内投与後の方が低く、その後、いずれの投与方法についても、血漿中濃度は急速に低下した。血漿中ロミデプシン濃度の定量に使用した分析法の感度は、この曝露レベルでの血漿中濃度を測定するには不十分であった。

3.5. イヌにロミデプシンを 1 時間持続静脈内投与したときの薬物動態及び用量設定

［試験番号 [redacted]3-6464-XCVI、添付資料 4.2.2.2.5、評価資料］

本試験の目的は、イヌにロミデプシンを週 1 回又は週 2 回の頻度で 4 週間にわたり 1 時間持続静脈内投与したときの毒性を評価するとともに、血漿中濃度を明らかにすることであった。

1 群当たり雌雄各 1 例のイヌそれぞれに、ロミデプシンを週 2 回、0 mg/kg、0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg の用量で 4 週間、及び週 1 回、0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg の用量で 4 週間にわたり静脈内投与した。各投与は橈側皮静脈又は伏在静脈より 1～1.5 時間持続投与した。投与開始時のイヌは約 8～10 ヵ月齢であり、投与開始前の体重は雄 8.4～10.1 kg、雌 6.8～9.8 kg であった。

ロミデプシンをエタノール及びプロピレングリコール（1：4）混合液に溶解した後、ロミデプシン溶液：生理食塩液（11.4：88.6）の比率で混和することにより、さらに希釈した。

初回投与日（Day 1）及び最終投与日（Day 22 又は Day 25）の投与前並びに持続投与終了後 2、5、10、20、30、60、90、120 分、及び 4、6、8、12 時間に PK 用の血液試料を採取し、血液を処理して血漿を採取した。初期試験で採取した試料において、投与終了後の非常に早い時点のみでロミデプシン濃度が定量可能であったことから、投与終了後 2 分の試料のみについて、定量下限 0.1 µg/mL の HPLC/UV 法（検出波長 215 nm）（ACD-3234A）を用いて、血漿中ロミデプシン濃度を測定した。

初回投与及び最終投与のいずれについても、投与終了後 2 分に採取した血漿試料中のロミデプシン濃度は、すべての投与量において 0.25～1.55 µg/mL の範囲であった。

4. 分布

ラットにおけるロミデプシンの組織内分布を評価するとともに、血漿タンパク結合及び血球移行性について in vitro で評価した。これらの試験を Table 6 に示した。

Table 6:　ロミデプシンを用いて実施した分布試験

表題	動物種／系統	試験番号	添付資料
FR901228 の動態試験　ラットにおける単回静脈内投与後の分布および排泄	ラット／SD（IGS）	CRD040009	4.2.2.3.3
非臨床薬物動態：ラット、イヌ及びヒト血清並びにヒト血漿における FR901228 の in vitro 蛋白結合	In vitro Crj:CD（SD）IGS 系ラット、雄ビーグル犬、ヒト男性由来の血清 ヒト男性由来の血漿	CRD040011	4.2.2.3.1
非臨床薬物動態：ラット、イヌ及びヒトにおける FR901228 の in vitro での血球移行性	In vitro Crj:CD（SD）IGS 系ラット、雄ビーグル犬、ヒト男性由来の血液	CRD040012	4.2.2.3.2

4.1. ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与したときの放射能の分布及び排泄

［試験番号 CRD040009、添付資料 4.2.2.3.3、参考資料］

本試験の目的は、[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与したときの放射能の血漿中濃度、組織内分布、並びに尿、糞、胆汁及び呼気中排泄を評価することであった。組織内分布の結果を本項に要約して示し、血漿中濃度の結果は 2.6.4.3.1 項、排泄の結果は 2.6.4.6.1 項に示した。

1 群当たり 3 例の雄ラットに用量 0.3 mg/kg（28.6 μCi/kg）の[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与した。投与時の体重は 254.1～312.0 g であった。

使用した[^{14}C]-ロミデプシンの放射化学的純度は 98%以上、化学的純度は 96.4%であった。各動物に尾静脈を介して、投与容量 5.0 mL/kg で静脈内ボーラス投与した。ロミデプシンはエタノール及びプロピレングリコール（1：4）混合液に溶解した後、生理食塩液でさらに 1：10 に希釈した。

放射性標識ロミデプシンを投与した後、1 群当たり 3 例のラットから投与後 5 分（0.083 時間）及び 4、24、168 時間に血液を採取し、その後、安楽死させたラットから、大脳、小脳、脳下垂体、脳幹（延髄を含む）、眼球、顎下腺、甲状腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、膵臓、大腿骨、骨髄、腸間膜リンパ節、膀胱、前立腺、精巣、皮膚、筋肉、白色脂肪、褐色脂肪及び消化管の一部（内容物を含まない胃、空腸、回腸及び結腸）を摘出し、総放射能量を測定した。組織／器官重量を測定した後、水を加えて個別にホモジナイズし、シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

採取した一部の組織／器官の平均放射能濃度を Table 7 に示した。

採取したすべての組織／器官において、投与後 5 分における放射能濃度は、その後の時点における放射能濃度に比べて高かったが、例外として、回腸中濃度は投与後 4 時間に最高値に達した。投与後 5 分における組織中放射能濃度は腎臓（2190 ng eq./g）で最も高く、その時点における血漿中放射能濃度に比べて約 8 倍高かった。この次に放射能濃度が高かったのは膀胱、空腸、肝臓及び副腎であり、組織／血漿中放射能濃度比は 2.15～2.76 の範囲であった。対照的に、脳、精巣、白色脂肪、眼球及び大腿骨の投与後 5 分における組織／血漿中放射能濃度比は非常に低く、0.28 以下であ

った。採取したその他の組織／器官中放射能濃度の血漿中濃度に対する比は 0.45～1.79 の範囲であり、血漿中放射能濃度と同程度であった。

投与後 4 時間に採取した組織／器官中放射能濃度の血漿中濃度に対する比はすべて 1.01～13.86 の範囲であったが、例外は脳、眼球及び精巣であり、この時点における眼球及び精巣中濃度の血漿中濃度に対する比はそれぞれ、0.71 及び 0.76 であり、脳中放射能濃度は検出限界未満であった。

投与後 24 時間に採取した組織／器官中放射能濃度の血漿中濃度に対する比はすべて、投与後 4 時間に比べて高く、組織／器官からの放射能の消失は血漿からの消失に比べて緩徐であることが示された。投与後 168 時間における胸腺、脳下垂体、脾臓、精巣及び腸間膜リンパ節の放射能濃度は、投与後 5 分における最高濃度の 11.9～21.5%であった。投与後 168 時間におけるその他の組織／器官中放射能濃度は、投与後 5 分における最高濃度の 10%未満であった。血漿中放射能濃度が検出限界未満であったことから、投与後 168 時間における血漿中濃度に対する比は計算できなかった。投与後 168 時間には、脳、白色脂肪及び前立腺に放射能は検出されなかった。

結論として、回腸を除いて、組織／器官中放射能濃度は投与後 5 分に最高値を示した。投与後 4 時間までに、組織／器官中放射能濃度は血漿中濃度に比べて高くなったが、例外は脳、眼球及び精巣であり、血漿からの放射能の消失は、大部分の組織／器官からの消失に比べて速やかであることが示された。投与後 168 時間までに、組織／器官中放射能濃度はすべて、投与後 5 分値に比べて明らかに低くなった。

Table 7:　ラットに 0.3 mg/kg の[^{14}C]-ロミデプシンを静脈内ボーラス投与したときの組織及び器官中平均放射能濃度

組織／器官	放射能濃度（ng eq./g 又は mL）			
	5 分	4 時間	24 時間	168 時間
血漿	276.5 ± 18.5 (1.00)	23.1 ± 0.7 (1.00)	2.6 ± 0.0 (1.00)	ND
全血	412.0 ± 27.5 (1.48)	71.0 ± 3.7 (3.06)	25.7 ± 1.8 (9.49)	2.4 ± 0.1 (NC)
大脳	9.0 ± 0.6 (0.03)	ND	ND	ND
小脳	10.2 ± 1.3 (0.03)	ND	ND	ND
脳幹	6.9 ± 0.6 (0.02)	ND	ND	ND
心臓	489.6 ± 14.2 (1.77)	73.8 ± 2.5 (3.18)	25.2 ± 0.4 (9.29)	1.5 ± 1.5 (NC)
肺	496.1 ± 14.7 (1.79)	149.8 ± 3.5 (6.46)	60.8 ± 1.7 (22.39)	9.8 ± 1.2 (NC)
肝臓	663.7 ± 64.3 (2.44)	126.2 ± 2.4 (5.45)	58.2 ± 1.3 (21.43)	14.2 ± 0.8 (NC)
腎臓	2187.3 ± 110.3 (8.03)	194.9 ± 3.5 (8.42)	80.6 ± 4.2 (29.74)	12.0 ± 0.7 (NC)
皮膚	128.2 ± 10.3 (0.46)	61.8 ± 4.7 (2.67)	29.5 ± 0.9 (10.86)	6.3 ± 1.2 (NC)
前立腺	215.0 ± 43.3 (0.76)	57.8 ± 1.5 (2.49)	38.3 ± 0.4 (14.14)	ND
骨髄	313.0 ± 9.7 (1.13)	250.1 ± 9.0 (10.78)	119.9 ± 4.7 (44.11)	7.7 ± 0.5 (NC)
腸間膜リンパ節	229.2 ± 13.1 (0.84)	206.5 ± 8.9 (8.89)	132.5 ± 10.4 (48.68)	49.2 ± 3.1 (NC)

値はラット 3 例の平均値±標準誤差を示す。
ND：検出せず。
( )：組織中濃度／血漿中濃度比
NC：血漿中放射能濃度が検出限界未満であったため、組織中濃度/血漿中濃度比は計算不能。

4.2. ラット、イヌ、ヒト血清及びヒト血漿に対するロミデプシンの in vitro タンパク結合

［試験番号 CRD040011、添付資料 4.2.2.3.1、参考資料］

本試験の目的は、ラット、イヌ及びヒト血清、並びにヒト血漿中のロミデプシンのタンパク結合率を測定するとともにヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質に対する結合率を評価することであった。雄ラット 5 例、雄イヌ 3 例及び健康男性被験者 4 例から採取した血清を使用した。血漿は血清と同じ 4 例の健康男性被験者から採取した。

[^{14}C]-ロミデプシンをアセトニトリルに溶解し、最終ロミデプシン濃度が 50 ng/mL、500 ng/mL 及び 5000 ng/mL となるように、0.2%ロミデプシン溶液／98.8%血清又は血漿の比率で混合した。ヒト血清又は血漿のみについて、ロミデプシン濃度 1000 ng/mL の試料も調製した。アルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質を用いる試験は、アルブミン 40 mg/mL 溶液及び α_1-酸性糖タンパク質 1 mg/mL 溶液に、最終ロミデプシン濃度が 500 ng/mL となるように、放射性標識ロミデプシンのアセトニトリル溶液を添加した。すべての試料を 37ºC で 3 分間にわたりインキュベーションした後、限外濾過した。次に、濾液、血清、血漿及びタンパク質溶液を処理した後、シンチレーションカウンターで放射能濃度を測定し、各試料の遊離型及び結合型放射能の割合を算出した。

検討した濃度における放射性標識ロミデプシンのタンパク結合率は、ラット血清で 37.8～40.8%、イヌ血清で 73.1～87.7%、ヒト血清で 82.2～94.5%、ヒト血漿で 82.3～93.8%であった。検討した最高濃度である 5000 ng/mL におけるタンパク結合率は、イヌ及びヒト血清で低下する傾向が認められたが、ラット血清では一定であった。放射性標識ロミデプシンのヒト血清アルブミンに対する結合率は 19.9%、ヒト α_1-酸性糖タンパク質に対する結合率は 93.5%であった。

結論として、イヌ及びヒト血清中のタンパク結合率はラット血清に比べて高く、ヒト血清とヒト血漿の間で差は認められなかった。放射性標識ロミデプシンのタンパク結合に α_1-酸性糖タンパク質が大きく寄与していることが明らかになった。

4.3. ラット、イヌ及びヒトにおけるロミデプシンの in vitro 血球移行性性

［試験番号 CRD040012、添付資料 4.2.2.3.2、参考資料］

本試験は、ラット、イヌ及びヒト血液を用いて、ロミデプシンの血液／血漿中濃度比を in vitro で測定した。雄ラット 5 例、雄イヌ 3 例及び健康男性被験者 4 例から採取した血液を使用した。ロミデプシンは血液中で不安定であることから血液の処理は氷冷下で行った。

[^{14}C]-ロミデプシンをアセトニトリルに溶解し、0.025、0.25 及び 2.5 mg/mL の標準溶液を調製した。ラット、イヌ及びヒトのヘパリン処理血液に[^{14}C]-ロミデプシンの標準溶液を 0.2%添加し、血液中濃度が 50、500 及び 5000 ng/mL となるように調整した。また、ヒト血液に[^{14}C]-ロミデプシンを混合し、1000 ng/mL の試料を調製した。血液 1 mL を 10000 rpm で 1 分間遠心し、血漿を分離した。また、血液をヘマトクリット管に入れ 3000 rpm で 10 分間遠心後、血漿と血球画分の長さを測定し、ヘマトクリット値を算出した。血液及び血漿試料を処理した後、シンチレーションカウンターで放射能濃度を測定し、各試料の血液／血漿中放射能濃度比と血球移行率を算出した。

検討した濃度範囲を通して、ラット及びヒトの血液／血漿中放射能濃度比は一定であり、その比は、ラットは 0.68～0.75、ヒトは 0.56～0.61 であった。イヌでの比は、50～500 ng/mL の濃度で 0.58～0.59 であったが、5000 ng/mL の濃度では 0.65 と大きくなった。血球移行率はラットで 15.6～25.2%、イヌで 1.5～12.3%、ヒトで 1.4～8.7%であった。

結論として、ラット、イヌ及びヒト血液中で[^{14}C]-ロミデプシン由来放射能は血球に比べて血漿に高濃度に分布した。イヌ血液の場合、5000 ng/mL の濃度において血液／血漿中放射能濃度比は、低濃度よりもやや高かった。

5. 代謝

複数の試験でロミデプシンの代謝を評価した。これらの試験を Table 8 に示す。

Table 8:　ロミデプシンを用いて実施した代謝試験

表題	動物種／系統	試験番号	添付資料
FR901228 の動態試験：ラットに 14C 標識 FR901228 を投与した後の血漿及び排泄物中代謝物比率	ラット／SD	CRD040010	4.2.2.4.1
薬物代謝：FR901228 の肝代謝における種差	In vitro： SD 系ラット、ビーグル犬及びヒト由来の肝 S9 及びミクロソーム	CRD030200	4.2.2.4.2
薬物代謝：液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法によるロミデプシンの in vitro 及び in vivo 代謝物の同定	In vivo： ラット／SPF [Crj:CD(SD)IGS] In vitro： ヒト肝ミクロソーム	CRD040013	4.2.2.4.3
ROMI-ADVM-002（進行性がん患者においてリファンピシンの反復経口投与がロミデプシンの単回投与薬物動態に与える影響評価のための第一相二期非盲検試験）の代謝物分析と同定	ヒト血漿	ROMI-DMPK-1510	4.2.2.4.4
薬物代謝：FR901228 の代謝に関与するヒト P450 分子種の同定	In vitro： ヒト肝ミクロソーム	CRD030201	4.2.2.4.5

5.1. ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを静脈内ボーラス投与したときの代謝

［試験番号 CRD040010、添付資料 4.2.2.4.1、参考資料］

本試験は、ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与したときの血漿及び排泄物中のロミデプシンの代謝物プロファイルを評価した。

分析対象とした血漿及び排泄物は、CRD040009 で[^{14}C]-ロミデプシンを投与したラットから採取したものであった。In-life 期の試験デザインは 2.6.4.3 項、2.6.4.4.1 項及び 2.6.4.6.1 項に示す。採取した血漿、尿、糞及び胆汁試料の一部を処理し、UV 検出器付き HPLC により波長 210 nm で分析した。HPLC 溶出液を 0.5 分間隔で採取し、シンチレーションカウンターで放射能を測定してラジオクロマトグラムを作成した。

本試験では、代謝物の構造解析は試みなかった。したがって、推定代謝物は代謝物番号（MH-#）のみによって表示する。β-グルクロニダーゼ又は β-グルクロニダーゼ／アリールスルファターゼを用いて胆汁を処理しても、代謝物パターンに変化はなかった。ロミデプシンを DTT で処理したとき、代謝物 MH-28 に対応する化合物が生成され、この代謝物は親化合物の還元型であると考えられた。

投与後 48 時間までに投与した放射能の 75.1%が糞中に排泄され、HPLC クロマトグラム上に 30 種類の推定代謝物と親化合物のピークが認められた。この時点までに、投与した放射能の 1.6%が糞中に未変化体として排泄された。代謝物 MH-21 は投与量の 3.9%を占め、MH-15、MH-16 及び MH-30 は投与量のそれぞれは 2.1～2.6%を占めていた。その他 10 種類の推定代謝物は投与量の 1.2～1.8%を

占め、投与量の 1%以下に相当する 16 種類の推定代謝物も検出された。糞を DTT で処理すると、MH-19 及び MH-21 の量がそれぞれ、3.9%及び 4.6%に増加した。

投与後 48 時間までに投与した放射能の 15.9%が尿中に排泄され、HPLC クロマトグラム上に 21 種類の推定代謝物と親化合物のピークが認められた。この時点までに、投与した放射能の 4.2%が尿中に未変化体として排泄され、1.4%が MH-30 として排泄された。尿中に認められたその他の代謝物が投与量に占める割合は 0.9%以下であった。

投与後 48 時間までに投与した放射能の 66.1%が胆汁中に排泄され、HPLC クロマトグラム上に 24 種類の推定代謝物と親化合物のピークが認められた。投与した放射能の 3.0%が胆汁中に未変化体として排泄された。胆汁中に排泄された MH-10、MH-5 及び MH-21 が投与量に占める割合は、それぞれ 4.9%、4.6%及び 4.6%であった。さらに、MH-13、MH-15 及び MH-3 はそれぞれ、投与量の 3.9%、3.6%及び 3.5%を占めていた。これに加えて、胆汁中に投与量の 1.2～2.6%に相当する 10 種類の推定代謝物、及び投与量の 1%以下に相当する 8 種類以上のピークも検出された。

血漿試料中に存在する未変化体のロミデプシンが血漿中放射能に占める割合は、投与後 5 分の時点で 5.2%であり、投与後 4 時間では 14.8%であった。血漿中に 12 種類のピークが検出され、この中で主要なものは MH-31、MH-28 及び MH-29 であり、試料中の放射能に占めるそれぞれの割合は 3.8%以下であった。投与後 1 及び 4 時間に採取した血漿中の推定代謝物の種類及び割合は、投与後 5 分と類似していた。投与後 5 分に採取した血漿を DTT で処理したとき、MH-30、MH-31 及び MH-28 の量がそれぞれ 25.6%、15.3%及び 13.8%に増加したことから、これらの推定代謝物が血漿タンパク質に結合していることが示唆された。

結論として、放射性標識ロミデプシンを静脈内投与したラットから採取した血漿、尿、糞及び胆汁中に多数の推定代謝物が認められた。単一の代謝物で主要なものはなかった。血漿中に存在するこれらの推定代謝物の一部は血漿タンパク質に結合していると考えられた。

5.2. ラット、イヌ及びヒトにおけるロミデプシンの肝代謝の種差

［試験番号 CRD030200、添付資料 4.2.2.4.2、参考資料］

本試験は、ラット、イヌ及びヒト由来の肝 S9 及びミクロソーム画分を用いて、ロミデプシンの in vitro 代謝における種差を評価した。

雄ラット 5 例の肝臓をプールし、肝 S9 及びミクロソーム画分を調製した。また、雄イヌ 8 例のプール肝 S9 画分及びプール肝ミクロソーム画分、並びにプールヒト肝 S9 画分（22 名由来）及びドナー46 名由来のプールヒト肝ミクロソーム画分を使用した。

使用した[^{14}C]-ロミデプシンの放射化学的純度は 98%以上、比放射能は 95.3 μCi/mg であった。ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）生成系を添加した最終反応液中のロミデプシン濃度は 10 μmol/L、タンパク質濃度は 1 mg/mL であった。

インキュベーション後の試料を UV 検出器（波長 210 nm）付き HPLC を用いて分離分析し、（0.5 分間隔で採取した）HPLC 溶出液の放射能をシンチレーションカウンターで測定することにより、肝 S9 画分及び肝ミクロソームによるロミデプシンの代謝を評価した。

ロミデプシンをラット肝ミクロソームとともに 0 分間インキュベーションしたとき、除タンパクした上清中に放射能の 100%近くが回収されたが、インキュベーション時間が長くなるにつれ、放射能の回収率は低下する傾向を示した。ラット、イヌ及びヒト由来の肝ミクロソームとともに 40 分間インキュベーションしたときの放射能回収率はそれぞれ、76.4%、89.8%及び 75.9%であった（2.6.5.9 項）。反応液に DTT を添加したとき、放射能回収率が上昇したことから、可逆的ジスルフィド結合を介してロミデプシンがタンパク質に結合している可能性が示唆された。3 種類の動物種

由来のミクロソームいずれについても、NADPH 生成系存在下でロミデプシンのインキュベーションを行ったとき、少なくとも 20 種類の推定代謝物が生成した。

NADPH 生成系存在下、ロミデプシンの消失速度が最も速かったのは、ヒト由来の肝ミクロソーム（192 pmol/min/mg タンパク）であり、ラット肝ミクロソームにおける消失速度は 117 pmol/min/mg タンパク、イヌ肝ミクロソームでは 49.7 pmol/min/mg タンパクであった。ロミデプシンを肝ミクロソームとともにインキュベーションした後、DTT で還元したときの代謝物プロファイルに種差は認められなかった。ヒトで検出された代謝物ピークすべてがラット又はイヌで検出された。

ロミデプシンは中性域で迅速かつ非酵素的にグルタチオンと反応し、還元型ロミデプシン（M1）を生成した（2.6.5.9 項）。この反応は、肝ミクロソームによるロミデプシンの代謝に比べて速やかに起こった。この試験で得られた結果から、ロミデプシンのジスルフィド結合がグルタチオンのチオール基と置き換わることにより M1 が生成することが示唆された。

結論として、雄ラット、雄イヌ及びヒト由来の肝ミクロソームにおけるロミデプシンの代謝に定性的及び定量的にも顕著な差は認められなかった。グルタチオン存在下で還元型ロミデプシンが非酵素的に生成することが明らかになった。検討した 3 動物種のいずれにおいても、肝ミクロソームとともにロミデプシンをインキュベーションすることにより、少なくとも 20 種類の推定代謝物が生成された。

5.3. 液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法によるロミデプシンの in vitro 及び in vivo 代謝物の同定

［試験番号 CRD040013、添付資料 4.2.2.4.3、参考資料］

本試験は、in vitro 及び in vivo で生成したロミデプシンの代謝物を同定することを目的とした。

肝ミクロソーム画分は雄ラット 5 例の肝臓をプールして調製した。また、ドナー46 例由来のプールヒト肝ミクロソームも使用した。胆管カニュレーション処置雄ラット 17 例に [^{14}C]-ロミデプシンを大腿静脈を介して静脈内投与し、胆汁試料を採取した。胆汁はロミデプシン投与後 8 時間にわたり採取した。

In vitro 試験の場合、使用した[^{14}C]-ロミデプシンの放射化学的純度は 98%以上、比放射能は 95.3 μCi/mg であった。NADPH 生成系を添加した最終反応液中のロミデプシン濃度は 60 μmol/L、タンパク質濃度は 2 mg/mL であった。In vivo 試験の場合、胆汁を採取したラットに静脈内投与したロミデプシンの用量は 0.3 mg/kg（28.6 μCi/kg）であった。

肝ミクロソーム画分にロミデプシンを添加し、NADPH 生成系存在下でインキュベーションした。次に、インキュベーション後のミクロソーム及び胆汁試料を HPLC で処理することにより、代謝物と親化合物を分離した。溶出液を分取して放射能を測定するとともに、エレクトロスプレーイオン化イオントラップ型質量分析計を用いて、代謝産物の質量及びフラグメンテーションパターンに関する情報を収集し、ロミデプシンのマスクロマトグラム及びフラグメンテーションパターンと比較して構造を同定した。

ラット及びヒト肝ミクロソームにおいて、ロミデプシンの in vitro 代謝物として代謝物 M1～M14 が生成した。代謝物 M1 及び M2 は、ロミデプシンを DTT とともにインキュベーションしたときに生成した還元産物と全く同じであった。M1～M14 の構造に関する追加情報を CRD040013 の図 6 に示す。

ラット胆汁中の in vivo 代謝物として、代謝物 M15～M17 が単離された。M17 はヒト肝ミクロソームを用いた in vitro 代謝試験でも認められた。M15～M17 の構造に関する追加情報を CRD040013 の図 86 に示す。

ロミデプシンとグルタチオンをインキュベーションすることにより、グルタチオン抱合体 M18～M20 が生成した。M18～M20 の構造に関する追加情報をそれぞれ、CRD040013 の図 58、60 及び 62 に示す。

ラット及びヒト肝ミクロソームの両方で生成した in vitro 代謝物 M1～M14、並びにロミデプシンを静脈内投与したラットから採取した胆汁試料中に存在する代謝物 M17 に加えて、ヒト肝ミクロソームでは、新たに代謝物 M21～M28 が生成した。M21～M28 の構造に関する追加情報をそれぞれ、CRD040013 の図 69、71、73、75、77、79、81 及び 83 に示す。

結論として、検討したすべての動物種（ラット、イヌ及びヒト）において、ロミデプシンは広範な in vitro 及び in vivo 代謝を受けた。代謝物の化学構造に関して本試験で得られた結果から、ラット及びイヌで得られた代謝物プロファイルはヒトと同様であることが明らかになった。

5.4. ROMI-ADVM-002（進行性がん患者においてリファンピシンの反復経口投与がロミデプシンの単回投与薬物動態に与える影響評価のための第一/二期非盲検試験）の代謝物分析と同定

［試験番号 ROMI-DMPK-1510、添付資料 4.2.2.4.4、評価資料］

本試験の目的は、ROMI-ADVM-002（進行性がん患者においてリファンピシンの反復経口投与がロミデプシンの単回投与薬物動態に与える影響評価のための第一相二期非盲検試験）の第一期で処置した 13 名の患者から採取したヒト血漿中の代謝物分析と同定であった。

ロミデプシンの代謝物プロファイルを決定するため、Hamilton プール法により 0～48 時間の採血時点の血漿試料をプールし、各患者毎に一つの混合血漿を得た。その後、一つの全体プール試料を作るため、各患者プール血漿試料からの等量を混合してプールした。

質量分析計で代謝物を検出するための最適化のために、既知のロミデプシン代謝物を NADPH と DTT 存在下でヒト及びラット肝ミクロソームを用いて in vitro で生成した。代謝物（M3、M7、M13、M14 及び M21 を含む）は in vitro のヒト及びラット肝ミクロゾームのインキュベーションで生成したが、 HPLC-UV 検出器及び質量分析計（MS）のいずれにおいてもプールしたヒト血漿中ではロミデプシンのみが同定され、他の代謝物は検出されなかった。また、投与前及び投与後の試料比較において新たなあるいはヒトのみで見いだされる代謝物は検出されなかった。

結論として、患者の血漿試料からはロミデプシンのみが検出され、他の代謝物は同定されなかった。

5.5. ロミデプシンの代謝に関与するヒト P450 酵素の同定

［試験番号 CRD030201、添付資料 4.2.2.4.4、参考資料］

本試験は、ロミデプシンの代謝に関与するヒトチトクローム P450（CYP）アイソザイムを明らかにした。ドナー46 例のプールヒト肝ミクロソーム及び 12 例から得られた個別のヒト肝ミクロソームを使用した。さらに、ヒト CYP アイソザイム（CYP1A1、1A2、1B1、2A6、2B6、2C8、2C9*1（野生型）、2C18、2C19、2D6*1（野生型）、2E1＋チトクローム b_5（b_5）、3A4＋b_5、3A5 及び 4A11）を NADPH-P450 還元酵素と共発現させたバキュロウイルス感染昆虫細胞から調製した遺伝子組換えミクロソームを使用した。

本試験には、[^{14}C]-ロミデプシン（コード番号 6710 及び 6713）を使用した。[^{14}C]-ロミデプシン、コード番号 6710 の放射化学的純度は 98%以上、比放射能は 95.3 μCi/mg であり、コード番号 6713 の放射化学的純度は 98%以上、比放射能は 37.5 μCi/mg であった。

ミクロソームは、濃度 1～60 μmol/L で検討した速度論的試験を除き、濃度 10 μmol/L のロミデプシンとインキュベーションした。インキュベーション後の試料を UV 検出器（波長 210 nm）付き HPLC を用いて分離分析し、分取した HPLC 溶出液の放射能をシンチレーションカウンターで測定した。

また、プールヒト肝ミクロソームを用いて、特異的 CYP3A 阻害剤であるケトコナゾール（濃度 0.1、1 及び 10 μmol/L）がロミデプシン（10 μmol/L）の代謝に及ぼす影響についても評価した。ヒト肝ミクロソームを抗 CYP3A4 抗体とともにプレインキュベーション後、ロミデプシンを添加し、CYP3A4/5 活性を特異的に阻害するこの抗体がロミデプシンの in vitro 代謝を阻害するかどうかも検討した。

NADPH 生成系存在下、ロミデプシンをヒト肝ミクロソームとともに好気性条件でインキュベーションしたとき、少なくとも 20 種類の代謝物が生成した。ロミデプシンの消失に関する K_m 及び V_{max} 値はそれぞれ、20.3 μmol/L 及び 562 pmol/min/mg タンパクであった。ロミデプシンの消失に関する固有クリアランスは 27.6 μL/min/mg タンパクであると推定された。

検討した 14 種類の遺伝子組換えヒト P450 のうち、ロミデプシンの消失速度が最大であったのは CYP3A4 存在下であり、CYP3A5、1A1、2B6 及び 2C19 による消失速度はこれよりはるかに遅く、それぞれの値は 2098、352、109、30 及び 28 pmol/10 min/50 pmol P450 であった。検討したその他の CYP アイソザイムでは、有意なロミデプシン代謝活性は認められなかった。

ドナー12 例由来のヒト肝ミクロソームによるロミデプシンの消失活性は、CYP3A4/5 のマーカー酵素活性であるテストステロン 6β-水酸化活性と密接な相関関係（$r^2 = 0.957$）を示した。他の CYP アイソザイムに特異的であることが知られている基質の活性とロミデプシンの消失活性の間には、相関関係は認められなかった。

濃度 0.1、1 及び 10 μmol/L のケトコナゾール（特異的 CYP3A 阻害剤）を添加したときのヒト肝ミクロソームによるロミデプシンの消失活性は、それぞれ対照値の 41.2%、< 10%及び < 10%であった。さらに、ヒト肝ミクロソームを抗 CYP3A4 抗体と前処理したとき、ロミデプシンの消失が 90%超阻害された。

結論として、ヒト肝ミクロソームを用いた in vitro 試験で、ロミデプシンは主に CYP3A によって代謝された。

6. 排泄

ラット試験において、ロミデプシンの尿、糞、呼気及び胆汁中排泄を評価した（Table 9 ）。

Table 9:　ロミデプシンを用いて実施した排泄試験

表題	動物種／系統	試験番号	添付資料
FR901228 の動態試験　ラットにおける単回静脈内投与後の分布および排泄	ラット／SD（IGS）	CRD040009	4.2.2.5.1

6.1. ラットに[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与したときの放射能の分布及び排泄

［試験番号 CRD040009、添付資料 4.2.2.5.1、参考資料］

本試験は、[^{14}C]-ロミデプシンの血漿中濃度、組織内分布、並びに尿、糞、胆汁及び呼気中排泄を評価した。本項では排泄の結果を要約して示した。血漿中濃度の結果は 2.6.4.3.1 項、組織内分布の結果は 2.6.4.4.1 項に示した。1 群当たり 3 例の雄ラットに用量 0.3 mg/kg の[^{14}C]-ロミデプシンを単回静脈内ボーラス投与した。ラットの投与時の体重は 254.1～312.0 g であった。

使用した[^{14}C]-ロミデプシンの放射化学的純度は 98%以上、化学的純度は 96.4%であった。各動物に、投与容量 5.0 mL/kg を尾静脈内ボーラス投与した。ロミデプシンはエタノール及びプロピレングリコール（1：4）混合液に溶解した後、さらに生理食塩液で 1：10 に希釈した。

放射性標識ロミデプシンを投与した後、3 例のラットを代謝ケージに個別に収容し、尿、糞及び呼気を採取した。尿試料は投与後 4、8、24、48、72、96、144 及び 168 時間に採取した。なお、投与後 24 時間までは、強制的に排尿させたが、その後は、自然に排尿させた。糞試料は投与後 24、48、72、96、144 及び 168 時間に採取した。投与後 168 時間にラットを屠殺し、消化管（内容物を含む）を採取した。この採血時点において、放射能量を測定するため、屍体も保存した。呼気はメタノール／モノエタノールアミン溶液（3：1）約 250 mL で捕集し、投与後 24、48 及び 72 時間に呼気捕集液を交換し、容量を測定した。

ラット 3 例からなる別の 1 群に、エーテル麻酔下、胆管カニュレーション処置を行った。これらのラットを個別にケージに収容し、投与後 4、8、24 及び 48 時間に尿と胆汁を同時に採取した。なお、投与後 24 時間までは、強制的に排尿させたが、その後は、自然に排尿させた。投与後 24 及び 48 時間には、糞試料も採取した。投与後 48 時間にラットを屠殺し、消化管（内容物を含む）を採取した。この採血時点において、放射能量を測定するため、屍体も保存した。

尿、糞、胆汁、呼気試料、消化管（内容物を含む）及び屍体を処理し、シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

投与後 4、24 及び 168 時間における尿中放射能排泄率はそれぞれ、13.5%、15.4%及び 16.5%であり、投与後 24、48 及び 168 時間における糞中放射能排泄率はそれぞれ、58%、75.2%及び 79.4%であった。投与後 72 時間までに、呼気中に排泄された放射能は投与量の 0.1%に過ぎなかった。投与後 168 時間の消化管（内容物を含む）には、投与した放射能の 0.1%が残存し、屍体に 1.8%が存在していた。投与後 168 時間までの総放射能回収率は 97.8%であった。

投与後 4、24 及び 48 時間における胆汁中放射能排泄率はそれぞれ、55.4%、63.6%及び 66.1%であった。また、胆管カニュレーション処置ラットにおける投与後 4、24 及び 48 時間における尿中放射能排泄率はそれぞれ、14.7%、18.9%及び 20.0%であった。投与後 24 及び 48 時間における糞中放射能排泄率はそれぞれ、3.8%及び 5.2%であった。投与後 48 時間の消化管（内容物を含む）には、投与した放射能の 0.8%が残存し、屍体に 7.5%が認められ、総放射能回収率は 99.6%であった。

結論として、ロミデプシンとして投与した放射能は主に胆汁を介して糞中に排泄された。投与した放射能の 90%以上が投与後 48 時間以内に排泄された。

7. 薬物相互作用

ロミデプシンの薬物相互作用については、Table 10 に示す 4 試験を実施し、検討した。

Table 10: ロミデプシンを用いて実施した薬物相互作用試験

表題	試験系	試験番号	添付資料
FR901228 のヒト CYP 阻害作用の検討試験	In vitro： ヒト肝ミクロソーム	CRD030209	4.2.2.6.3
ヒト肝ミクロソームにおける CYP2B6 及び CYP2C8 阻害剤としてのロミデプシンの in vitro 評価	In vitro： ヒト肝ミクロソーム	ROMI-DMPK-1479	4.2.2.6.1
初代培養ヒト肝細胞中でのロミデプシンのチトクローム P450 誘導作用に関する in vitro 評価	In vitro： ヒト肝細胞	ROMI-DMPK-001	4.2.2.6.4
取り込み及び排出薬物トランスポータに係るロミデプシン相互作用の評価	膜小胞、LLC-PK1 細胞、S2 細胞、HEK293 細胞、ヒト凍結肝細胞	ROMI-DMPK-1442	4.2.2.6.2

7.1. ヒト肝ミクロソーム中でのロミデプシンのチトクローム P450 活性に対する阻害作用

［試験番号 CRD030209、添付資料 4.2.2.6.3、評価資料］

本試験は、ヒトでのロミデプシンの薬物相互作用を予測するため、CYP 活性に対するロミデプシンの影響を評価した。ドナー16 例から調製したプールヒト肝ミクロソームを使用した。CYP アイソザイムの基質として、エトキシレゾルフィン、トルブタミド、S-メフェニトイン、硫酸デブリソキン、クロルゾキサゾン、ニフェジピン及びテストステロンを使用し、陽性対照として、特異的阻害剤であるフラフィリン、スルファフェナゾール、トラニルシプロミン塩酸塩、キニジン硫酸塩、ジエチルジチオカルバメート及びケトコナゾールを使用した。

ロミデプシンは濃度 1、10 及び 100 µmol/L で使用した。

ミクロソームとロミデプシン又は陽性対照及び各 CYP アイソザイムの基質とともにインキュベーションした後、反応を停止させ、試料を処理して基質の既知代謝物を分析した。

検討したいずれの濃度においても、ロミデプシンはエトキシレゾルフィン O-脱エチル化（CYP1A2）、トルブタミド水酸化（CYP2C9）及びクロルゾキサゾン 6-水酸化（CYP2E1）活性を阻害しなかった。濃度 10 µmol/L 以下において、ロミデプシンは S-メフェニトイン 4’-水酸化（CYP2C19）、デブリソキン 4-水酸化（CYP2D6）、ニフェジピン酸化（CYP3A4）及びテストステロン 6β-水酸化（CYP3A4）活性を阻害しないと考えられた。しかし、ロミデプシン濃度 100 µmol/L では、これらの酵素活性がそれぞれの対照活性の 36.5%、76.2%、38.2%及び 30.3%に低下した。これらの結果から、ロミデプシンはこれらの CYP アイソザイムに対して濃度依存的な阻害作用を示すことが明らかになった。

すべての陽性対照がそれぞれの酵素活性を阻害したことから、分析系の妥当性が示された。

濃度 10 µmol/L 以下のロミデプシンは CYP1A2、2C9、2C19、2D6 及び 3A4 の CYP 活性に対して阻害作用を示さなかった。ヒトで予想される血漿 C_{max} 値をはるかに超える濃度 100 µmol/L のロミデプシンは、CYP3A4、CYP2C19 及び CYP2D6 のマーカー活性を阻害した。

7.2. ヒト肝ミクロソームにおける CYP2B6 及び CYP2C8 阻害剤としてのロミデプシンの in vitro 評価

［試験番号 ROMI-DMPK-1479、添付資料 4.2.2.6.1、評価資料］

併用薬の代謝を阻害するロミデプシンの可能性を明らかにする目的で、ヒト肝ミクロソームにおけるロミデプシンの CYP2B6 及び CYP2C8 に対する阻害能を評価するため in vitro 試験を行った。CYP2B6 及び CYP2C8 の直接阻害剤としてのロミデプシンを評価するため、50 人分のプールヒト肝ミクロソームをマーカー基質（CYP2B6：ブプロピオン 50 µmol/L 及び CYP2C8：パクリタキセル 10 µmol/L）とともにロミデプシンの存在下あるいは非存在下でインキュベーションした。ロミデプシンの検討濃度範囲は 0.1 から 100 µmol/L とした。既知の CYP 酵素直接阻害剤を陽性対照として試験に含めた。

時間依存的阻害の評価の際には、マーカー基質添加前に CYP 活性を阻害する可能性のある代謝物の生成を促すため、ロミデプシン（0.1～100 µmol/L）をヒト肝ミクロソーム及び NADPH とともに 30 分間プレインキュベーションした。既知の代謝依存性 CYP 酵素阻害剤を陽性対照として試験に含めた。

直接阻害検討のため用いた実験条件下では、30 µmol/L 以下のロミデプシンは CYP2B6 に対して阻害作用は示さなかった。100 µmol/L のロミデプシンは陽性対照の 74%の阻害作用があった。ロミデプシンは 100 µmol/L で CYP2C8 活性を陽性対照の 63%まで徐々に減少させた。CYP2B6 及び CYP2C8 に対する直接阻害の IC_{50} 値は全体的に 100 µmol/L 超であった。

時間依存的阻害検討のため用いた実験条件下では、 10 µmol/L 以下のロミデプシンは NADPH 存在下あるいは非存在下での 30 分のプレインキュベーション後の CYP2B6 及び CYP2C8 に対して阻害作用を示さなかった（20%以下の阻害）。30 µmol/L 及び 100 µmol/L の 30 分のプレインキュベーション後においては CYP2B6 及び CYP2C8 に対していくらかの阻害作用を示し、プレインキュベーションにおける NADPH 存在下と非存在下とで阻害は同程度であった。これらの結果はロミデプシンが IC_{50} 値 30 µmol/L 以上で CYP2B6 及び CYP2C8 の弱い時間依存的阻害剤であることを示した。

結論として、10 µmol/L 以下のロミデプシンは CYP2B6 及び 2C8 活性を阻害しなかった。ロミデプシンは CYP2B6 及び 2C8 に対して弱い阻害を示した（IC_{50} 値 30 µmol/L 以上）。

7.3. 初代培養ヒト肝細胞中でのロミデプシンのチトクローム P450 誘導作用に関する in vitro 評価

［試験番号 ROMI-DMPK-001、添付資料 4.2.2.6.4、評価資料］

CYP 誘導による薬物相互作用の可能性を評価するため、初代培養ヒト肝細胞を用いて、ロミデプシンの肝 CYP 酵素誘導能を評価した。3 検体の別々のヒト肝臓から調製した培養ヒト肝細胞（約 9×10^6 cells/plate、約 0.35×10^6 cells/well で播種）に溶媒対照（DMSO、0.1%）、3 濃度のロミデプシン（0.5、2 及び 10 µmol/L）、又は 3 種類の既知ヒト CYP 誘導剤（陽性対照）、すなわち、オメプラゾール（OMP、50 µmol/L）、フェノバルビタール（PB、1000 µmol/L）及びリファンピシン（RIF、10 µmol/L）のいずれか 1 つを添加し、2 日間連続して 1 日 1 回処理した。In situ 試料を採取し、CYP1A2（フェナセチン O-脱アルキル化）、CYP2B6（ブプロピオン水酸化）及び CYP3A4（テストステロン 6β-水酸化）活性を測定した。また、TaqMan®プローブを用いた定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（qRT-PCR）法により、これらの CYP アイソザイムそれぞれのメッセンジャーRNA（mRNA）含量も測定した。

陽性対照で期待される誘導が起こる条件下、ヒト培養肝細胞をロミデプシン（0.5～10 µmol/L）で 2 日間連続して処理しても、CYP2B6 及び CYP3A4/5 の触媒活性及び mRNA 発現は誘導されなかっ

た。ロミデプシンはCYP1A2に対して弱い誘導作用（陽性対照の10%未満）を示したが、臨床的には問題にならないと予想された。

7.4. 取り込み及び排出薬物トランスポータに対するロミデプシンの相互作用の評価

［試験番号 ROMI-DMPK-1442、添付資料 4.2.2.6.2、評価資料］

ロミデプシンの取り込みをBCRP、MRP2、BSEP発現小胞及びコントロール小胞で、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1、OATP1B3発現細胞及びコントロール細胞並びにヒト凍結肝細胞で評価するため試験を実施した。ロミデプシンの阻害能についてもMDR1発現細胞や、BCRP、MRP2あるいはBSEP発現小胞、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1とOATP1B3発現細胞及び最適なコントロールの細胞と小胞を用いて検討した。

ロミデプシンがBCRP、BSEPあるいはMRP2の基質となるか否かをBCRP、BSEPあるいはMRP2発現小胞及びコントロール小胞を用い、2～5分間のインキュベーションで取り込まれた量を測定して評価した。ロミデプシンは1～10 µmol/Lで BCRP、BSEPあるいはMRP2の基質にはならなかった。

ロミデプシンがOAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3あるいはOCT2の基質となるか否かをOAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3あるいはOCT2発現細胞及びコントロール細胞を用い、2分間のインキュベーションで取り込まれた量を測定して評価した。ロミデプシンは1～10 µmol/Lで OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3あるいはOCT2の基質とはならなかった。

別の試験において、OATP1B1によるロミデプシンの時間依存的取り込みについて検討したが、2、5及び10分のインキュベーションでは時間依存性はみられなかった。

ヒト凍結肝細胞へのロミデプシン1 µmol/Lの1、2、5及び10分間の取り込みを37℃及び氷上で評価した。ロミデプシンはリファンピシン（OATPの阻害剤）の存在下及び非存在下で時間依存的及び温度依存的にヒト凍結肝細胞に取り込まれ、OATPを介さないロミデプシンの能動的肝取り込みの関与が示された。

ロミデプシンがMDR1の阻害剤として働くか否かをMDR1発現細胞及びコントロール細胞を用い、120分間のインキュベーションで[^{3}H]ジゴキシンの排出比を測定して評価した。ロミデプシンは1～10 µmol/Lで MDR1の輸送能を阻害しなかった。

ロミデプシンがBCRP、BSEPあるいはMRP2の阻害剤として働くか否かをBCRP、BSEPあるいはMRP2発現小胞及びコントロール小胞を用い、2～5分間のインキュベーションでそれぞれ[^{3}H]メトトレキセート、[^{3}H]タウロコール酸及び[^{3}H]エストラジオール17β-グルクロニド（E_2G）の取り込み量を測定して評価した。ロミデプシンは1～10 µmol/Lで BSEPの輸送活性を軽度に阻害したが、同じ濃度ではBCRP及びMRP2の輸送活性を阻害しなかった。

ロミデプシンがOAT1又はOAT3の阻害剤として働くか否かをOAT1又はOAT3発現細胞及びコントロール細胞を用い、2分間のインキュベーションでそれぞれ[^{3}H]パラアミノ馬尿酸、[^{3}H]エストロン硫酸塩の取り込み量を測定して評価した。ロミデプシンは臨床濃度（1 µmol/L）ではOAT1を阻害しなかったが、10 µmol/Lでは軽度の阻害がみられた。ロミデプシンは1～10 µmol/Lで OAT3の輸送活性を阻害しなかった。

ロミデプシンがOATP1B1、OATP1B3あるいはOCT2の阻害剤として働くか否かをOATP1B1、OATP1B3あるいはOCT2発現細胞及びコントロール細胞を用い、2分間のインキュベーションでOATP1B1及びOATP1B3では[^{3}H]E_2G、OCT2では[^{14}C]メトホルミンの取り込み量を測定して評価した。ロミデプシンはOATP1B1が介する[^{3}H]E_2Gの輸送を濃度依存的に阻害し、臨床濃度の1 µmol/Lでも弱い阻害がみられた。ロミデプシンは臨床濃度（1 µmol/L）では、OAT1B3を阻害しなかった

が、10 μmol/L では軽度の阻害がみられた。ロミデプシンは 10 μmol/L で OCT2 の輸送活性をわずかに阻害した。

要約すると、プローブ基質及び最適な陽性対照阻害剤を使った実験条件下では、ロミデプシンは BCRP、BSEP、MRP2、OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT2 の基質ではない。ヒト凍結肝細胞へのロミデプシンの時間依存的、温度依存的取り込みが認められ、OATP を介さないロミデプシンの能動的肝取り込みの関与が示唆された。

ロミデプシンは OAT1、OCT2、OATP1B3 を 10 μmol/L で軽度に阻害し、BSEP 及び OATP1B1 については、臨床濃度の 1 μmol/L でも弱い阻害がみられた。

8. その他の薬物動態試験

該当なし。

9. 考察及び結論

ロミデプシンの静脈内投与による薬物動態及びトキシコキネティクス試験から、ロミデプシンのPK/TK 特性が明らかになった。ロミデプシンの血漿中濃度推移は、初期の速やかな消失相に続いて、緩徐な終末消失相からなる二相性を示した。静脈内ボーラス投与したときの C_{max} は、投与後の早い時点又は最初の採血時点（多くは投与後 5 分）に認められた。イヌに 4 時間持続静脈内投与したときの C_{max} は、概ね投与開始後 1～2 時間に認められた。ラット及びイヌのいずれにおいても、用量増加に伴ってロミデプシンの血漿中濃度は上昇し、多くの場合、用量相関性が認められた。In vivo 試験でラットに[^{14}C]-ロミデプシンを投与したときの血液中放射能濃度は血漿中放射能濃度に比べて高く、得られた放射能の消失速度半減期は血漿に比べて血液の方が長かったことから、ロミデプシン又はその代謝物が血球中に移行することが示唆された。しかし、in vitro 試験から、ラット、イヌ及びヒト由来の血液中で、ロミデプシンは血球に比べて血漿中に高濃度に分布することが明らかになった。

ラットに投与したロミデプシンは様々な組織に分布し、腎臓、膀胱、空腸、肝臓及び副腎に高い放射能濃度が認められた。ロミデプシン由来の放射能は、脳にはほとんど認められず、精巣及び眼球中濃度は低かった。総放射能の組織／器官からの消失は、血漿からの消失に比べて緩徐であった。[^{14}C]-ロミデプシン由来放射能の 90%以上が投与後 48 時間以内に排泄された。ロミデプシンは血漿及び血清中のタンパクに結合し、α_1-酸性糖タンパク質が主要結合タンパク質であることが明らかになった。

ラットでロミデプシンは多くの化合物に代謝され、主に胆汁を介して糞中に排泄された。血漿、尿及び胆汁中にも多数の代謝物が検出された。ラット、イヌ及びヒト肝臓から調製したミクロソームとともにロミデプシンを in vitro でインキュベーションすることにより、少なくとも 20 種類の代謝物が生成し、これら 3 動物種の間で定性的及び定量的な差は認められなかった。ロミデプシンをグルタチオンとともにインキュベーションしたとき、非酵素的に還元型ロミデプシンが生成した。しかし、還元型ロミデプシンが溶媒及び血清中で不安定であるという理由からか、還元型ロミデプシンの in vivo ヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害作用は、ロミデプシンに比べて弱いと述べられている（Furumai, 2002）。

In vitro 試験において、ラット及び／又はヒト試料中で認められた 28 種類の代謝物の構造が同定されたが、単一の代謝物で主要なものはなかった。患者の試料において、ロミデプシンは唯一の循環血漿中薬物関連成分であり、他の代謝物は血漿中に検出されなかった。CYP3A4 がロミデプシンの代謝に最も寄与し、この活性は特異的 CYP3A 阻害剤によって阻害された。ロミデプシンの代謝に関与するその他の CYP 種は 3A5、1A1、2B6 及び 2C19 であった。ロミデプシンは、臨床で認められた C_{max} の平均値（すなわち、臨床で 14 mg/m^2 を 4 時間かけて持続投与したときの C_{max} は 593.47 ng/mL）に比べて約 100 倍高い濃度で CYP3A4、2C19 及び 2D6 を阻害したが、これより低い濃度では、この阻害は認められなかった。ロミデプシンは 10 µmol/L 以下の濃度では CYP2B6 及び 2C8 活性を阻害しなかった。

ヒト初代培養肝細胞において、ロミデプシンは CYP2B6 及び CYP3A4/5 の触媒活性及び mRNA 発現を誘導しなかった。ロミデプシンは CYP1A2 に対して弱い誘導作用を示したが（陽性対照の 10%未満）、臨床上問題ではないと考えられた。

ロミデプシンは BCRP、BSEP、MRP2、OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT2 の基質ではなかった。また、BCRP、 MRP2、MDR1 及び OAT3 の阻害剤ではなかった。ロミデプシンは OAT1、OCT2、OATP1B3 を 10 µmol/L で軽度に阻害し、BSEP 及び OATP1B1 については、臨床濃度の 1 µmol/L でも弱い阻害がみられた。

結論として、ロミデプシンを動物に静脈内投与したときの血漿中濃度推移は、初期の速やかな消失相に続いて、緩徐な終末消失相からなる二相性を示した。用量が増加すると、全身曝露量が増加

し、概ね用量相関性が認められた。ロミデプシンは組織に広く分布するが、基本的に脳への分布は認められなかった。ロミデプシン及びその代謝物は胆汁を介して主に糞中に投与した放射能の 90%以上が投与後 48 時間以内に排泄された。ロミデプシンの in vitro 代謝には数種のチトクローム CYP 分子種が関与し、主は CYP3A4 であった。In vitro 及び in vivo 試料中から 20 種類以上の代謝物が同定された。In vivo でロミデプシンの総投与用量の>5%に相当する単一の代謝物はなかった。

10. 参考文献

Furumai R、 Matsuyama A、 Kobashi N、 et al. FK228 (depsipeptide) as a natural prodrug that inhibits class I histone deacetylases. Cancer Res. 2002;62:4916-4921.

TABLE OF CONTENTS

1. 薬物動態試験：一覧表 2
2. 分析方法及びバリデーション試験 3
3. 薬物動態試験：吸収：単回投与 7
3.1. 単回投与試験 A 7
3.2. 単回投与試験 B 8
3.3. 単回投与試験 C 9
4. 薬物動態試験：吸収：反復投与 10
4.1. 反復投与試験 A 10
4.2. 反復投与試験 B（投与用量設定試験） 11
4.3. 反復投与試験 C 12
5. 薬物動態試験：分布 13
6. 薬物動態試験：タンパク結合 15
7. 薬物動態試験：血球移行 16
8. 薬物動態試験：代謝：In Vivo 17
9. 薬物動態試験：In Vitro 代謝 19
10. 薬物動態試験：推定代謝経路 22
11. 薬物動態試験：ヒトの代謝物分析と同定 24
12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害／誘導 25
13. 薬物動態試験：排泄 26
14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中 27
15. 薬物動態試験：薬物相互作用 28
15.1. 薬物相互作用試験 A 28
15.2. 薬物相互作用試験 B 29
15.3. 薬物相互作用試験 C 31
15.4. 薬物相互作用試験 D 33
16. 薬物動態試験：その他 42

1. 薬物動態試験：一覧表

被験物質：ロミデプシン，[^{14}C]-ロミデプシン

試験の種類	試験系	投与方法	試験施設	試験番号	添付資料
吸収					
吸収	ラット	静脈内	藤沢薬品工業	CRD040009	4.2.2.2.1
	ラット	静脈内	[redacted]	501650	4.2.2.2.2
	イヌ	静脈内	[redacted]	[redacted]040231	4.2.2.2.3
	イヌ	静脈内	[redacted]	[redacted]2-6464-XCV	4.2.2.2.4
	イヌ	静脈内	[redacted]	[redacted]3-6464-XCVI	4.2.2.2.5
分布					
分布及び排泄	ラット	静脈内	藤沢薬品工業	CRD040009	4.2.2.3.3
血清及び血漿タンパク結合	ラット、イヌ、ヒト	In vitro	藤沢薬品工業	CRD040011	4.2.2.3.1
血球移行性	ラット、イヌ、ヒト	In vitro	藤沢薬品工業	CRD040012	4.2.2.3.2
代謝					
血漿、胆汁、尿及び糞中代謝物	ラット	静脈内	藤沢薬品工業	CRD040010	4.2.2.4.1
肝代謝	ラット、イヌ、ヒト	In vitro	藤沢薬品工業	CRD030200	4.2.2.4.2
In vitro 及び胆汁中代謝物	ラット、ヒト	静脈内／in vitro	藤沢薬品工業	CRD040013	4.2.2.4.3
チトクローム P450 活性	ヒト	In vitro	藤沢薬品工業	CRD030201	4.2.2.4.4
排泄					
分布及び排泄	ラット	静脈内	藤沢薬品工業	CRD040009	4.2.2.5.1
薬物動態学的薬物相互作用					
チトクローム P450 阻害	ヒト	In vitro	[redacted]	CRD030209	4.2.2.6.3
	ヒト	In vitro	Celgene	ROMI-DMPK-1479	4.2.2.6.1
チトクローム P450 誘導	ヒト	In vitro	[redacted]	ROMI-DMPK-001	4.2.2.6.4
取り込み及び排出トランスポータに係る相互作用	膜小胞、LLC-PK1 細胞、S2 細胞、HEK293 細胞、ヒト凍結肝細胞	In vitro	[redacted]	ROMI-DMPK-1442	4.2.2.6.2

藤沢薬品工業（現アステラス製薬）

2. 分析方法及びバリデーション試験

被験物質：ロミデプシン

方法	マトリックス	試料処理	分析範囲（定量下限）	試験番号	添付資料
血漿中環状ペプチド（HPLC/UV 法） 分析カラム：Versapak C18(250×4.1 mm ID,5 µm,Waters) ガードカラム：Ultrasphere ODS(45×4.6 mm ID, 10 µm,Waters) 検出：215 nm（UV） 注入量：110 µL 流速：1.0 mL/min 移動相：アセトニトリル／5 mM 硫酸テトラブチルアンモニウム（36:64） 内標準物質：N-tert-butoxycarbonyl-L-glutamic acid alpha-benzyl ester	血漿 （動物種不明）	血漿（500 µL）に内標準物質，NaF 50 mg 及びアセトニトリル／水（50:50）60 µL を添加した後、酢酸エチル 3 mL を用いて 10 分間振とう、遠心分離した。 有機層を採取し、窒素気流下（30ºC）溶媒留去後、移動相 300 µL で再溶解した。フィルターを通し、HPLC へ注入した。	0.2～6 µg/mL (0.2 µg/mL)	ACD-3234A	4.2.2.1.1
高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（LC/MS/MS）法によるラット血漿中 FK228 濃度定量法のバリデーション 質量分析計：API3000(MDS SCIEX) HPLC：Waters 2690XE(Waters) 分析カラム：Spherisorb® S5 C8 (50×4.6 mm ID,5 µm,Waters) ガードカラム: Spherisorb® S5 C8(10×4.6 mm ID,5 µm,Waters) 検出：MRM m/z 541→272 (FK228)，510→217 (IS) 注入量：20 µL 移動相：メタノール／12 mM 酢酸アンモニウム／アセトニトリル（60:30:10） 流速：0.55 mL/min 測定時間：5.5 分 内標準物質：Boc-Met-Leu-Phe-OH	ラット血漿	血漿（0.1 mL）、50 mM リン酸緩衝液（1 mL, pH 4.0）及び内標準溶液（100 µL, 0.1 µg/mL アセトニトリル溶液）を混和し 1 分間放置。酢酸エチル（3 mL）加え 15 分間振とうし、3000rpm で 5 分間遠心分離した。有機層を採取し、窒素気流下溶媒留去した。残渣を移動相 100 µL で再溶解し、その 20 µL を HPLC へ注入した。	0.5～500 ng/mL (0.5 ng/mL)	[redacted]066391	4.2.2.1.2

方法	マトリックス	試料処理	分析範囲（定量下限）	試験番号	添付資料
LC/MS/MS 法によるイヌ血漿中 FK228 濃度定量法のバリデーション 質量分析計：API3000(MDS SCIEX) HPLC：Waters 2690XE(Waters) 分析カラム：Spherisorb ®S5 C8(50×4.6 mm ID,5 µm,Waters) ガードカラム: Spherisorb ®S5 C8(10×4.6 mm ID,5 µm,Waters) 検出：MRM m/z 541→272 (FK228)，510→217 (IS) 注入量：20 µL 移動相：メタノール／12 mM 酢酸アンモニウム／アセトニトリル（60:30:10） 流速：0.55 mL/min 測定時間：5.5 分 内標準物質： Boc-Met-Leu-Phe-OH	イヌ血漿	血漿（0.1 mL）、50 mM リン酸緩衝液（1 mL, pH 4.0）及び内標準溶液（100 µL, 0.1 µg/mL アセトニトリル溶液）を混和し 1 分間放置。酢酸エチル（3 mL）加え 15 分間振とうし、3000rpm で 5 分間遠心分離した。有機層を採取し、窒素気流下溶媒留去した。残渣を移動相 100 µL で再溶解し、その 20 µL を HPLC へ注入した。	0.5～500 ng/mL (0.5 ng/mL)	[redacted]036481	4.2.2.1.3
ラット血漿，胆汁，尿及び糞中の[^{14}C]-ロミデプシン代謝物の分離・分析のための分析法の詳細 HPLC：Waters 2695 Separations Module Alliance 検出器：Waters 2487 Dual λ（UV 210 nm）注入量：50～100 µL 移動相（グラジエント）： （A）20 mM 酢酸緩衝液（pH 5） （B）アセトニトリル 流速：1.0 mL/min 試料及び HPLC で分画した溶出液中の放射能は液体シンチレーションカウンターで測定	血漿、胆汁、尿、糞（ラット）	胆汁：胆汁試料 2 mL に 50 mM 酢酸緩衝液（pH 5）又は β-グルクロニダーゼ又は β-グルクロニダーゼ／アリールスルファターゼ溶液を各 0.25 mL 及び 50 mM 酢酸緩衝液（pH 5）3 mL を混和し、37°C で 24 時間インキュベーションした。 血漿／糞：血漿／糞ホモジネート試料 0.5～1.0 mL 及び 500 mM ジチオスレイトール 20～40 µL を 37°C で 10 分間インキュベーションし、メタノール 2.5～4.0 mL を添加して 10 分間振とうした後、遠心分離し、上清を採取して窒素気流下溶媒留去した。5%メタノール水溶液 100 µL で再溶解した。 胆汁、酵素処理胆汁及び尿の固相抽出：あらかじめメタノール、水及び 50 mM 酢酸緩衝液（pH 5）で洗浄した SPE C_{18}（500 mg/3 mL，YMC）カートリッジに試料 0.5～2.0 mL を 50 mM 酢酸緩衝液 2 mL で希釈して負荷した。50 mM 酢酸緩衝液 4 mL で洗浄後、メタノール 5 mL で溶出した。溶出液を窒素気流下溶媒留去し、5%メタノール水溶液 100 µL で再溶解した。	報告書に記載なし	CRD040010	4.2.2.1.5

方法	マトリックス	試料処理	分析範囲 （定量下限）	試験番号	添付資料
ラット／ヒト肝ミクロソームとのインキュベーション後のロミデプシン代謝物の分析，若しくはロミデプシンを投与したラットから採取した胆汁の分析 ロミデプシン代謝物の分離には 12 種類の HPLC 条件を用いた。 HPLC 装置 #1（5 種類のグラジエント条件）： ポンプ：Beckman System Gold インジェクター：Rheodyne 7725i ガードカラム：TSK guardgel ODS-80Ts(15×3.2 mm ID) 分析カラム：TSKgel ODS80TM(150×4.6 mmID., 5 μm) カラム温度：40°C 検出：210 nm（UV） 移動相：（A）20 mM 酢酸－酢酸アンモニウム緩衝液（pH 4.0）、（B）：アセトニトリル 流速：1 mL/min HPLC 装置 #2（2 種類のグラジエント条件）： Waters 2695 Separations Module, Alliance 検出器：Waters 2487 試料温度：4°C ガードカラム：TSK guardgel ODS-80Ts(15×3.2 mm ID) 分析カラム：TSKgel ODS-80TM(150×4.6 mmID., 5 μm) カラム温度：40°C 検出：210 nm（UV） 移動相：（A）20 mM 酢酸－酢酸アンモニウム緩衝液（pH 4.0）、（B）：アセトニトリル 流速：1 mL/min フローシンチレーションアナライザー：Radiomatic 525TR/FLO-One セル容量：0.5 mL シンチレーター流速：3 mL/min シンチレーター：Ultima-Flo M 更新時間：12 秒 エネルギー領域：4～90 又は 4～156 keV 分析時間：50 分	ラット及びヒト肝ミクロソーム、ラット胆汁	インキュベーション後試料（ヒト肝ミクロソーム）： メタノール／アセトニトリル（1:1）2 mL を添加することにより反応を停止させ、試料を 12,000 rpm で 2 分間遠心した。上清を窒素気流下で溶媒を留去し、50%アセトニトリルで再溶解した。 胆汁試料：プールした胆汁試料（2 mL）に 50 mM 酢酸－酢酸ナトリウム緩衝液（pH 5.0）2 mL を添加し、 YMC Dispo SPE C18 で処理した。溶出液を窒素気流下で溶媒留去し、10%メタノールに再溶解した。	報告書に記載なし ［インラインシンチレーション計数法の放射能検出限界：バックグラウンドの 2 倍（バックグラウンド値 16 cpm）］	CRD040013	4.2.2.1.6

方法	マトリックス	試料処理	分析範囲 （定量下限）	試験番号	添付資料
LC/MS/MS 法によるラット血漿中ロミデプシン濃度定量法のパーシャルバリデーション 質量分析計：API4000^{TM}(MDS SCIEX) HPLC：Shimadzu HPLC システム(島津) 分析カラム：HyperClone BDS C8 (50×2.0 mm ID,5 µm, Phenomenex) 検出：MRM 541.2 → 272.1（ロミデプシン）、510.2 → 217.2 (IS) 注入量：10 µL 移動相（グラジエント）： （A）H_2O：ギ酸／100:0.1 (v:v) （B）メタノール：ギ酸／100:0.1 (v:v) 流速：500 µL/min 測定時間：6.0 分 内部標準物質：Boc-Met-Leu-Phe-OH	ラット血漿（ヘパリンナトリウム）	血漿（50 µL）、内標準溶液（5 µL, 1.0 µg/mL アセトニトリル）及び 50 mM リン酸緩衝液（pH 4.0、 0.3 mL）を 5 分間混合した。酢酸エチル（0.9 mL）を加え約 10 分間混合し、14000 rpm で 5 分間遠心分離した。有機層(750 µL)を採取し、窒素気流下溶媒を留去した。残渣を溶解液に再溶解し、3 分間混合，14000 rpm で 5 分間遠心分離した。上清 90 µL を採取し、HPLC 注入試料とした。	0.5～500 ng/mL (0.5 ng/mL)	ROMI-DMPK-003	4.2.2.1.4

3. 薬物動態試験：吸収：単回投与

3.1. 単回投与試験 A

被験物質：[^{14}C]-ロミデプシン
添付資料：4.2.2.2.1
試験番号：CRD040009

動物種／系統	ラット／Sprague Dawley	
性別／動物数	雄／3 匹／群	
給餌	非絶食	
溶媒／投与形態	プロピレングリコール／エタノール（8:2）に溶解し、9 倍容量の生理食塩液で希釈	
投与方法	静脈内ボーラス投与	
投与量（mg/kg）	0.3（5 mL/kg）	
投与放射能量（μCi/kg）	28.6	
試料（全血，血漿，血清など）	血漿、血液	
定量物質	[^{14}C] 総放射能	
定量法	液体シンチレーションカウンター	
定量下限 (cpm)	バックグランド値（16 cpm）の 2 倍	
放射能の PK パラメータ	血漿	血液
$t_{½}$ (h) 8-48 h	13.2	19.6
$t_{½}$ (h) 72-168 h	-	66.9
$C_{0.083\ h}$ (ng eq./mL)	276.5	412.0
$AUC_{0\text{-}48\ h}$ (ng eq.·h/mL)	466.1	-
$AUC_{0\text{-}168\ h}$ (ng eq.·h/mL)	-	2313.9
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng eq.·h/mL)	483.5	2546.4

3.2. 単回投与試験 B

被験物質：ロミデプシン
添付資料：4.2.2.2.2
試験番号：501650

動物種／系統	ラット／Sprague Dawley (Crl:CD(SD)IGS BR)					
性別／動物数	雄／10	雌／10	雄／10	雌／10	雄／10	雌／10
給餌	非絶食					
溶媒／投与形態	2%エタノール／98%生理食塩液 (v/v)					
投与方法	静脈内ボーラス投与					
投与量（mg/kg）	0.1（5 mL/kg）		0.33（5 mL/kg）		0.67/1[a]（5 mL/kg）	
試料（全血，血漿，血清など）	血漿					
定量物質	ロミデプシン					
定量法	LC/MS/MS					
分析範囲（ng/mL）	0.5～500					
PK パラメータ：						
t_{max} (h)	0	0	0	0	0	0
C_{max} (ng/mL)	9.50	17.9	53.0	37.1	60.7	93.0
t_{last} (h)	0.50	0.50	2	1	4	2
$AUC_{0\text{-}tlast}$ (ng·h/mL)	1.76	2.49	11.7	7.96	17.0	18.7
k_{el} (hr^{-1})*	NC	NC	0.960	3.33	0.800	1.45
$t_{1/2el}$ (hr)	NC	NC	0.722	0.208	0.867	0.479
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng·h/mL)	NC	NC	12.4	8.21	17.2	19.0
%Extrapolation $AUC_{0\text{-}\infty}$	NC	NC	5.10	3.06	1.22	1.51
C_{max}/dose (ng/mL)/(mg/kg)	95.0	179	161	112	90.6	139
AUC_{last} /dose (ng·h/mL)/(mg/kg)	17.6	24.9	35.5	24.1	25.4	27.9

NC：算出せず。 *終末相を特定できないため、k_{el}（消失速度定数）を求めるために必要な 3 時点以上の消失相の血漿中濃度が得られなかったことより、k_{el} より求める全てのパラメータ（$t_{1/2}$，AUC∞，% Extrapolation AUC∞）は算出できなかった。

[a] 最初の 2 週間（2 回投与）は 0.67mg/kg であったが、その後、残りの試験期間（24 週間）にわたり 1.0mg/kg に増量した。

3.3. 単回投与試験 C

被験物質：ロミデプシン
添付資料：4.2.2.2.3
試験番号：GLR040231

動物種／系統	**イヌ／HRA ビーグル**			
性別／動物数	雄／3	雌／3	雄／3	雌／3
給餌	非絶食			
溶媒／投与形態	0.2%エタノール及び 0.8 %プロピレングリコール含有生理食塩液			
投与方法	4 時間静脈内持続投与			
投与量（mg/kg/4 h）	0.3 (2 mL/kg/h)		1.0 (2 mL/kg/h)	
試料（全血，血漿，血清など）	血漿			
定量物質	ロミデプシン			
定量法	LC/MS/MS			
分析範囲（ng/mL）	0.5～500			
PK パラメータ平均値：				
t_{max} (h)[a]	1.0	1.7	1.0	1.3
C_{max} (ng/mL)	48.8	43.3	218	146
$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (ng h/mL)	163.4	143.2	670.9	454.4
追記：血漿中薬物濃度は 0.3 mg/kg 投与群の全動物で投与開始後 5 又は 10 時間までに、1.0 mg/kg 投与群の雌 3 例中 1 例で投与開始後 8 時間までに、その他すべての動物では、それ以降に定量下限未満となった。ただし、例外として、1.0 mg/kg 投与群の雄 3 例中 1 例では、投与開始後 24 時間にも低濃度の被験物質が残存していた。				

[a]　投与開始時を起点とする相対的時間（すなわち、t_0=4 時間静脈内投与開始時）

4. 薬物動態試験：吸収：反復投与

4.1. 反復投与試験 A

被験物質：ロミデプシン
添付資料：4.2.2.2.2
試験番号：501650

動物種／系統	ラット／Sprague Dawley (Crl:CD(SD)IGS BR)					
性別／動物数	雄／10	雌／10	雄／10	雌／10	雄／10	雌／10
給餌	非絶食					
溶媒／投与形態	2%エタノール／98%生理食塩液 (v/v)					
投与方法	静脈内ボーラス投与					
投与量（mg/kg）	0.1		0.33		0.67/1[a]	
試料（全血，血漿，血清など）	血漿					
定量物質	ロミデプシン					
定量法	LC/MS/MS					
分析範囲（ng/mL）	0.5～500					
PK パラメータ平均値（月 3 回投与後の Day 176）：						
t_{max} (h)	0	0	0	0	0	0
C_{max} (ng/mL)	19.0	19.2	129	92.3	377	362
t_{last} (h)	1	1	4	2	6	6
AUC_{last} (ng·h/mL)	5.16	4.22	28.7	20.4	86.9	73.2
k_{el} (h^{-1})	3.36	3.03	0.625	1.02	0.356	0.588
$t_{1/2el}$ (h)	0.206	0.229	1.11	0.681	1.95	1.18
AUC_{∞} (ng·h/mL)	5.33	4.41	29.4	21.3	88.7	74.4
%Extrapolation AUC_{∞}	3.22	4.25	2.19	4.48	2.02	1.67
C_{max}/Dose (ng/mL)/(mg/kg)	190	192	390	280	377	362
AUC_{last} /Dose(ng·h/mL)/(mg/kg)	51.6	42.2	87.1	61.7	86.9	73.2
ΔC_{max} (%)	100	7.22	143	149	316	160
Δ AUC_{last} (%)	193	69.6	145	156	242	163

[a] 2 回目の投与後、試験の残りの期間にわたり用量 0.67 mg/kg を 1 mg/kg に変更した。

4.2. 反復投与試験 B（投与用量設定試験）

被験物質：ロミデプシン
添付資料：4.2.2.2.4
試験番号：[redacted]2-6464-XCV

動物種／系統	イヌ／ビーグル					
性別／動物数	雄／2	雌／2	雄／2（1 匹死亡）	雌／2（1 匹死亡）	雄／2（2 匹死亡）	雌／2（1 匹死亡）
溶媒／投与形態	エタノール／プロピレングリコール（1：4）溶液を生理食塩液で希釈					
投与方法	静脈内投与（Day 1 30 秒間：1 mL/kg、Day 12 10 mL/分：4 mL/kg，Day 19 1 時間：2 mL/kg/h）					
投与量（mg/kg）	0.5		1.0		2.0	
試料（全血，血漿，血清など）	血漿					
定量物質	ロミデプシン					
定量法	HPLC/UV					
分析範囲（μg/mL）	0.1～1、1～5					
PK パラメータ平均値：						
Day 1						
t_{max} (min)[a]	2	2	2	2	2	2
C_{max} (μg/mL)	2.666	2.289	2.828	2.123	2.895	2.676
Day 19						
t_{max} (min) [a]	2	2	2	2	-	2
C_{max} (μg/mL)	0.368	0.301	0.467	0.313	-	0.403
追記：2.0 mg/kg 投与群の雄 2 例及び雌 1 例、並びに 1.0 mg/kg 投与群の雄 1 例及び雌 1 例を Day 1 の投与以降、Day 12 の投与前に状態悪化により安楽死させた。この死亡は投与速度に関連していると考えられたため、次の投与（Day 12）は約 4 分間で実施した。摂餌と投与の時間的関係は不明である。						

[a] ボーラス／持続投与終了時を起点とする相対的時間。

4.3. 反復投与試験 C

被験物質：ロミデプシン
添付資料：4.2.2.2.5
試験番号：[redacted]3-6464-XCVI

動物種／系統	イヌ／ビーグル					
性別／動物数	雄／1	雌／1	雄／1	雌／1	雄／1	雌／1
溶媒／投与形態	エタノール／プロピレングリコール（1：4）溶液を生理食塩液で希釈					
投与方法	1～1.5 時間静脈内持続投与（週 1 回×4 週間又は週 2 回×4 週間）					
投与量（mg/kg）	0.5		1.0		2.0	
試料（全血，血漿，血清など）	血漿					
定量物質	ロミデプシン					
定量法	HPLC/UV					
分析範囲（μg/mL）	0.2～6					
PK パラメータ：1～1.5 時間静脈内持続投与（週 1 回×4 週間）						
Day 1						
採血時間 (min)[a]	2	2	2	1	2	2
濃度 (μg/mL)	0.253	0.265	0.654	0.401	0.615	1.108
Day 22						
採血時間 (min)[a]	2	2	2	2	2	2
濃度 (μg/mL)	0.423	0.424	1.197	0.497	1.271	1.073
PK パラメータ：1～1.5 時間静脈内持続投与（週 2 回×4 週間）						
Day 1						
採血時間 (min)[a]	2	2	2	2	2	3
濃度 (μg/mL)	0.306	0.324	0.354	0.375	0.578	0.349
Day 25						
採血時間 (min)[a]	2	2	2	2	2	2
濃度 (μg/mL)	0.350	0.665	0.645	0.789	0.730	1.547
追記：投与後 2 分の試料のみを分析した。流速が一定していなかったため、Day 11 以降に注入ポンプを交換した。一部の動物で流速計算値が新たなポンプの性能を超えていたため、これらの動物の注入時間を 1～31 分延長した。溶媒投与群の Day 18 の雄 1 例及び 1.0 mg/kg 週 1 回投与群の Day 15 の雌 1 例でポンプにより投与液を送達できなかったため、これらの動物には、それぞれ最初の投与 32 及び 94 分後に追加の投与液を持続投与した。摂餌と投与の時間的関係は不明である。						

[a] 持続投与終了時を起点とする相対的時間。

5. 薬物動態試験：分布

被験物質：[^{14}C]-ロミデプシン
添付資料：4.2.2.3.3
試験番号：CRD040009

動物種／系統	ラット／Sprague Dawley				
性別／動物数	雄／3 匹／群				
給餌	非絶食				
溶媒／投与形態	プロピレングリコール／エタノール（8:2）に溶解し、9 倍量の生理食塩液で希釈				
投与方法	静脈内ボーラス投与				
投与量（mg/kg）	0.3				
放射性核種	[^{14}C]-ロミデプシン				
比放射能	3.53 MBq/mg（95.3 μCi/mg）				
試料採取時間	投与後 0.083、 4、24 及び 168 時間				
定量法	液体シンチレーションカウンターによる総放射能測定				
	濃度（ng eq./mL or g）[a]				
組織／器官	0.083 時間	4 時間	24 時間	168 時間	0.083 時間における組織／血漿濃度比
血漿	276.5	23.1	2.6	ND	1.00
血液	412.0	71.0	25.7	2.4	1.48
大脳	9.0	ND	ND	ND	0.03
小脳	10.2	ND	ND	ND	0.03
脳幹	6.9	ND	ND	ND	0.02
脳下垂体	301.2	185.2	99.6	36.4	1.09
眼球	60.1	16.6	8.1	1.8	0.21
顎下腺	450.2	124.1	65.8	9.9	1.64
甲状腺	426.5	149.7	78.8	18.3	1.56
胸腺	125.6	111.1	80.7	14.9	0.45
心臓	489.6	73.8	25.2	1.5	1.77

組織／器官	0.083 時間	4 時間	24 時間	168 時間	0.083 時間における組織／血漿濃度比
肺	496.1	149.8	60.8	9.8	1.79
肝臓	663.7	126.2	58.2	14.2	2.44
腎臓	2187.3	194.9	80.6	12.0	8.03
副腎	586.7	214.9	118.9	44.1	2.15
脾臓	443.8	320.8	176.1	55.1	1.65
膵臓	422.8	91.5	43.3	5.2	1.55
白色脂肪	34.1	23.7	8.8	ND	0.12
褐色脂肪	292.3	79.2	27.7	3.8	1.10
筋肉	200.2	34.4	9.6	1.5	0.71
皮膚	128.2	61.8	29.5	6.3	0.46
前立腺	215.0	57.8	38.3	ND	0.76
膀胱	791.0	59.5	29.0	5.7	2.76
精巣	25.8	17.6	10.4	3.8	0.09
大腿骨	79.4	43.3	18.1	3.2	0.28
骨髄	313.0	250.1	119.9	7.7	1.13
腸間膜リンパ節	229.2	206.5	132.5	49.2	0.84
胃	297.0	104.1	61.8	8.8	1.08
空腸	684.3	170.5	76.6	4.2	2.49
回腸	198.6	385.6	79.8	5.4	0.72
結腸	236.5	113.3	57.1	5.0	0.86

[a] [^{14}C]-ロミデプシン由来の総放射能濃度。値はラット 3 例の平均値を示す。
ND：検出されず。

6. 薬物動態試験：タンパク結合

被験物質：[^{14}C]-ロミデプシン
添付資料：4.2.2.3.1
試験番号：CRD040011

試験系	In vitro	
定量物質	[^{14}C]-ロミデプシン	
比放射能	記載なし	
定量法	液体シンチレーションカウンター（LSC）	
動物種	**検討した濃度（ng/mL）**	**結合率（%）**
ラット（血清）	50-5000	37.75-40.81
イヌ（血清）	50-5000	73.14-87.70
ヒト（血清）	50-5000	82.16-94.53
ヒト（血漿）	50-5000	82.28-93.80
ヒト血清アルブミン [a]	500	19.91
α$_1$-酸性糖タンパク質 [b]	500	93.51
追記：検討した濃度におけるラットのタンパク結合率は一定であったが、イヌ及びヒトのタンパク結合率は 5000 ng/mL で低下した。		

[a] タンパク質濃度（アルブミン）40 mg/mL、[b] タンパク質濃度（α$_1$-酸性糖タンパク質）1 mg/mL。

7. 薬物動態試験：血球移行

被験物質：[^{14}C]-ロミデプシン
添付資料：4.2.2.3.2
試験番号：CRD040012

試験系	In vitro			
動物種	ラット	イヌ	ヒト	
溶媒／投与形態	アセトニトリル溶液			
放射性核種	[^{14}C]-ロミデプシン			
比放射能	3.53 MBq/mg（95.3 μCi/mg）			
定量法	液体シンチレーションカウンター			
定量物質	[^{14}C]総放射能			
インキュベーション条件	氷浴中（約 4ºC）			
動物種	**濃度（[^{14}C]-ロミデプシン）**			
	50 ng/mL	**500 ng/mL**	**1000 ng/mL**	**5000 ng/mL**
ラット				
血液／血漿濃度比	0.75	0.75	ND	0.68
血球移行率	22.8	25.2	ND	15.6
イヌ				
血液／血漿濃度比	0.59	0.58	ND	0.65
血球移行率	2.3	1.5	ND	12.3
ヒト				
血液／血漿濃度比	0.59	0.61	0.56	0.60
血球移行率	4.7	8.7	1.4	4.8

ND：実施せず

8. 薬物動態試験：代謝：In Vivo

被験物質：[^{14}C]-ロミデプシン
添付資料：4.2.2.4.1
試験番号：CRD040010

動物種／系統	ラット／Sprague Dawley			
性別／動物数	雄／3 匹／群			
給餌	非絶食			
溶媒／投与形態	プロピレングリコール／エタノール（8:2）に溶解し、9 倍量の生理食塩液で希釈			
投与方法	静脈内ボーラス投与			
投与量（mg/kg）	0.3（5mL/kg）			
放射性核種	[^{14}C]-ロミデプシン			
比放射能（MBq/mg）	3.53（95.3 μCi/mg）			
定量物質	[^{14}C]総放射能			
定量法	液体シンチレーションカウンター			
試料処理	HPLC で分離・分画			
代謝物	試料中の放射能に対する比率%（投与した放射能に対する比率%）			
	胆汁（0 - 48 時間）	尿（0 - 48 時間）	糞（0 - 48 時間）	
			無処理	ジチオスレイトール処理
前処理回収率 排泄率	93.4 66.1	99.0 15.9	61.0 75.1	70.3 75.1
ロミデプシン	4.5 (3.0)	26.7 (4.2)	2.1 (1.6)	2.7 (2.0)
MH-1	ND	ND	0.6 (0.4)	1.0 (0.7)
MH-2	3.7 (2.5)	ND	2.3 (1.7)	2.4 (1.8)
MH-3	5.4 (3.5)	ND	1.6 (1.2)	1.7 (1.2)
MH-4	2.6 (1.7)	ND	0.6 (0.5)	0.8 (0.6)
MH-5	7.0 (4.6)	ND	0.7 (0.6)	0.7 (0.5)
MH-6	3.8 (2.5)	ND	0.8 (0.6)	0.6 (0.5)
MH-7	1.1 (0.7)	ND	0.7 (0.5)	0.4 (0.3)
MH-8	1.5 (1.0)	0.5 (0.1)	0.4 (0.3)	0.4 (0.3)

代謝物	試料中の放射能に対する比率%（投与した放射能に対する比率%）			
	胆汁（0 - 48 時間）	尿（0 - 48 時間）	糞（0 - 48 時間）	
			無処理	ジチオスレイトール処理
MH-9	2.2 (1.5)	1.0 (0.2)	0.5 (0.4)	0.4 (0.3)
MH-10	7.5 (4.9)	0.5 (0.1)	0.6 (0.4)	0.5 (0.4)
MH-11	ND	ND	0.4 (0.3)	1.2 (0.9)
MH-12	4.0 (2.6)	0.9 (0.2)	0.3 (0.2)	0.3 (0.2)
MH-13	5.9 (3.9)	2.4 (0.4)	0.8 (0.6)	0.5 (0.4)
MH-14	1.5 (1.0)	1.7 (0.3)	0.7 (0.5)	0.5 (0.4)
MH-15	5.5 (3.6)	4.4 (0.7)	2.8 (2.1)	4.5 (3.4)
MH-16	2.2 (1.5)	2.1 (0.3)	3.4 (2.6)	2.7 (2.0)
MH-17	1.4 (0.9)	1.2 (0.2)	1.7 (1.3)	1.8 (1.3)
MH-18	2.6 (1.7)	1.7 (0.3)	2.2 (1.7)	2.1 (1.6)
MH-19	2.2 (1.4)	2.2 (0.4)	2.0 (1.5)	5.2 (3.9)
MH-20	1.9 (1.2)	2.7 (0.4)	1.6 (1.2)	1.5 (1.1)
MH-21	6.9 (4.6)	5.5 (0.9)	5.2 (3.9)	6.2 (4.6)
MH-22	1.0 (0.7)	2.0 (0.3)	2.1 (1.6)	2.0 (1.5)
MH-23	1.3 (0.9)	4.6 (0.7)	2.4 (1.8)	1.9 (1.4)
MH-25	ND	1.5 (0.2)	1.3 (1.0)	1.1 (0.8)
MH-26	ND	2.3 (0.4)	2.1 (1.6)	1.6 (1.2)
MH-27	ND	1.4 (0.2)	1.3 (1.0)	1.0 (0.7)
MH-28	0.6 (0.4)	1.3 (0.2)	1.1 (0.8)	1.5 (1.2)
MH-29	ND	ND	0.8 (0.6)	2.9 (2.1)
MH-30	1.5 (1.0)	8.5 (1.4)	2.8 (2.1)	3.1 (2.3)
MH-31	2.0 (1.3)	4.8 (0.8)	1.6 (1.2)	2.8 (2.1)

ND：検出せず。
前処理回収率（%）は試料中からの抽出率である。
排泄率（%）は投与した放射能に対する比率である。

9. 薬物動態試験：In Vitro 代謝

被験物質：[^{14}C]-ロミデプシン
添付資料：4.2.2.4.2
試験番号：CRD030200

動物種／系統				雄ラット／Crj: CD(SD) IGS）、雄イヌ／ビーグル、ヒト												
動物種	NADPH 生成系	反応時間（分）	ロミデプシン（nmol/L）	推定代謝物の反応液中濃度（nmol/L）[a]												
				M1	M3	M6	M7	M8	M10	M11	M12	VMH-1	VMH-2	VMH-3	VMH-4
ラット	+	5	8818	135	80	37	11	58	ND	140	162	36	11	55	87
	+	10	8072	113	156	81	ND	192	ND	151	227	91	46	170	210
	+	20	6744	89	306	150	ND	427	ND	184	209	188	109	381	319
	+	40	5068	32	498	328	62	618	ND	187	157	372	170	531	616
	-	10	9239	451	5	1	ND	ND	9	42	55	ND	ND	ND	ND
イヌ	+	5	9105	127	120	3	15	80	220	55	38	19	4	ND	ND
	+	10	8784	139	154	ND	57	141	269	46	34	27	4	ND	ND
	+	20	8109	139	241	ND	77	239	369	121	85	50	32	ND	ND
	+	40	7326	114	388	52	168	387	345	129	85	43	61	ND	ND
	-	10	9281	365	7	5	3	6	29	29	50	ND	ND	ND	ND
ヒト	+	5	8641	79	170	10	42	116	271	32	44	146	82	ND	ND
	+	10	7443	76	359	31	164	230	316	65	50	166	177	ND	ND
	+	20	5894	61	555	64	219	424	435	108	53	331	281	9	ND
	+	40	3855	68	780	111	450	722	583	100	47	439	356	82	ND
	-	10	9363	331	6	ND	ND	3	22	52	39	ND	ND	ND	ND
ラット[b]	+	5	9438	269	6	ND	ND	ND	11	17	28	ND	ND	ND	ND
	+	10	9089	501	4	11	4	9	3	23	35	ND	ND	ND	ND
	+	20	8972	604	4	ND	ND	ND	ND	39	67	ND	ND	ND	11
	+	40	8254	1003	2	5	3	21	15	78	141	ND	ND	ND	ND
ラット[b]	-	5	9270	335	ND	ND	ND	4	ND	48	57	ND	ND	ND	ND
	-	10	8990	567	ND	ND	1	11	ND	61	48	ND	ND	ND	ND
	-	20	8341	885	5	1	ND	15	ND	57	116	ND	ND	ND	ND
	-	40	7954	1075	ND	ND	ND	15	ND	91	110	ND	ND	ND	ND
緩衝液	-	10	9725	18	5	48	ND	ND	ND	16	4	ND	ND	ND	ND
	-	20	9800	ND	3	23	ND	5	ND	1	4	ND	ND	ND	ND

動物種／系統				雄ラット／Crj: CD(SD) IGS）、雄イヌ／ビーグル、ヒト											
動物種	NADPH 生成系	反応時間（分）	ロミデプシン（nmol/L）	推定代謝物の反応液中濃度（nmol/L）[a]											
				M1	M3	M6	M7	M8	M10	M11	M12	VMH-1	VMH-2	VMH-3	VMH-4
	-	40	9743	10	ND	27	ND	5	5	15	9	ND	ND	ND	ND

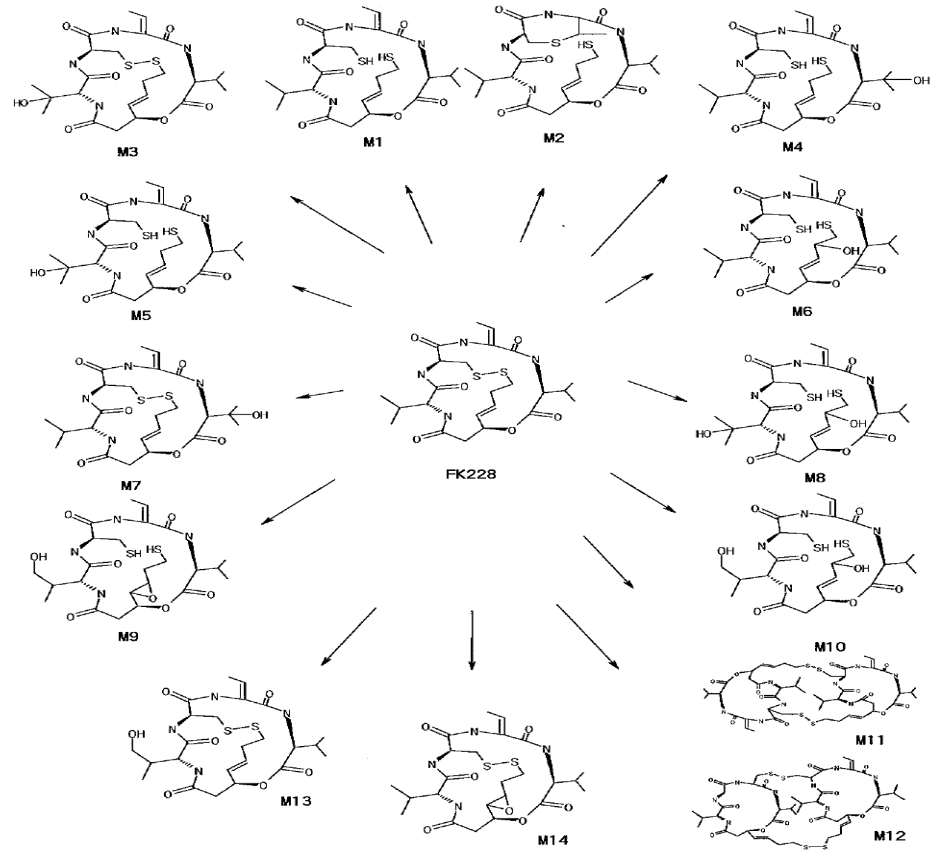
[a] 濃度は[^{14}C]当量。
[b] 変性ミクロソーム（>95°C で 5 分間処理）。
追記：[^{14}C]-ロミデプシンの初期濃度は 9809 nmol/L。VMH-1、VMH-2、VMH-3 及び VMH-4 は未同定代謝物。
ND：検出せず。

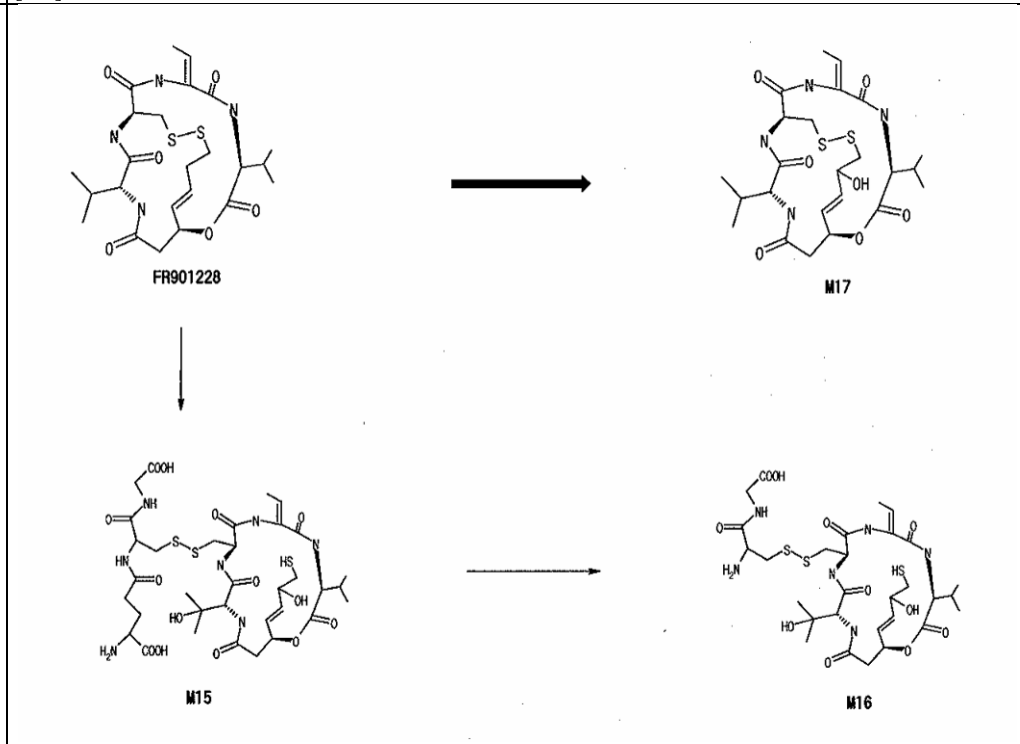
試験系			ミクロソーム			
動物種	NADPH 生成系	反応時間（分）	放射能回収率(%)	放射能回収率に対する DTT の影響（%）		
				2 mmol/L DTT 添加（インキュベーション前）	2 mmol/L DTT 添加（インキュベーション後）	20 mmol/L DTT 添加（インキュベーション後）
ラット	+	5	91.2			
	+	10	90.2			
	+	20	81.3			
	+	40	76.4	98.8	79.3	87.7
	-	10	98.9			
イヌ	+	5	96.0			
	+	10	102.0			
	+	20	96.4			
	+	40	89.8	101.2	91.9	99.2
	-	10	100.8			
ヒト	+	5	98.2			
	+	10	86.8			
	+	20	85.2			
	+	40	75.9	101.7	75.5	88.6
	-	10	97.0			
ラット[a]	+	5	97.6			
	+	10	91.3			
	+	20	88.2			
	+	40	81.4			
ラット[a]	-	5	91.1			
	-	10	91.6			
	-	20	87.2			
	-	40	85.7			
ラット	+	0	104.8			

[a] 変性ミクロソーム（>95°C で 5 分間処理）。

10. 薬物動態試験：推定代謝経路

被験物質：[^{14}C]-ロミデプシン
添付資料：4.2.2.4.3
試験番号：CRD040013

検討した動物種	ヒト及びラット肝ミクロソーム
被験物質	[^{14}C]-ロミデプシン
推定代謝経路	

検討した動物種	ラット
被験物質	[^{14}C]-ロミデプシン
推定代謝経路	

11. 薬物動態試験：ヒトの代謝物分析と同定

被験物質：ロミデプシン
添付資料：4.2.2.4.4
試験番号：ROMI-DMPK-1510

試験系	進行性がん患者においてリファンピシンの反復経口投与がロミデプシンの単回投与薬物動態に与える影響評価のための第一相二期非盲検試験）の第一期で処置した 13 名の患者から採取したヒト血漿中の代謝物分析と同定。
処理	Hamilton プール法により 0～48 時間の採血時点の血漿試料をプールし、各患者毎に一つの混合血漿を得た。その後、一つの全体プール試料を作るため、各患者プール血漿試料からの等量を混合してプールした。
分析法	LC-UV/MS
結果	HPLC-UV 検出器及び質量分析計（MS）のいずれにおいてもプールしたヒト血漿中ではロミデプシンのみが同定され、他の代謝物は検出されなかった。また、投与前及び投与後の試料比較において新たなあるいはヒトのみで見いだされる代謝物は検出されなかった。 結論として、患者の血漿試料からはロミデプシンのみが検出され、他の代謝物は同定されなかった。

12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害／誘導

被験物質：[^{14}C]-ロミデプシン
添付資料：4.2.2.4.
試験番号：CRD030201

試験系	ヒト肝ミクロソーム（プール及び個別）、遺伝子組換え P450 酵素及び CYP3A4 抑制性モノクローナル抗体
処理	ケトコナゾール（CYP3A 阻害剤）存在下及び非存在下、[^{14}C]-ロミデプシン（10 µmol/L）をヒト肝ミクロソームとともに 37°C で 7.5 分間インキュベーションした。
分析法	HPLC-LSC

P450	**ロミデプシン消失活性（pmol/10 min/ 50 pmol P450）**
CYP1A1	109
CYP1A2	0
CYP1B1	0
CYP2A6	0
CYP2B6	30
CYP2C8	0
CYP2C9*1（野生型）	0
CYP2C18	0
CYP2C19	28
CYP2D6*1（野生型）	0
CYP2E1 + チトクローム b_5	0
CYP3A4 + チトクローム b_5	2098
CYP3A5	352
CYP4A11	0

プールヒト肝ミクロソーム中でのケトコナゾールによるロミデプシン代謝の阻害	
ケトコナゾール（µmol/L）	**ロミデプシン消失活性（対照に対する%）**
0.1	41.2
1	<10
10	<10

13. 薬物動態試験：排泄

被験物質：[^{14}C]-ロミデプシン
添付資料：4.2.2.5.1
試験番号：CRD040009

動物種／系統	ラット／Sprague Dawley					
性別／動物数	雄／3匹／群					
給餌	非絶食					
溶媒／投与形態	プロピレングリコール／エタノール（8:2）に溶解し、9倍量の生理食塩液で希釈					
投与方法	静脈内ボーラス投与					
放射性核種	[^{14}C]-ロミデプシン					
比放射能（MBq/mg）	3.53（95.3 μCi/mg）					
投与量（mg/kg）	0.3					
定量物質	[^{14}C］総放射能					
定量法	液体シンチレーションカウンター					
	投与した総放射能に対する比率（%）					
測定時間（h）	尿	糞	呼気	消化管内容物	屍体	合計
0 – 4	13.5	NS	NS	NS	NS	13.5
0 – 8	14.5	NS	NS	NS	NS	14.5
0 – 24	15.4	58.0	0.1	NS	NS	73.5
0 – 48	15.9	75.2	0.1	NS	NS	91.2
0 – 72	16.2	77.2	0.1	NS	NS	93.5
0 – 96	16.3	78.2	0.1(NS)	NS	NS	94.6
0 – 144	16.4	79.0	0.1(NS)	NS	NS	95.5
0 – 168	16.5	79.4	0.1(NS)	0.1	1.8	97.9

NS：試料採取なし。

14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中

被験物質：[^{14}C]-ロミデプシン
添付資料：4.2.2.5.1
試験番号：CRD040009

動物種／系統	ラット／Sprague Dawley					
性別／動物数	雄／3 匹／群					
給餌	非絶食					
溶媒／投与形態	プロピレングリコール／エタノール（8:2）に溶解し、9 倍量の生理食塩液で希釈					
投与方法	静脈内ボーラス投与					
放射性核種	[^{14}C]-ロミデプシン					
比放射能	3.53 MBq/mg（95.3 μCi/mg）					
投与量（mg/kg）	0.3 （5 mL/kg）					
定量物質	[^{14}C］総放射能					
定量法	液体シンチレーションカウンター					
	投与した総放射能に対する比率（%）					
測定時間（h）	胆汁	尿	糞	消化管内容物	屍体	合計
0 – 4	55.4	14.7	NS	NS	NS	70.1
0 – 8	59.7	16.1	NS	NS	NS	75.8
0 – 24	63.6	18.9	3.8	NS	NS	86.3
0 – 48	66.1	20.0	5.2	0.8	7.5	99.6
追記：[^{14}C]-ロミデプシンを静脈内ボーラス投与したとき、放射能の大部分は最初の 8 時間以内に胆汁中に排泄された。投与後 48 時間までに放射能は完全に回収された。						

NS：試料採取なし。

15. 薬物動態試験：薬物相互作用

15.1. 薬物相互作用試験 A

被験物質：ロミデプシン
添付資料：4.2.2.6.3
試験番号：CRD030209

試験系	ヒト肝ミクロソーム（プール）					
処理	ヒト肝ミクロソームを様々な濃度のロミデプシン又は陽性対照及び CYP アイソザイム特異的基質とともにインキュベーションした。					
分析法	HPLC (UV/VIS)					
反応	**ロミデプシンのチトクロム P450 活性に対する阻害**					
	ロミデプシン濃度（μmol/L）				**陽性対照阻害剤***	
	0	1	10	100	0	(+)
CYP1A2 (エトキシレゾルフィン O-脱エチル化) (pmol/min/mg protein)	18.7[a] (100.0[b])	18.7 (100.0)	17.6 (94.1)	16.6 (88.8)	19.8 (100.0)	4.59 (23.2)
CYP2C9 (トルブタミド水酸化) (pmol/min/mg protein)	223 (100.0)	211 (94.6)	214 (96.0)	200 (89.7)	223 (100.0)	31.0 (13.9)
CYP2C19 (S-メフェニトイン 4′-水酸化) (pmol/min/mg protein)	45.7 (100.0)	46.0 (100.7)	40.3 (88.2)	16.7 (36.5)	45.7 (100.0)	11.2 (24.5)
CYP2D6 (デブリソキン 4-水酸化) (pmol/min/mg protein)	26.9 (100.0)	27.6 (102.0)	25.8 (95.9)	20.5 (76.2)	27.8 (100.0)	8.65 (31.1)
CYP2E1 (クロルゾキサゾン 6-水酸化) (nmol/min/mg protein)	1.13 (100.0)	1.09 (96.5)	1.16 (102.7)	ND ND	1.28 (100.0)	0.220 (17.2)
CYP3A4 (ニフェジピン酸化) (nmol/min/mg protein)	1.32 (100.0)	1.26 (95.5)	1.06 (80.3)	0.504 (38.2)	1.45 (100.0)	<0.200 (<13.8)
CYP3A4 (テストステロン 6β-水酸化) (nmol/min/mg protein)	5.57 (100.0)	5.63 (101.1)	4.58 (82.2)	1.69 (30.3)	5.86 (100.0)	0.331 (5.6)
***：**使用した陽性対照阻害剤は、20 μmol/L フラフィリン（CYP1A2）、20 μmol/L スルファフェナゾール（CYP2C9）、25 μmol/L トラニルシプロミン塩酸塩（CYP2C19）、1 μmol/L キニジン酸塩（CYP2D6）、100 μmol/L ジエチルジチオカルバメート（CYP2E1）、0.5 μmol/L ケトコナゾール（CYP3A4）である。						

[a] 値は 2 試料の測定値の平均活性を示す。
[b] 括弧内の数値は各酵素分析における対照に対する比率（%）を示す。
ND：検討せず。

15.2. 薬物相互作用試験 B

被験物質：ロミデプシン
添付資料：4.2.2.6.1
試験番号：ROMI-DMPK-1479

試験系	ヒト肝ミクロソーム					
処理	ヒト肝ミクロソームを様々な濃度のロミデプシン又は陽性対照及び CYP アイソザイム特異的基質とともにインキュベーションした。					
分析法	LC/MS/MS					
ロミデプシンの CYP2B6 活性ブプロピン水酸化に対する直接及び時間依存的阻害						
ロミデプシン	**直接阻害 (DI)**		**時間依存的阻害(TDI)**			
			+ NADPH		**- NADPH**	
濃度 (µmol/L)	**活性 (pmol/min/mg protein)***	**対照活性に対する%**	**活性 (pmol/min/mg protein)***	**対照活性に対する%**	**活性 (pmol/min/mg protein)***	**対照活性に対する%**
対照	60.0	100	60.3	100	60.3	100
0.1	64.2	107	60.2	100	61.4	102
0.3	65.1	109	59.4	99	61.3	102
1	65.1	109	58.5	97	60.3	100
3	63.4	106	53.8	89	58.3	97
10	64.7	108	52.2	87	58.5	97
30	62.1	104	37.3	62	48.5	80
100	44.1	74	22.0	37	28.6	47
IC_{50}	>100 µmol/L		>30 µmol/L		>30 µmol/L	
陽性対照 [a]	12.3	29	8.43	15	54.6	83

*：3 試料の測定値の平均活性を示す。
追記： 10 µmol/L 以下のロミデプシンは CYP2B6 活性を阻害しなかったが、高濃度では弱い阻害を示した (IC_{50} > 100 µmol/L (DI) 及び > 30 µmol/L (TDI))。

ロミデプシンの CYP2C8 活性パクリタキセル 6-α 水酸化に対する直接及び時間依存的阻害						
ロミデプシン	**直接阻害 (DI)**		**時間依存的阻害(TDI)**			
			+ NADPH		**- NADPH**	
濃度(μmol/L)	**活性 (pmol/min/mg protein)***	**対照活性に対する%**	**活性 (pmol/min/mg protein)***	**対照活性に対する%**	**活性 (pmol/min/mg protein)***	**対照活性に対する%**
対照	122	100	31.5	100	32.3	100
0.1	106	87	30.5	97	31.8	99
0.3	97.4	80	29.5	94	31.3	97
1	92.2	76	25.3	80	29.7	92
3	88.5	73	28.5	91	29.7	92
10	89.1	73	27.6	88	29.7	92
30	86.8	71	24.5	78	28.3	88
100	77.1	63	16.7	53	20.1	62
IC_{50}	>100 μmol/L		>100 μmol/L		>100 μmol/L	
陽性対照 [b]	19.6	20	6.7	25	26.8	94

*：3 試料の測定値の平均活性を示す。

追記： 10 μmol/L 以下のロミデプシンは CYP2C8 活性を阻害しなかったが、高濃度では弱い阻害を示した (IC_{50} > 100 μmol/L)。

[a]使用した陽性対照は 500 μmol/L オルフェナドリン（直接阻害）及び 50 μmol/L フェンサイクリジン（時間依存的阻害）である。

[b]使用した陽性対照は 1 μmol/L モンテルカスト（直接阻害）及び 30 μmol/L ゲムフィブロジルグルクロニド（時間依存的阻害）である。

15.3. 薬物相互作用試験 C

被験物質：ロミデプシン
添付資料：4.2.2.6.4
試験番号：ROMI-DMPK-001

試験系	ヒト初代培養肝細胞								
処理	ロミデプシン（0.5、2、10 µmol/L）又は典型的誘導剤を 2～3 日間インキュベーション								
分析法	LC/MS/MS								
酵素活性（pmol/mg protein/min）又は対照活性に対する比率 [a]									
処理	**濃度 (µmol/L**	**CYP1A2 (Phenacetin *O*-deethylation)**			**CYP2B6 (Bupropion hydroxylation)**			**CYP3A4/5 (Testosterone 6β-hydroxylation)**		
		活性 (pmol/min/million cells)	**DMSO と比較した誘導倍率**	**陽性対照に対する誘導比率**	**活性 (pmol/min/million cells)**	**DMSO と比較した誘導倍率**	**陽性対照に対する誘導比率**	**活性 (pmol/min/million cells)**	**DMSO と比較した誘導倍率**	**陽性対照に対する誘導比率**
溶媒対照	0.1% (v/v)	平均値±SD 2.7 ± 1.3	NA	NA	平均値±SD 1.8 ± 0.7	NA	NA	平均値±SD 68.6 ± 47.7	NA	NA
ロミデプシン	0.5	5.9 ± 2.8	2.3 ± 0.8	4.9 ± 4.4	2.5 ± 1.2	1.4 ± 0.4	2.3 ± 2.3	72.1 ± 39.4	1.1 ± 0.3	2.3 ± 2.2
ロミデプシン	2	10.5 ± 7.0	3.8 ± 1.0	9.6 ± 5.3	1.8 ± 0.5	1.0 ± 0.2	1.1 ± 1.2	58.6 ± 36.1	0.9 ± 0.2	0.2 ± 0.3
ロミデプシン	10	2.7 ± 1.0	1.0 ± 0.2	0.2 ± 0.3	1.3 ± 0.3	0.8 ± 0.1	0.0 ± 0.0	44.0 ± 30.9	0.6 ± 0.1	0.0 ± 0.0
オメプラゾール	50	95.9 ± 59.5	33.9 ± 10.2	100.0 ± 0.0	20.4 ± 15.2	10.9 ± 5.0	88.9 ± 25.8	126.1 ± 107.1	1.9 ± 1.9	12.6 ± 20.1
フェノバルビタール	1000	3.4 ± 1.6	1.3 ± 0.1	0.9 ± 0.6	25.7 ± 21.7	13.6 ± 7.9	100.0 ± 0.0	356.2 ± 211.3	5.7 ± 3.2	90.2 ± 21.6
リファンピシン	10	3.1 ± 2.2	1.1 ± 0.3	0.5 ± 0.6	8.6 ± 6.6	4.6 ± 2.3	28.1 ± 0.7	408.7 ± 254.0	6.1 ± 3.0	100.0 ± 0.0

[a]酵素活性値は平均値 ± SD であり、誘導倍率及び陽性対照に対する誘導比率は 3 検体のヒト肝細胞標本の平均値である。
NA：該当なし。
溶媒対照：DMSO（ジメチルスルホキシド）。
溶媒対照に比べて活性が低い場合、陽性対照に対する比率は 0 とする。

処理 24 及び 48 時間後における mRNA 発現量 [a]							
処理	濃度 (µmol/L)	CYP1A2		CYP2B6		CYP3A4	
		DMSO と比較した誘導倍率	陽性対照に対する誘導比率	DMSO と比較した誘導倍率	陽性対照に対する誘導比率	DMSO と比較した誘導倍率	陽性対照に対する誘導比率
処理 24 時間後							
溶媒対照	0.1% (v/v)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
ロミデプシン	0.5	7.9 ± 1.7	1.0 ± 1.0	2.2 ± 0.6	11.6 ± 16.6	2.1 ± 1.9	1.3 ± 1.5
ロミデプシン	2	23.4 ± 10.8	2.7 ± 1.6	2.7 ± 1.1	15.1 ± 20.3	1.3 ± 0.8	1.5 ± 2.1
ロミデプシン	10	6.7 ± 2.9	1.0 ± 1.2	2.0 ±0.8	10.7 ± 16.0	0.7 ± 0.5	0.3 ± 0.5
オメプラゾール	50	1105.0 ± 733	100.0 ± 0.0	27.6 ± 20.8	104.2 ± 43.3	23.9 ± 17.0	94.6 ± 54.3
フェノバルビタール	1000	1.6 ± 1.0	0.1 ± 0.0	29.0 ± 19.4	100.0 ± 0.0	48.0 ± 58.8	116.6 ± 29.5
リファンピシン	10	1.3 ± 0.8	0.0 ± 0.1	6.0 ± 3.4	22.3 ± 12.7	45.6 ± 56.5	100.0 ± 0.0
処理 48 時間後							
溶媒対照	0.1% (v/v)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
ロミデプシン	0.5	4.9 ± 0.5	3.0 ± 1.7	0.9 ± 0.3	0.5 ± 0.8	1.2 ± 1.3	0.3 ± 0.6
ロミデプシン	2	8.5 ± 1.8	5.2 ± 1.7	0.8 ± 0.4	0.4 ± 0.7	0.4 ± 0.3	0.0 ± 0.0
ロミデプシン	10	2.2 ± 0.5	0.8 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0
オメプラゾール	50	156.4 ± 61.8	100.0 ± 0.0	25.7 ± 12.8	63.6 ± 19.1	48.0 ± 33.1	46.6 ± 7.8
フェノバルビタール	1000	1.1 ± 0.8	0.2 ± 0.2	39.5 ± 14.1	100.0 ± 0.0	100.2 ± 63.6	103.1 ± 12.4
リファンピシン	10	1.4 ± 0.6	0.2 ± 0.3	7.9 ± 4.5	17.0 ± 7.4	101.9 ± 67.5	100.0 ± 0.0

[a]誘導倍率及び陽性対照に対する誘導比率は 3 検体のヒト肝細胞標本の平均値±SD である。
NA：該当なし。
溶媒対照：DMSO（ジメチルスルホキシド）。

15.4. 薬物相互作用試験 D

被験物質：ロミデプシン
添付資料：4.2.2.6.2
試験番号：ROMI-DMPK-1442

試験系	膜小胞（BCRP，BSEP 及び MRP2）											
処理	ロミデプシン（1 及び 10 µmol/L）、[^{3}H]メトトレキサート（100 µmol/L）（BCRP 基質）、ベンズブロマロン（50 µmol/L）（BCRP 阻害剤）、[^{3}H]TCA（2 µmol/L）（BSEP 基質）、シクロスポリン A（10 µmol/L）（BSEP 阻害剤）、[^{3}H]E_2G（10 µmol/L）（MRP2 基質）及びブロムスルファレイン（100 µmol/L）（MRP2 阻害剤）											
分析法	LC/MS/MS、LSC											
	BCRP、BSEP 及び MRP2 基質分析 [a]											
	取り込み量 (µL/mg protein)											
	BCRP 基質分析				BSEP 基質分析				MRP2 基質分析			
	単独		ベンズブロマロン併用		単独		シクロスポリン A 併用		単独		ブロムスルファレイン併用	
化合物	対照	BCRP	対照	BCRP	対照	BSEP	対照	BSEP	対照	MRP2	対照	MRP2
ロミデプシン (1 µmol/L)	17.0 (3.0)	18.7 (2.1)	14.3 (0.7)	19.0 (2.0)	NC (NC)	NC (NC)	8.73[b]	NC (NC)	16.0 (1.1)	13.0 (0.3)	16.9 (0.3)	15.2 (1.3)
ロミデプシン (10 µmol/L)	2.21 (0.08)	2.58 (0.17)	1.89 (0.22)	4.00 (0.48)	4.29 (0.15)	3.64 (0.39)	6.29 (0.48)	5.77 (0.29)	2.20 (0.21)	1.69 (0.13)	1.91 (0.11)	2.57 (0.18)
典型的基質	2.10 (0.14)	79.8 (3.0)	0.846 (0.052)	7.00 (0.28)	11.8 (1.4)	47.0 (1.5)	7.02 (0.88)	24.4 (0.8)	4.45 (0.23)	37.1 (0.5)	3.77 (0.33)	12.7 (1.6)
追記：In vitro 試験においてロミデプシンは BCRP、BSEP 及び MRP2 の基質ではなかった。												

E_2G = エストラジオール 17β-D-グルクロニド； LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー質量分析計；LSC = 液体シンチレーションカウンター； TCA =タウロコール酸、
NC： 算出せず。
[a] 値は 3 回の測定値の平均（SD）
[b] 値は 2 例の平均

試験系	S2 細胞（OAT1 及び OAT3）							
処理	ロミデプシン（1 及び 10 μmol/L）、[^{3}H]パラアミノ馬尿酸（1 μmol/L）（OAT1 基質）、[^{3}H]エストロン硫酸（0.05 μmol/L）（OAT3 基質）、及びプロベネシド（100 μmol/L）（OAT1, OAT3 阻害剤）							
分析法	LC/MS/MS、LSC							
	OAT1 及び OAT3 基質分析 [a]							
	取り込み量（μL/mg protein）							
	OAT1 基質分析				OAT3 基質分析			
化合物	単独		プロベネシド併用		単独		プロベネシド併用	
	対照	OAT1	対照	OAT1	対照	OAT3	対照	OAT3
ロミデプシン（1 μmol/L）	NC (NC)	NC (NC)	3.60[b]	6.80[b]	NC (NC)	NC (NC)	3.60[b]	6.20[b]
ロミデプシン（10 μmol/L）	1.57 (0.24)	2.13 (0.36)	2.69 (0.14)	2.78 (0.82)	1.57 (0.24)	2.66 (0.67)	2.69 (0.14)	2.84 (0.35)
[^{3}H]パラアミノ馬尿酸（1 μmol/L）	0.536 (0.112)	32.5 (3.3)	0.706 (0.116)	1.89 (0.10)	-	-	-	-
[^{3}H]エストロン硫酸（0.05 μmol/L）	-	-	-	-	2.69 (0.39)	15.4 (2.4)	2.99 (0.44)	3.62 (0.41)

LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー質量分析計；LSC = 液体シンチレーションカウンター
NC： 算出せず。
[a] 値は 3 回の測定値の平均（SD）
[b] 値は 2 例の平均

試験系	HEK293 細胞（OATP1B1，OATP1B3 及び OCT2）											
処理	ロミデプシン（1 及び 10 μmol/L）、[^{3}H]エストラジオール 17β-D-グルクロニド（E_2G）（0.05 μmol/L）（OATP1B1、OATP1B3 基質）、[^{14}C]メトホルミン（10μmol/L）（OCT2 基質）、リファンピシン（10 μmol/L）（OATP1B1、 OATP1B3 阻害剤）及びキニジン（300μmol/L）（OCT2 阻害剤）											
分析法	LC/MS/MS、LSC											
	OATP1B1、OATP1B3 及び OCT2 基質分析 [a]											
	取り込み量（μL/mg protein）											
	OATP1B1 基質分析				OATP1B3 基質分析				OCT2 基質分析			
化合物	単独		リファンピシン併用		単独		リファンピシン併用		単独		キニジン併用	
	対照	OATP1B1	対照	OATP1B1	対照	OATP1B3	対照	OATP1B3	対照	OCT2	対照	OCT2
ロミデプシン（1 μmol/L）	NC (NC)	2.62 (0.43)	NC (NC)	NC (NC)	NC (NC)	NC (NC)	NC (NC)	NC (NC)	NC (NC)	NC (NC)	NC (NC)	NC (NC)
ロミデプシン（10 μmol/L）	1.14 (0.22)	0.849 (0.199)	0.760 (0.276)	0.739 (0.113)	1.14 (0.22)	1.22 (0.13)	0.760 (0.276)	1.03 (0.05)	1.14 (0.11)	0.638 (0.079)	1.35 (0.50)	0.697 (0.081)
[^{3}H]E_2G（0.05 μmol/L）	0.627 (0.103)	120 (5)	0.379 (0.083)	7.87 (0.52)	0.627 (0.103)	15.2 (0.5)	0.379 (0.083)	0.779 (0.023)	-	-	-	-
[^{14}C]メトフォルミン（10 μmol/L）	-	-	-	-	-	-	-	-	0.661 (0.189)	30.8 (1.4)	0.555 (0.168)	1.47 (0.10)
追記：In vitro 試験において、ロミデプシンは OATP1B1、OATP1B3 及び OCT2 の基質ではなかった。												

E_2G = エストラジオール 17β-D-グルクロニド； LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー質量分析計；LSC = 液体シンチレーションカウンター
NC： 算出せず。
[a] 値は 3 回の測定値の平均（SD）

試験系	HEK293 細胞（OATP1B1）				
処理	ロミデプシン（1 μmol/L）、[^{3}H] エストラジオール 17β-D-グルクロニド（E_2G）（0.05 μmol/L）（OATP1B1 基質）、リファンピシン（10 μmol/L）（OATP1B1 阻害剤）				
分析法	LC/MS/MS、LSC				
	OATP1B1 基質分析				
試験化合物又は基質	取り込み量 (μL/mg protein)[a]				対照に対する比率%
	阻害剤	反応時間（min）	対照	OATP1B1	
ロミデプシン（1 μmol/L）	- リファンピシン	2 2	NC (NC) NC (NC)	1.23[b] 1.24 (0.09)	NC NC
	- リファンピシン	5 5	NC (NC) 1.36 (0.15)	1.99 (0.14) 1.81 (0.41)	NC NC
	- リファンピシン	10 10	2.51 (0.17) 1.54 (0.17)	3.07 (0.48) 1.74 (0.09)	100.0 35.7
[^{3}H]E_2G（0.05 μmol/L）	- リファンピシン	2 2	1.27 (0.17) 1.05 (0.22)	122 (3) 5.95 (0.29)	100.0 4.1
追記：In vitro 試験において、ロミデプシンは OATP1B1 の基質ではなかった。					

E_2G = エストラジオール 17β-D-グルクロニド； LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー質量分析計；LSC = 液体シンチレーションカウンター
NC ： 算出せず。
[a] 値は 3 回の測定値の平均（SD）
[b] 値は 2 例の平均

試験系			LLC-PK1 (MDR1)							
処理			ロミデプシン（1 及び 10 μmol/L）、ベラパミル（30 μmol/L）（阻害剤）、ケトコナゾール（10 μmol/L）（阻害剤）、[^{3}H]ジゴキシン（1 μmol/L）（基質）及び [^{14}C]マンニトール（10 μmol/L）（完全マーカー）							
分析法			LSC							
			MDR1 阻害分析							
			コントロール細胞		Efflux Ratio 排出比	MDR1 発現細胞		Efflux Ratio 排出比	R[b]	R 値の対照に対する比率%
			P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)[a]			P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)[a]				
化合物	併用薬	濃度 (μmol/L)	頂側膜→基底膜	基底膜→頂側膜		頂側膜→基底膜	基底膜→頂側膜			
[^{3}H]ジゴキシン	ロミデプシン	0	0.939 (0.067)	1.05 (0.14)	1.1	0.367 (0.054)	9.07 (1.46)	24.7	22.5	100.0
		1	0.992 (0.029)	1.03 (0.05)	1.0	0.408 (0.065)	7.79 (0.45)	19.1	19.1	84.9
		10	1.22 (0.10)	1.04 (0.16)	0.9	0.401 (0.113)	7.50 (0.24)	18.7	20.8	92.4
	ベラパミル	30	1.64 (0.17)	1.89 (0.15)	1.2	2.02 (0.36)	4.14 (0.50)	2.0	1.7	7.6
	ケトコナゾール	10	1.09 (0.05)	1.25 (0.04)	1.1	2.42 (0.17)	4.70 (0.56)	1.9	1.7	7.6
[^{14}C]マンニトール	-	-	1.10 (0.13)	1.06 (0.12)	1.0	1.15 (0.24)	1.74 (0.39)	1.5	1.5	-
追記：In vitro 試験において、ロミデプシン（10 μmol/L まで）は MDR1 の阻害剤ではなかった。										

LSC = 液体シンチレーションカウンター
NC ： 算出せず。
[a] 値は 3 回の測定値の平均（SD）
[b] R はコントロール細胞の Efflux Ratio に対する発現細胞の Efflux Ratio の比

試験系		膜小胞（BCRP、BSEP 及び MRP2）								
処理		ロミデプシン（1 及び 10 μmol/L）、[^{3}H]メトトレキサート（100 μmol/L）（BCRP 基質）、[^{3}H]ベンズブロマロン（50 μmol/L）（BCRP 阻害剤）、[^{3}H]TCA（2 μmol/L）（BSEP 基質）、シクロスポリン A（10 μmol/L）（BSEP 阻害剤）、[^{3}H]E_2G (10 μmol/L)（MRP2 基質）及びブロムスルファレン（100 μmol/L）（MRP2 阻害剤）								
分析法		LSC								
		BCRP 阻害分析			BSEP 阻害分析			MRP2 阻害分析		
試験化合物又は阻害剤		取り込み量 [a] (μL/mg protein)		対照に対する比率%	取り込み量 [a] (μL/mg protein)		対照に対する比率%	取り込み量 [a] (μL/mg protein)		対照に対する比率%
	濃度 (μmol/L)	対照	BCRP		対照	BSEP		対照	MRP2	
ロミデプシン	0	2.08 (0.13)	81.7 (3.3)	100.0	7.16 (0.98)	50.2 (1.4)	100.0	4.44 (0.11)	36.8 (0.5)	100.0
	1	1.90 (0.13)	73.0 (9.7)	89.3	7.75 (2.25)	33.7 (0.6)	60.3	4.30 (0.41)	37.8 (0.4)	103.6
	10	2.06 (0.07)	74.9 (2.6)	91.5	6.63 (1.22)	25.0 (0.9)	42.7	4.09 (0.29)	33.5 (2.7)	90.9
陽性対照阻害薬	-	0.841 (0.027)	7.13 (0.07)	7.9	12.2 (2.0)	25.7 (0.7)	31.4	3.75 (0.14)	13.0 (1.9)	28.6
追記：ロミデプシン（10 μmol/L まで）は BCRP 及び MRP2 の阻害薬でない。ロミデプシンは 1 μmol/L では BSEP を阻害しなかったが、10 μmol/L では軽度の阻害が見られた。										

E_2G = エストラジオール 17β-D-グルクロニド； LSC = 液体シンチレーションカウンター； TCA =タウロコール酸
[a]; 値は 3 回の測定値の平均（SD）

試験系		S2 細胞（OAT1 及び OAT3）					
処理		ロミデプシン（1 及び 10 µmol/L）、[^{3}H]パラアミノ馬尿酸（1 µmol/L）（OAT1 基質）、[^{3}H]エストロン硫酸（0.05 µmol/L）（OAT3 基質）、及びプロベネシド（100 µmol/L）（OAT1, OAT3 阻害剤）					
分析法		LSC					
		OAT1 阻害分析			OAT3 阻害分析		
試験化合物又は阻害剤		取り込み量 (µL/mg protein)[a]		対照に対する比率%	取り込み量 (µL/mg protein)[a]		対照に対する比率%
	濃度 (µmol/L)	対照	OAT1		対照	OAT3	
ロミデプシン	0	0.585 (0.032)	34.8 (2.5)	100.0	2.96 (0.39)	18.6 (2.3)	100.0
	1	0.494 (0.073)	32.3 (2.6)	93.0	2.90 (0.37)	19.6 (0.2)	106.8
	10	0.617 (0.093)	20.7 (1.1)	58.7	2.51 (0.23)	20.4 (1.3)	114.4
プロベネシド	100	0.810 (0.221)	2.09 (0.10)	3.7	2.78 (0.19)	3.98 (0.04)	7.7
追記：ロミデプシンは 1 µmol/L で OAT1 を阻害しなかったが、10 µmol/L で軽度の阻害が見られた。ロミデプシンは 10 µmol/L まで OAT3 を阻害しなかった。							

LSC = 液体シンチレーションカウンター
[a] 値は 3 回の測定値の平均（SD）

試験系		HEK293 細胞 (OATP1B1, OATP1B3 及び OCT2)								
処理		ロミデプシン（1 及び 10 μmol/L）、[^{3}H] エストラジオール 17β-D-グルクロニド（E_2G）（0.05 μmol/L）（OATP1B1、OATP1B3 基質）、[^{14}C]メトホルミン（10μmol/L）（OCT2 基質）、リファンピシン（10 μmol/L）（OATP1B1、OATP1B3 阻害剤）及びキニジン（300μmol/L）（OCT2 阻害剤）								
分析法		LSC								
		OATP1B1 阻害分析			OATP1B3 阻害分析			OCT2 阻害分析		
試験化合物又は阻害剤		取り込み量 [a] (μL/mg protein)		対照に対する比率%	取り込み量 [a] (μL/mg protein)		対照に対する比率%	取り込み量 [a] (μL/mg protein)		対照に対する比率%
	濃度 (μmol/L)	対照	OATP1B1		対照	OATP1B3		対照	OCT2	
ロミデプシン	0	0.392 (0.117)	53.7 (3.0)	100.0	0.392 (0.117)	13.7 (0.9)	100.0	0.184 (0.042)	61.1 (2.9)	100.0
	1	0.355 (0.093)	34.5 (1.7)	64.1	0.355 (0.093)	11.3 (0.9)	82.2	0.209 (0.025)	59.1 (4.4)	96.7
	10	0.275 (0.062)	10.7 (0.6)	19.6	0.275 (0.062)	6.07 (0.42)	43.5	0. 113 (0.045)	41.5 (2.5)	67.9
陽性対照阻害薬	-	0.422 (0.123)	1.80 (0.18)	2.6	0.422 (0.123)	0.474 (0.209)	0.4	0.193 (0.031)	2.24 (0.46)	3.4

E_2G = エストラジオール 17β-D-グルクロニド； LSC = 液体シンチレーションカウンター
[a] 値は 3 回の測定値の平均（SD）

試験系	ヒト凍結肝細胞							
処理	ロミデプシン（1 µmol/L）：1、2、5、10 分、リファンピシン（100 µmol/L）（OATP1B 阻害剤）：1、 2、 5、 10 分							
分析法	LC/MS/MS、 LSC							
ヒト凍結肝細胞取り込み分析								
基質	最終濃度 (µmol/L)	温度 (°C)	インキュベーション時間 (min)	リファンピシン (µmol/L)	取り込み量 [a] ($\mu L/10^6$ cells)			CL_{uptake} ($\mu L/10^6$ cells/min)
ロミデプシン	1	37	1	-	23.8	±	7.1	16.9
			2	-	24.4	±	9.5	8.4
			5	-	26.9	±	7.6	3.8
			10	-	31.5	±	8.6	2.1
			1	100	27.2	±	8.2	16.6
			2	100	31.6	±	9.9	9.5
			5	100	31.2	±	5.0	3.1
			10	100	40.0	±	8.4	2.3
		氷上	1	-	6.87	±	3.24	-
			2	-	7.58	±	3.79	-
			5	-	7.94	±	3.45	-
			10	-	10.9	±	6.3	-
			1	100	10.6	±	5.8	-
			2	100	12.7	±	6.0	-
			5	100	15.5	±	9.8	-
			10	100	17.0	±	9.2	-
追記：ロミデプシンはヒト凍結肝細胞への時間依存的及び温度依存的取り込みを示し、OATP を介さないロミデプシンの能動的肝取り込みの関与が示された。								

LC/MS/MS＝液体クロマトグラフィー質量分析計；LSC＝液体シンチレーションカウンター； CL_{uptake}＝取り込みクリアランス
[a] 値は 3 回の測定値の平均（SD）

16. 薬物動態試験：その他

該当なし