

2.6.4 薬物動態試験の概要文の目次

2.6.4	薬物動態試験の概要文の目次	1
2.6.4.1	まとめ	3
2.6.4.2	分析法	5
2.6.4.2.1	BAY 94-9027	5
2.6.4.2.2	血漿中 FVIII 活性（血漿中 BAY 94-9027 濃度）の測定	5
2.6.4.2.3	ラット及びウサギ血清中抗薬物抗体の測定	6
2.6.4.2.4	ラット及びウサギ血清中抗 FVIII 中和抗体の測定	6
2.6.4.2.5	ラット及びウサギ血清中抗 PEG 抗体の測定	6
2.6.4.2.6	薬物動態データの取り扱い	7
2.6.4.3	吸収及び血漿中薬物動態	8
2.6.4.3.1	単回投与後の薬物動態	8
2.6.4.3.1.1	雄性 Sprague Dawley ラット	8
2.6.4.3.1.2	雌雄 Sprague Dawley ラット	10
2.6.4.3.1.3	New Zealand White ウサギ	12
2.6.4.3.2	反復投与後の薬物動態	15
2.6.4.3.2.1	雄性 Sprague Dawley ラット	15
2.6.4.3.2.2	雌性 Sprague Dawley ラット	16
2.6.4.3.2.3	雄性 New Zealand White ウサギ	17
2.6.4.4	分布	18
2.6.4.5	代謝	18
2.6.4.6	排泄	18
2.6.4.7	薬物動態学的薬物相互作用	18
2.6.4.8	その他の薬物動態試験	19
2.6.4.8.1	BAY 1025662 (PEG-60-マレイミド-システイン) の薬物動態	19
2.6.4.8.1.1	分析法	19
2.6.4.8.1.1.1	BAY 1025662	19
2.6.4.8.1.1.2	血漿及び尿中 BAY 1025662 の測定	19
2.6.4.8.1.2	単回投与後の血漿中薬物動態	21
2.6.4.8.1.3	反復投与後の血漿中薬物動態	23
2.6.4.8.1.3.1	雄性 Sprague Dawley ラット 4 週間反復静脈内ボーラス投与試験	23

2.6.4.8.1.3.2	雄性 New Zealand White ウサギ 4 週間反復静脈内ボ ラス投与試験	24
2.6.4.8.1.4	排泄	25
2.6.4.8.2	[¹⁴ C]BAY 1025662 及び[^{prop-14} C]BAY 1025662 の排泄及び 分布	26
2.6.4.8.2.1	BAY 1025662 の ¹⁴ C 標識体の合成	26
2.6.4.8.2.1.1	[¹⁴ C]BAY 1025662	27
2.6.4.8.2.1.2	[^{prop-14} C]BAY 1025662	27
2.6.4.8.2.2	放射能の測定	28
2.6.4.8.2.3	[¹⁴ C]BAY 1025662 及び[^{prop-14} C]BAY 1025662 の排泄	28
2.6.4.8.2.4	[^{prop-14} C]BAY 1025662 の分布	35
2.6.4.8.3	トランスポーターに関する試験	38
2.6.4.9	考察及び結論	39
	引用文献一覧	44

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

げっ歯類として Sprague Dawley ラット及び非げっ歯類としてニュージーランド白色ウサギを用いて非臨床薬物動態試験を実施した。ラット及びウサギは、凝固カスケードにおいてヒト血液凝固第Ⅷ因子 (FⅧ) が活性を示すことから、BAY 94-9027 の評価に適切な動物種である。また、BAY 94-9027 の毒性試験においてもラット及びウサギを使用した。これらの非臨床試験では、臨床投与経路及び投与方法に合わせて、緩速静脈内ボラス投与した。対象とする患者集団の 99% 超は男性であることから、ラットを用いた試験では主に雄性を、ウサギを用いた試験では雄性のみを使用した。雌雄のラットを用いた薬物動態試験において、性差はみられなかった。血漿中の BAY 94-9027 は、抗ポリエチレングリコール (PEG) 抗体又は抗 FⅧ抗体のいずれかを用いて捕捉し、動物の内因性 FⅧと分離した後、合成基質の発色に基づいた酵素活性の測定 (合成基質法) により血漿中 FⅧ活性として定量した。

BAY 94-9027 を用いた薬物動態試験に加え、FⅧの PEG 化に用いた PEG 部 [60kDa PEG (PEG-60)、リンカー及びシステインを含む部分 (PEG-60-マレイミド-システイン、BAY 1025662)] をラットに単回投与し、排泄及び分布を検討した。

ラット及びウサギに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したとき、検討した用量範囲において血漿中 FⅧ活性の薬物動態は線形であった。血漿クリアランスは非常に低く、ラットで約 4~6mL/h/kg、ウサギで約 3~5mL/h/kg であった。また、両動物種において、定常状態における分布容積は小さく、0.05~0.07L/kg の範囲であった。血漿中 FⅧ活性の終末相における消失半減期 [捕捉抗体として抗 FⅧ抗体を用いた測定法 (抗 FⅧ抗体法) によって得られたデータからの算出] は、ラットで約 8 時間、ウサギで約 12 時間であった。BAY 94-9027 を 2 週間 (2 日に 1 回) 反復投与したときの薬物動態は、毒性試験の一貫として実施した曝露量評価の結果から評価した。ラットに反復投与したとき、曝露量は、初回投与と比較して、中用量では蓄積性を示し、高用量では減少した。ウサギに反復投与したときでは、中用量及び高用量群の血漿中 FⅧ活性はすべて定量下限 (LLOQ) 未満であった。これは抗薬物抗体及び/又は抗 FⅧ中和抗体の産生による可能性が高い。

ラットに非標識の PEG-60-マレイミド-システイン (BAY 1025662) を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 BAY 1025662 の薬物動態を検討した。血漿クリアランスは 0.43mL/h/kg と非常に低く、分布容積は小さかった。血漿中 BAY 1025662 の消失は双指数関数的で、終末相の消失半減期は 5 日 (投与後 6~14 日の間隔で算出) であった。

ラットに ¹⁴C 標識した BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]BAY 1025662) をヒトの推定生涯投与量に相当する 11mg/kg の用量で単回静脈内ボラス投与したとき、放射能はほぼ完全に消失し、試験終了時点の投与後 168 日まで (尿は投与後 231 日まで) の放射能の総回収率 (累積排泄量+体内の残存量) は 89% であった。ラット尿試料の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いたプロファイリングにより、大部分の BAY 1025662 は未変化体で尿中に排泄されることが示唆された [投与後 7 日 (168 時間) までに回収した尿中放射能の 74% が未変化体であった]。投与後 168 日におけるラット体内の残存放射能は投与量の 6% であった。ラット体内における放射能の不可逆的な結合及び保持を示唆する兆候はみられなかった。特に脳では放射能がほとんど認められず、放射能の血液-脳関門通過性は非常に低いことが示唆された。

薬物動態試験の概要を表 2.6.4.1-1 に示す。

表 2.6.4.1-1 薬物動態試験の概要

Study type	Species (N)/test system	BAY 94-9027	
		Route	Dose [IU/kg]
Pharmacokinetics after a single dose			
4.2.2.2.1 A47788	Rat male (4-13/time point)	IV	60, 250, 800
4.2.2.2.3 A47769	Rabbit male (8)	IV	25, 100, 400
4.2.2.2.2 PH-39789	Rat male (2x3/time point)	IV	750
	Rat female (2x3/time point)		
Pharmacokinetics after repeated dose (refer to Toxicology 2.6.6.3).			
Study type	Species (N)/test system	BAY 1025662	
		Route	Dose [mg/kg]
Pharmacokinetics and renal excretion after single dose of BAY 1025662			
4.2.2.7.9 PH-38878	Rat male (3-4/time point)	IV	11
Distribution after single dose of [¹⁴ C]BAY 1025662			
4.2.2.7.12 PH-39641	Rat male (1/time point)	IV	11
Mass balance after single dose of [¹⁴ C]BAY 1025662 or [prop- ¹⁴ C]BAY 1025662			
4.2.2.7.10 PH-37841	Rat male (3/time point)	IV	11
4.2.2.7.11 PH-39637	Rat male (3/time point)	IV	11
Pharmacokinetics after repeated dose (refer to Toxicology 2.6.6.8.5).			

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 BAY 94-9027

BAY 94-9027 は、60kDa の分枝型 PEG が部位特異的に結合した PEG 化 B ドメイン欠失 (BDD) 遺伝子組換えヒト血液凝固第Ⅷ因子 (rFⅧ) (BDD-rFⅧ) である。BAY 94-9027 の 60kDa PEG (PEG-60) は、マレイミドリンカーを介して BDD-rFⅧのシステインと結合している。特に記載しない限り、すべての用量及び濃度は、BAY 94-9027 当量として示す。

2.6.4.2.2 血漿中 FⅧ活性 (血漿中 BAY 94-9027 濃度) の測定

参照項目 : 4.2.2.1.1 PH-38566
4.2.2.1.2 PH-38430
4.2.2.1.9 PH-39535

薬物動態試験及び毒性試験における血漿中 FⅧ活性 (血漿中 BAY 94-9027 濃度) 測定のための分析法を開発し、バリデーション試験を実施した。

クエン酸添加血漿試料中の BAY 94-9027 を、マイクロプレートに固相化した抗 PEG 抗体又は抗 FⅧ抗体によって捕捉し、FⅧが生成に関与する活性型血液凝固第Ⅹ因子 (FXa) を測定することによって、血漿中 BAY 94-9027 濃度を定量した。すなわち、活性型血液凝固第Ⅸ因子 (FIXa)、トロンビン、カルシウム及びリン脂質の存在下で、FⅧは補助因子として機能し、血液凝固第Ⅹ因子 (FX) を FXa に活性化する。生成した FXa を合成基質の発色に基づいて測定 (合成基質法) し、FⅧの補助因子活性 (以下、FⅧ活性) とした (抗 PEG 抗体法 : MB5042、抗 FⅧ抗体法 : MB5046)。したがって、血漿中 BAY 94-9027 濃度は血漿中 FⅧ活性として表した。反復投与毒性試験 (2.6.6.3.1、2.6.6.3.3) の対照薬として用いたコージネイト FS (BAY 14-2222) の定量法 (MB5045) においては、抗 FⅧ抗体を用いて捕捉する方法を用いた。動物血漿中のヒト FⅧ活性の測定においては、動物内因性の FⅧによる影響を除くために、抗体によるヒト FⅧの捕捉と動物内因性 FⅧの洗浄除去のステップが必要である。非臨床試験に用いた分析法バリデーションの概要を表 2.6.4.2-1 に示す (4.2.2.1.1 PH-38566、4.2.2.1.2 PH-38430、4.2.2.1.9 PH-39535)。

表 2.6.4.2-1 ラット及びウサギ血漿中 FⅧ活性 (血漿中 BAY 94-9027) の分析法バリデーション

Method	Analyte	Species	Working range [IU/L]	Precision [%]	Accuracy [%]
MB5046	BAY 94-9027	Rat	200-2000	6.14-8.98	101-113
MB5046	BAY 94-9027	Rabbit	200-2000	5.03-15.1	94.7-110
MB5042	BAY 94-9027	Rat	25-2500	7.48-19.7	101-106
MB5042	BAY 94-9027	Rabbit	68.4-2050	6.27-20.4	88.0-104
MB5045	BAY 14-2222	Rat	68.4-2050	5.11 - 16.1	97.7 - 113
MB5045	BAY 14-2222	Rabbit	68.4-2050	5.85 - 13.1	86.9 - 108

分析法バリデーション及び試験試料の測定は、社内標準作業手順書 (SOP) 及び生体試料分析法バリデーションに関するガイドライン^{1, 2)} に従って実施した。

氷冷及び冷凍下での血漿中 BAY 94-9027 の安定性を検討し、血漿試料の操作及び保存条件下において安定であることが確認された。また、投与薬液中 BAY 94-9027 の安定性を検討し、投与薬液の保存容器及び保存期間に関する取扱い条件下で、十分に安定であることが確認された。

表 2.6.4.2-2 ラット及びウサギ血漿中における BAY 94-9027 の安定性

Stability type	Species	Temperature	Period	Stable
Long term	Sprague Dawley rat	≤ - 65 °C	5 months	Yes
	New Zealand White rabbit			
Short term	Sprague Dawley rat,	Ambient	6 h	Yes
	New Zealand White rabbit			
Short term	Sprague Dawley rat,	37 °C	2 h	Yes
	New Zealand White rabbit			

2.6.4.2.3 ラット及びウサギ血清中抗薬物抗体の測定

参照項目：4.2.2.1.4 A47603
4.2.2.1.5 A47898
4.2.2.1.3 R-9341

ラット及びウサギ血清中の抗薬物抗体を酵素免疫測定法（ELISA）により測定した。BAY 94-9027 投与群の血清には捕捉抗原として BAY 94-9027 を、コージネイト FS 投与群の血清には捕捉抗原としてコージネイト FS [BAY 14-2222、遺伝子組換えヒト血液凝固第Ⅷ因子（rFⅧ）] をマイクロプレートに固相化し、抗薬物抗体を結合させた。ペルオキシダーゼ標識したヤギの抗ラット免疫グロブリン G（IgG）又は抗ウサギ IgG を用いて、捕捉抗原に結合させた抗薬物抗体を検出した。ラット血清試料の測定では、BAY 94-9027 又はコージネイト FS を投与したラットから採取した抗薬物抗体陽性のプール血清をそれぞれの陽性対照として用いた。ウサギ血清試料の測定では、ウサギの抗 PEG モノクローナル抗体（BAY 94-9027 投与群の測定）又は rFⅧ（コージネイト PF=BAY 81-8973）を投与したウサギから採取した抗 FⅧ抗体陽性のプール血清（コージネイト FS 投与群の測定）を陽性対照として用いた。抗薬物抗体の分析は、1) スクリーニングアッセイ、2) 確認試験（免疫除去による特異性の確認）及び 3) 抗体価測定の 3 ステップにより実施した。平均吸光度がカットポイント以下となる最小希釈倍数を抗体価として示した。品質管理試料として、高、中、低濃度の陽性対照血清を用いた。

2.6.4.2.4 ラット及びウサギ血清中抗 FⅧ中和抗体の測定

参照項目：4.2.2.1.7 A47606
4.2.2.1.8 A47899
4.2.2.1.6 R-9360

ラット及びウサギ血清中の抗 FⅧ中和抗体を合成基質法（2.6.4.2.2）を用いて測定した。血清試料中に抗 FⅧ中和抗体が存在する場合、FⅧが生成に関与する FXa による合成基質の発色が阻害される。したがって、血清試料に rFⅧ溶液（1IU/mL）を等量加えて 2 時間インキュベーション（37°C）したとき、FⅧ活性を 50%阻害する血清試料の希釈倍数を抗 FⅧ中和抗体の抗体価とした。ヒツジの抗 FⅧポリクローナル抗体を陽性対照として用いた。

2.6.4.2.5 ラット及びウサギ血清中抗 PEG 抗体の測定

参照項目：4.2.3.2.1 A48103
4.2.3.2.3 PH-36207

ラット及びウサギ血清中の BAY 94-9027 の PEG 部に対する抗体（抗 PEG 抗体）をサンドイッチ ELISA 法により測定した。60kDa の PEG をマイクロプレートに固相化し、抗 PEG 抗体を結合させた。西洋ワサビ由来ペルオキシダーゼで標識した Protein A/G を検出分子として用い、吸光度を

測定した。陽性対照にはマウスの抗 PEG モノクローナル抗体を用いた。抗 PEG 抗体の分析は、1) カットポイントに基づいたスクリーニングアッセイ、2) バリデートされた特異性に対するカットポイントに基づく確認試験及び 3) 抗体価測定 of 3 ステップにより実施した。吸光度がカットポイントを超えると時の最大希釈倍数を抗体価とした。

2.6.4.2.6 薬物動態データの取り扱い

BAY 94-9027、並びに [¹⁴C]BAY 1025662 及び BAY 1025662 (非標識体) を用いて *in vivo* 試験を実施した。

経時的な濃度推移データの薬物動態学的評価は、ノンコンパートメント (モーメント) 解析で行った。この方法で得られた薬物動態パラメータは、非臨床薬物動態の評価及びヒトとの比較に適していた。

薬物動態パラメータ及び濃度は幾何平均及び標準偏差で示し、排泄量及び回収率は算術平均及び標準偏差で示した。

2.6.4.3 吸収及び血漿中薬物動態

2.6.4.3.1 単回投与後の薬物動態

ラット及びウサギに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 FVIII活性の薬物動態を検討した。

2.6.4.3.1.1 雄性 Sprague Dawley ラット

参照項目 : 4.2.2.2.1 A47788

雄性 Sprague Dawley ラットに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 FVIII活性の薬物動態を検討した。試験の概要を表 2.6.4.3-1 に示す。

表 2.6.4.3-1 雄性 Sprague Dawley ラット単回静脈内ボラス投与試験の概要

Study type	Single-dose pharmacokinetics, in vivo study
Bayer reference	4.2.2.2.1 A47788, Study No.: I5126-4
Test system	Rats, 4–13 males/sampling time, strain: Sprague Dawley
Dosage	BAY 94-9027 ^a : 60, 250, 800 IU/kg
Vehicle(s)	IV administration: BAY 94-9027 bolus injection
Assay, matrix	ELISA anti-FVIII and ELISA anti-PEG, plasma samples

a = Batch No. /Lot: 949027/T070209 (verification of test (VoT) of 25 AUG 2009) with 446.9 IU/mL chromogenic potency.

雄性 Sprague Dawley ラットに BAY 94-9027 を 60、250 及び 800IU/kg の用量で単回静脈内ボラス投与した。捕捉抗体として抗 FVIII抗体を用いた測定法（抗 FVIII抗体法）及び抗 PEG 抗体を用いた測定法（抗 PEG 抗体法）によって得られた血漿中 FVIII活性の経時推移を図 2.6.4.3-1 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4.3-2 に示す。

血漿中の投与 0 時間から無限大時間までの FVIII活性-時間曲線下面積（AUC）及び最高 FVIII活性（C_{max}）は、抗 FVIII抗体法で得られた値の方が抗 PEG 抗体法よりもわずかに高かったが、2 つの測定法で得られた血漿中 FVIII活性の経時推移曲線は平行で、非常に類似していた。また、血漿中 FVIII活性の個体間変動が大きく、両測定法の標準偏差は重なっており、捕捉抗体の違いによって差が生じたという明確な結論は得られないことから、2 つの測定法から得られた薬物動態は基本的に同等であると考えられる。

全体として、血漿中の C_{max} 及び AUC は用量比例的に増加した。血漿クリアランスは非常に低く、約 4.5mL/h/kg（抗 FVIII抗体法）又は 5.5mL/h/kg（抗 PEG 抗体法）であった。定常状態における分布容積は小さく、0.05~0.07L/kg であった。血漿中 FVIII活性の消失半減期は 8.0~8.5 時間の範囲であった〔例外として、低用量の 60IU/kg を投与したときの消失半減期（抗 PEG 抗体法）は 6.7 時間であった〕。

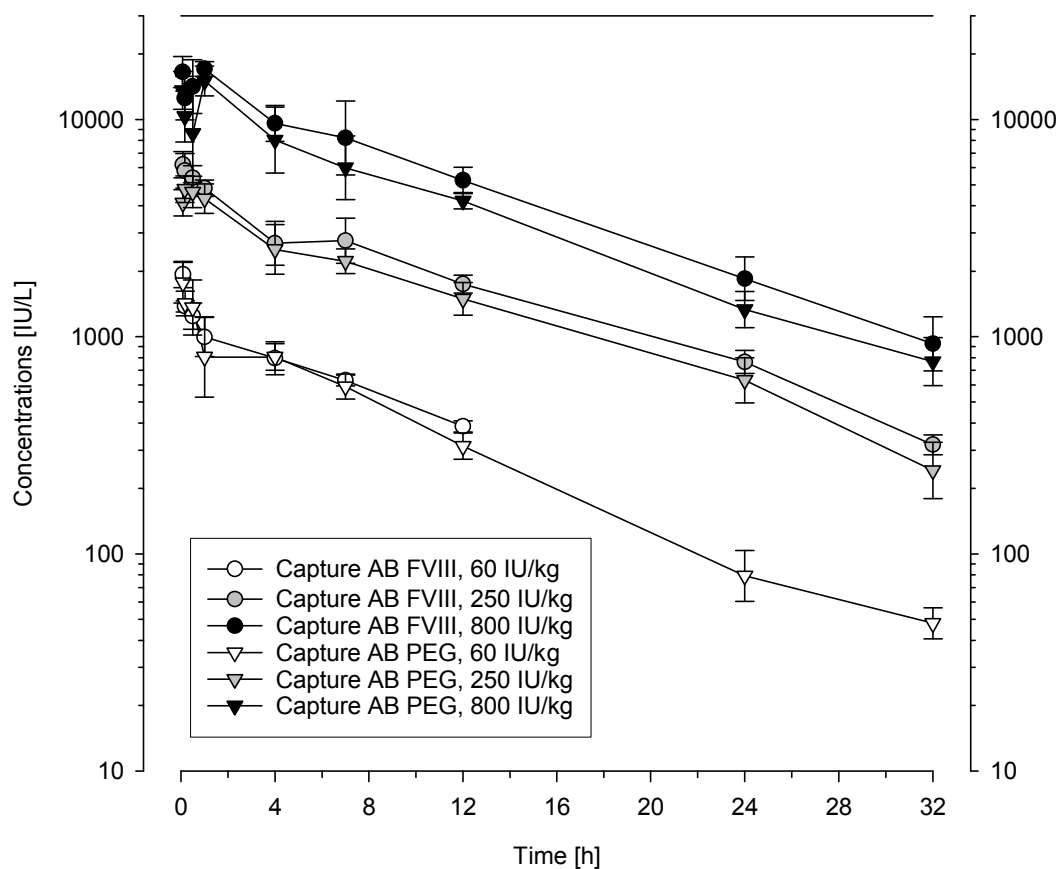
表 2.6.4.3-2 雄性 Sprague Dawley ラットに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 FVIII 活性の薬物動態パラメータ（抗 FVIII 抗体法と抗 PEG 抗体法の比較）
（各時点 4~13 匹の平均血漿中 FVIII 活性を用いて算出）

Dose [IU/kg] Units		60		250		800	
Assay		FVIII	PEG	FVIII	PEG	FVIII	PEG
AUC	[IU·h/L]	13200 ^b	10900	58200	49100	174000	138000
AUC _{norm}	[kg·h/L]	220 ^b	182	233	196	218	173
AUC(t _{last} -inf)	[%]	34.7	3.65	7.33	6.32	6.31	6.24
t _{last}	[h]	12	32	32	32	32	32
C _{max}	[IU/L]	1930	1770	6190	4770	17100	15000
C _{max, norm}	[kg/L]	32.2	29.5	24.8	19.1	21.4	18.8
t _{max}	[h]	0.0878	0.0878	0.0833	0.159	1.00	1.00
V _{ss}	[L/kg]	0.0519 ^b	0.0518	0.0531	0.0599	0.0524	0.0651
CL	[mL/h/kg]	4.56 ^b	5.51	4.30	5.09	4.59	5.81
t _{1/2}	[h]	8.03 ^b	6.66	8.55	8.06	8.15	8.14
Rrange ^a	[h]	1.00-12.0	4.00-32.0	1.06-32.0	1.06-32.0	4.00-32.0	4.00-32.0
MRT	[h]	11.4 ^b	9.40	12.4	11.8	11.4	11.2

a = Used for regression to determine t_{1/2}.

b = Only estimate as extrapolated part of AUC distinctly >20%.

Source: 4.2.2.2.1 A47788



Source: 4.2.2.2.1 A47788

図 2.6.4.3-1 雄性 Sprague Dawley ラットに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 FVIII 活性（抗 FVIII 抗体法及び抗 PEG 抗体法）の経時推移（幾何平均及び標準偏差）

2.6.4.3.1.2 雌雄 Sprague Dawley ラット

参照項目：4.2.2.2.2 PH-39789

Envigo 社及び Charles River 社から入手した雌雄 Sprague Dawley ラットに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 FVIII 活性の薬物動態を検討した。試験の概要を表 2.6.4.3-3 に示す。

表 2.6.4.3-3 雌雄 Sprague Dawley ラット単回静脈内ボラス投与試験の概要

Study type	Single-dose pharmacokinetics, in vivo study
Bayer reference	4.2.2.2.2 PH-39789
Test system	Rats, 3 males and females /sampling time, strain: Sprague Dawley (Envigo (vorm. Harlan NL) and Charles River)
Dosage	BAY 94-9027 ^a : 750 IU/kg
Vehicle(s)	IV administration: BAY 94-9027 bolus injection
Assay, matrix	ELISA anti-FVIII, plasma samples

a = Batch No. /Lot: 270PW39 (expiry date: 07 JUN 2017) with 420.0 IU/mL chromogenic potency.

雌雄 Sprague Dawley ラット (Envigo 社及び Charles River 社) に BAY 94-9027 を 750IU/kg の用量で単回静脈内ボラス投与した。血漿中 FVIII活性の経時推移を図 2.6.4.3-2 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4.3-4 に示す。

血漿中 FVIII活性の経時推移及び C_{max} は、Envigo 社及び Charles River 社の雌雄ラットで類似していた。血漿中 FVIII活性の個体間変動が大きく、標準偏差が重なっていることから、各群の薬物動態に差はないと考えられる。すべての群で血漿中 FVIII活性の経時推移曲線は平行で、類似しており、ラットにおける薬物動態に性差はみられなかった。

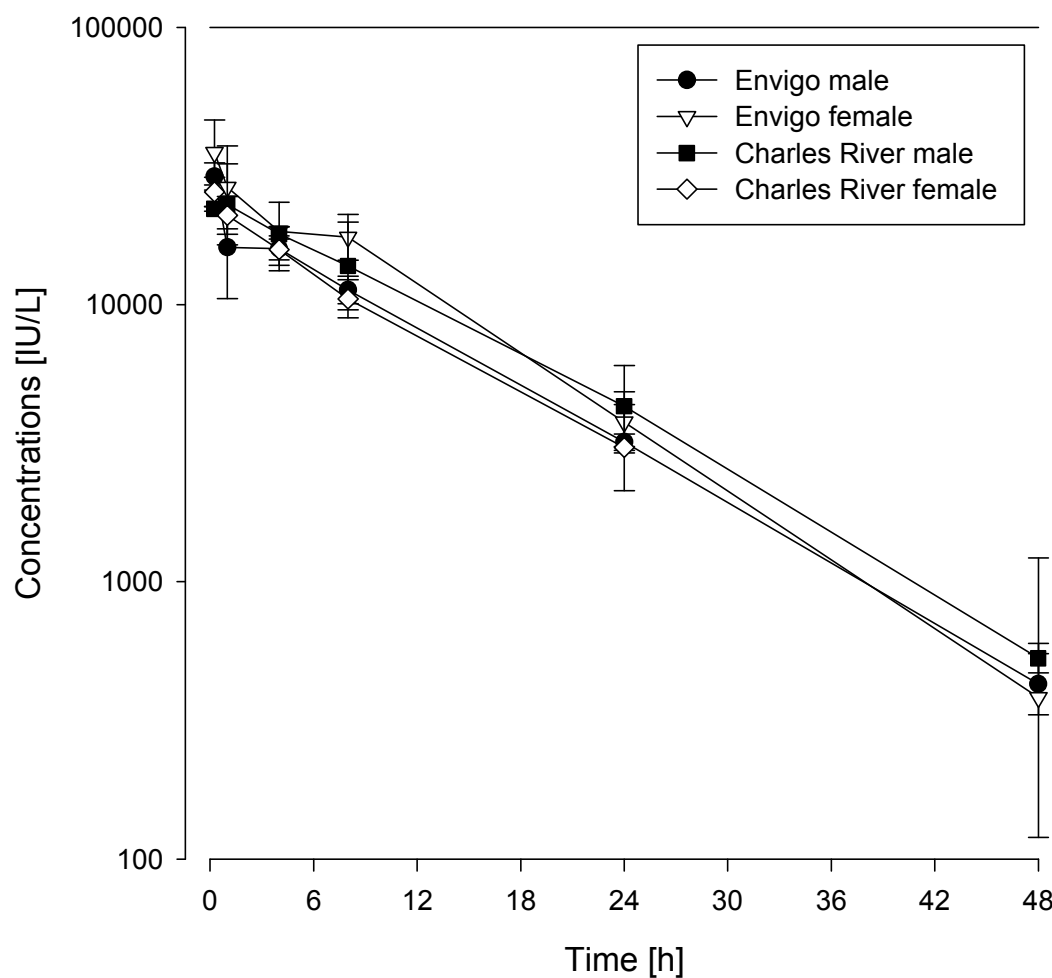
血漿クリアランスは非常に低く、2.1~2.9mL/h/kg であった。定常状態における分布容積は小さく、0.02~0.03L/kg であった。血漿中 FVIII活性の消失半減期は 7.6~8.6 時間の範囲であった。

表 2.6.4.3-4 雌雄 Sprague Dawley ラット (Envigo 社及び Charles River 社) に BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 FVIII活性の薬物動態パラメータ (各時点 3 匹の平均血漿中 FVIII活性を用いて算出)

Breeder		Envigo (vorm. Harlan NL)		Charles River	
		male	female	male	female
AUC	IU·h/L	267000	354000	328000	263000
AUC _{norm}	kg·h/L	356	472	437	351
%AUC(t _{last} -inf)	%	2.0	1.2	2.1	13.7
t _{last}	h	48.0	48.0	48.0	24.0
C _{max}	IU/L	29000	35400	23000	25500
C _{max, norm}	kg/L	38.7	47.2	30.6	34.0
t _{max}	h	0.250	0.250	1.00	0.250
V _{ss}	L/kg	0.0347	0.0240	0.0296	0.0340
CL	mL/h/kg	2.81	2.12	2.29	2.85
t _{1/2}	h	8.45	7.62	8.63	8.36
RRange ^a	h	4.00-48.0	4.00-48.0	4.00-48.0	1.00-24.0
MRT	h	12.4	11.3	12.9	11.9

a = Used for regression to determine t_{1/2}.

Source: 4.2.2.2.2 PH-39789



Source: 4.2.2.2.2 PH-39789

図 2.6.4.3-2 雌雄 Sprague Dawley ラット (Envigo 社及び Charles River 社) に BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 FVIII 活性の経時推移 (幾何平均及び標準偏差)

2.6.4.3.1.3 New Zealand White ウサギ

参照項目 : 4.2.2.2.3 A47769

雄性 New Zealand White ウサギに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 FVIII 活性の薬物動態を検討した。試験の概要を表 2.6.4.3-5 に示す

表 2.6.4.3-5 雄性 New Zealand White ウサギ単回静脈内ボラス投与試験の概要

Study type	Single-dose pharmacokinetics, in vivo study
Bayer reference	4.2.2.2.3 A47769, Study No.: I5124-2
Test system	Rabbit, 8 males/dose group, strain: New Zealand White
Dosage	BAY 94-9027 ^a : 25, 100, 400 IU/kg
Vehicle(s)	IV administration: BAY 94-9027 bolus injection
Assay, matrix	ELISA anti-FVIII and ELISA anti-PEG, plasma samples

a = Batch No. /Lot: 949027/T070209 (VoT of 25 AUG 2009) with 446.9 IU/mL chromogenic potency.

雄性 New Zealand White ウサギに BAY 94-9027 を 25、100、400IU/kg の用量で単回静脈内ボラス投与した。抗 FVIII 抗体法及び抗 PEG 抗体法によって得られた血漿中 FVIII 活性の経時推移を図 2.6.4.3-3 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4.3-6 に示す。

表 2.6.4.3-6 雄性 New Zealand White ウサギに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 FVIII 活性の薬物動態パラメータ（抗 FVIII 抗体法と抗 PEG 抗体法の比較）（各群 8 匹の血漿中 FVIII 活性の経時推移から算出したパラメータの平均値）

Dose [IU/kg]	Units	25		100		400	
		FVIII	PEG	FVIII	PEG	FVIII	PEG
AUC	[IU·h/L]	[7950]	[4510]	29300 ^a	20400	122000	93300
AUC _{norm}	[kg·h/L]	[317]	[180]	293 ^a	204	304	233
AUC(0-8)	[IU·h/L]	2830	2410	10400	9710	47900	42800
AUC(0-8) _{norm}	[kg·h/L]	113	96.4	104	97.1	120	107
%AUC(t _{last-inf})	[%]	55.5	29.6	19.4	7.65	3.40	1.93
C _{max}	[IU/L]	494	479	2000	2080	8220	8500
C _{max, norm}	[kg/L]	19.8	19.2	20.0	20.8	20.5	21.3
t _{max}	[h]	0.0731	0.067	0.067	0.067	1.00	0.167
V _{ss}	[L/kg]	[0.0570]	[0.0584]	0.0618 ^a	0.0638	0.0535	0.0594
CL	[mL/h/kg]	[3.15]	[5.55]	3.41 ^a	4.90	3.29	4.29
t _{1/2}	[h]	[12.6]	[7.43]	12.6 ^b	9.42	11.2	10.1
R _{start} ^d	[h]	1 (1-2) ^c	2 (2-4) ^c	8 (4-8) ^c	4 (4-8) ^c	8 (8-24) ^c	4 (4-12) ^c
R _{end} ^d	[h]	8 (8-24) ^c	12 (12-24) ^c	28 (24-48) ^c	32 (32-48) ^c	56 (48-56) ^c	56 (48-56) ^c
MRT	[h]	[17.1]	[10.9]	18.0 ^a	12.9	16.4	13.8

a = Estimate as extrapolated part of the AUC is >20% (in n = 3 of n = 8 individuals)

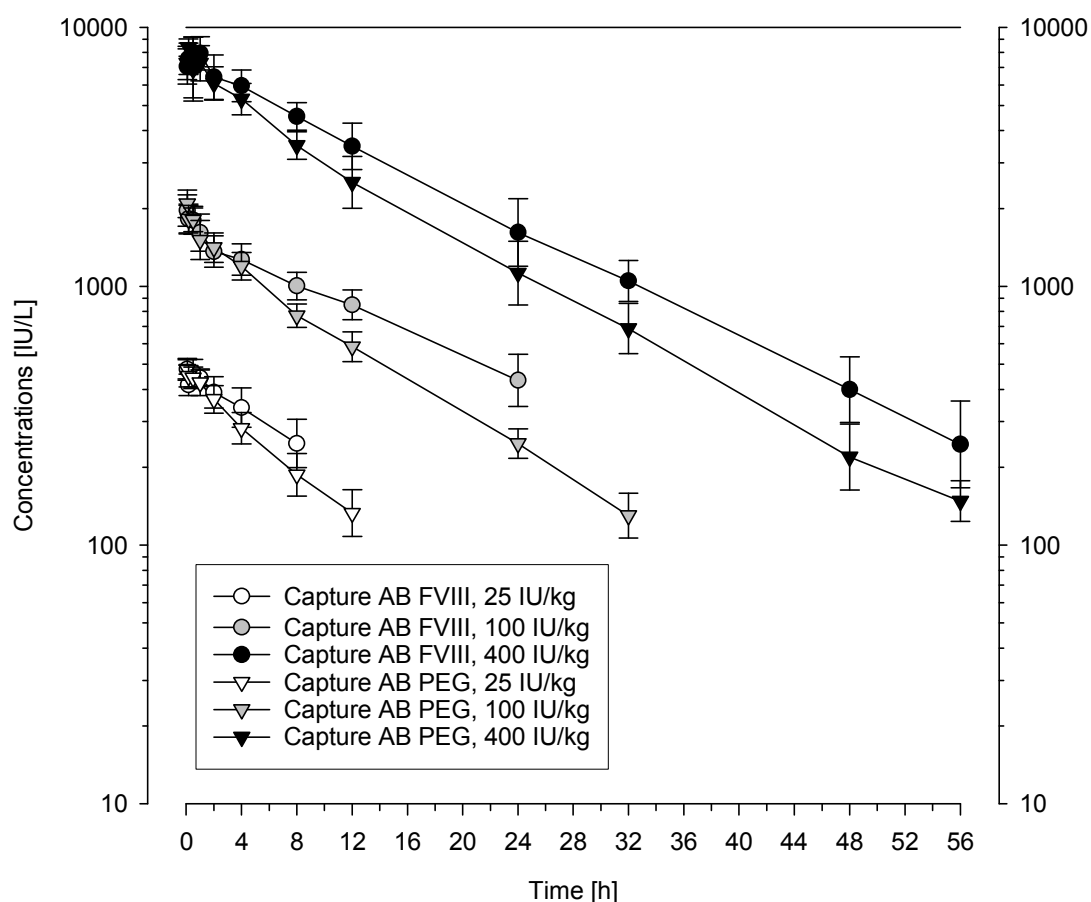
b = Estimate as interval used for t_{1/2} calculation was <2 x t_{1/2} (in N = 3 of N = 8 rabbits).

c = Median (minimum-maximum).

d = Used for regression to determine t_{1/2}.

[] = rough estimate since extrapolated part of AUC in all animals distinctly >20%

Source: 4.2.2.2.3 A47769



Source: 4.2.2.2.3 A47769

図 2.6.4.3-3 雄性 New Zealand White ウサギに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 FVIII 活性（抗 FVIII 抗体法及び抗 PEG 抗体法）の経時推移（幾何平均及び標準偏差）

全体として、ウサギに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したとき、血漿中の C_{max} 及び AUC は用量比例的に増加した。血漿クリアランスは非常に低く、約 3mL/h/kg（抗 FVIII 抗体法）及び約 5mL/h/kg（抗 PEG 抗体法）であった。定常状態の分布容積は小さく、約 0.06L/kg であった。血漿中 FVIII 活性の消失半減期は、抗 FVIII 抗体法では約 11~13 時間、抗 PEG 抗体法では約 9~10 時間の範囲であった。

投与後 4 時間以降では、抗 FVIII 抗体法と抗 PEG 抗体法で得られた血漿中 FVIII 活性はわずかに異なり、経時推移曲線は平行ではなかった。投与後 8 時間では、抗 PEG 抗体法で得られた血漿中 FVIII 活性は、抗 FVIII 抗体法で得られた値の約 80% であった。投与後 48 時間及び 56 時間では、抗 PEG 抗体法で得られた血漿中 FVIII 活性は、抗 FVIII 抗体法で得られた値の 60% 以下であった。結果として、血漿中の C_{max} には問題となる差はみられなかったが、AUC 及び消失半減期については差がみられ、抗 FVIII 抗体法で得られた AUC 方が大きく、消失半減期は長かった。

2.6.4.3.2 反復投与後の薬物動態

BAY 94-9027 を反復投与したときの薬物動態試験は別途実施しなかった。反復投与後の薬物動態については、毒性試験の一貫として GLP 下で実施した曝露量評価（トキシコキネティクス）の結果から限定的なデータが得られている（2.6.6.3）。

2.6.4.3.2.1 雄性 Sprague Dawley ラット

参照項目：4.2.3.2.1 A48103

雄性 Sprague Dawley ラットに BAY 94-9027 を 75、750 及び 2250IU/kg の用量で 2 週間（2 日に 1 回）反復静脈内ボラス投与したときの薬物動態を検討した（表 2.6.4.3-7）。Day 1 及び Day 13 における薬物動態パラメータを表 2.6.4.3-8 に示す。

表 2.6.4.3-7 雄性 Sprague Dawley ラット 2 週間反復投与試験の概要

Toxicokinetics	
Reference	4.2.3.2.1 A48103
Test system	Sprague Dawley rats, 9 males/dose group (sparse sampling, 3 per sampling point)
Dosage	BAY 94-9027 : Rat 75, 750, 2250 IU/kg every 2 nd day IV
Assay, matrix	ELISA, plasma samples

表 2.6.4.3-8 雄性 Sprague Dawley ラットに BAY 94-9027 を 2 週間（2 日に 1 回）反復静脈内ボラス投与したときの薬物動態パラメータ（各時点 3 匹の平均血漿中 FVIII 活性を用いて算出）

Dose ev. 2 nd Day [IU/kg/d]	Day	C _{max} [IU/L]	C _{max,norm} [kg/L]	AUC(0-48) [IU·h/L]	AUC(0-48) _{norm} [kg·h/L]	C(24)/C _{max} [%]	R _A C _{max} [%]	R _A AUC [%]
Rat 4.2.3.2.1 A48103								
75	Day 1	1641	21.9	14588 ^a	195 ^a	n.c.	n.a.	n.a.
750	Day 1	14443	19.3	142213 ^a	190 ^a	10.7	n.a.	n.a.
2250	Day 1	34640	15.4	441190 ^a	196 ^a	19.2	n.a.	n.a.
75	Day 13	851	11.3	n.c.	n.c.	n.c.	51.8	n.c.
750	Day 13	19022	25.4	233062 ^a	311 ^a	20.4	132	164
2250	Day 13	38417	17.1	320981 ^a	143 ^a	9.23	111	72.8

a = Obtained by extrapolation to 48 hours.

n.a. = not available

n.c. = not calculated

Day 1 における血漿中の投与 0 時間から 48 時間までの FVIII 活性-時間曲線下面積 [AUC(0-48)] は、用量比例的に増加した。C_{max} は、用量比をわずかに下回って増加した。投与後 24 時間の血漿中 FVIII 活性は、C_{max} の 20% 未満（11~19%）であった。

Day 13 における血漿中の C_{max} 及び AUC(0-48) は、75IU/kg 群では、明らかに Day 1 より低かった。一方、750IU/kg 群では、C_{max} 及び AUC(0-48) は Day 1 より高く、蓄積が起こった可能性がある。2250IU/kg 群では、C_{max} は Day 1 と同程度で、AUC(0-48) は Day 1 よりわずかに低かった。

2.6.4.3.2.2 雌性 Sprague Dawley ラット

参照項目 : 4.2.3.2.2 PH-39043

雌性 Sprague Dawley ラットに BAY 94-9027 を 75、750 及び 2250IU/kg の用量で 2 週間（2 日に 1 回）反復静脈内ボラス投与したときの薬物動態を検討した（表 2.6.4.3- 9）。Day 1 及び Day 13 における薬物動態パラメータを表 2.6.4.3- 10 に示す。

表 2.6.4.3- 9 雌性 Sprague Dawley ラット 2 週間反復投与試験の概要

Toxicokinetics	
Reference	4.2.3.2.2 PH-39043
Test system	Sprague Dawley rats, 9 females/dose group (sparse sampling, 3 per sampling point)
Dosage	BAY 94-9027 : Rat 75, 750, 2250 IU/kg every 2 nd day IV
Assay, matrix	ELISA, plasma samples

表 2.6.4.3- 10 雌性 Sprague Dawley ラットに BAY 94-9027 を 2 週間（2 日に 1 回）反復静脈内ボラス投与したときの薬物動態パラメータ（各時点 3 匹の平均血漿中 FVIII 活性を用いて算出）

Dose ev. 2 nd Day [IU/kg/d]	Day	C _{max} [IU/L]	C _{max,norm} [kg/L]	AUC(0-24) [IU·h/L]	AUC(0-24) _{norm} [kg·h/L]	C(24)/C _{max} [%]	R _A C _{max} [%]	R _A AUC [%]
Rat 4.2.3.2.2 PH-39043								
75	Day 1	6730	89.8	35900	478	8.5	n.a.	n.a.
750	Day 1	32800	43.7	226000	301	8.6	n.a.	n.a.
2250	Day 1	92100	40.9	1020000	451	15.1	n.a.	n.a.
75	Day 13	388	5.17	n.c.	n.c.	n.c.	5.8	n.c.
750	Day 13	18700	24.9	56000	74.7	n.c.	57.0	24.8
2250	Day 13	17400	7.72	25200	11.2	n.c.	18.9	2.5

n.a. = not available

n.c. = not calculated

Day 1 において、血漿中の AUC(0-24) は、低用量から中用量にかけて用量比を下回って増加し、中用量から高用量にかけては用量比を上回って増加した。C_{max} はそれぞれ 6730IU/L (75IU/kg)、32800IU/L (750IU/kg) 及び 92100IU/L (2250IU/kg) で、最高 FVIII 活性到達時間 (T_{max}) はそれぞれ投与後 1 時間 (75IU/kg)、0.25 時間 (750IU/kg) 及び 4 時間 (2250IU/kg) であった。投与後 24 時間の血漿中 FVIII 活性は、C_{max} の 20% 未満 (9~15%) であった。

Day 13 における血漿中の C_{max} 及び AUC は、個体間変動が大きく、明らかに Day 1 より低かった。これは、Day 15 に多くの動物で検出された抗薬物抗体及び/又は抗 FVIII 中和抗体の産生が原因であると考えられる。

2.6.4.3.2.3 雄性 New Zealand White ウサギ

参照項目 : 4.2.3.2.3 PH-36207

雄性 New Zealand White ウサギに BAY 94-9027 を 75、750 及び 2250IU/kg の用量で 2 週間 (2 日に 1 回) 反復静脈内ボラス投与したときの薬物動態を検討した (表 2.6.4.3- 11)。Day 1 及び Day 13 における薬物動態パラメータを表 2.6.4.3- 12 に示す。

表 2.6.4.3- 11 雄性 New Zealand White ウサギ 2 週間反復静脈内ボラス投与試験の概要

Toxicokinetics	
Reference	4.2.3.2.3 PH-36207
Test system	New Zealand White rabbits, 6 males/dose group (sparse sampling, 3 per sampling point)
Dosage	BAY 94-9027 : Rabbit 75, 750, 2250 IU/kg every 2 nd day IV
Assay, matrix	ELISA, plasma samples

表 2.6.4.3- 12 雄性 New Zealand White ウサギに BAY 94-9027 を 2 週間 (2 日に 1 回) 反復静脈内ボラス投与したときの薬物動態パラメータ (各時点 3 匹の平均血漿中 FVIII 活性を用いて算出)

Dose ev. Day 2 nd Day [IU/kg/d]	C _{max} [IU/L]	C _{max, norm} [kg/L]	AUC(0-48) [IU·h/L]	AUC(0-48) _{norm} [kg·h/L]	C(24)/C _{max} [%]	R _A C _{max} [%]	R _A AUC [%]
Rabbit 4.2.3.2.3 PH-36207							
75 Day 1	1304	17.4	20847 ^a	278 ^a	25.6	n.a.	n.a.
750 Day 1	10743	14.3	202247	270	23.2	n.a.	n.a.
2250 Day 1	43535	19.3	865496	385	33.1	n.a.	n.a.
75 Day 13	295	3.93	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
750 Day 13	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
2250 Day 13	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.

a = Obtained by extrapolation to 48 hours.

n.a. = not available

n.c. = not calculated

Day 1 において、血漿中の AUC (0-48) は、低用量から中用量にかけて用量比例的に増加し、中用量から高用量にかけては用量比をわずかに上回って増加した。C_{max} は概ね用量比例的に増加した。いずれの用量においても T_{max} は 0.25 時間で、投与後 24 時間の血漿中 FVIII 活性は C_{max} の 33% 以下であった。

Day 13 では、中用量及び高用量における血漿中 FVIII 活性は、すべての時点で定量下限 (LLOQ) 未満であった。低用量では投与後 0.25 時間において一過性の曝露が認められた (Day 1 の約 20%)。これらは、Day 15 に多くの動物で検出された抗薬物抗体及び/又は抗 FVIII 中和抗体の産生が原因であると考えられる。

2.6.4.4 分布

BAY 94-9027 は PEG 化 BDD-rFVIII であり、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) S6(R1) 「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」 [ICH S6(R1)] に従い、分布試験は実施しなかった。

2.6.4.5 代謝

BAY 94-9027 は PEG 化 BDD-rFVIII であり、ICH S6(R1) に従い、代謝試験は実施しなかった。

BAY 94-9027 の PEG 部のように、PEG の末端ヒドロキシル基が化学修飾されている場合、酸化代謝 (カルボン酸体への酸化反応) は通常起こらないと考えられる³⁾。また、PEG 化たん白質中の PEG の代謝を直接示す知見は得られていないが、PEG 化たん白質に通常用いられる PEG (> 5kDa) については、その消失過程において代謝は重要な消失経路ではないと考えられる^{3, 4, 5, 6)}。PEG の代謝は分子量依存的であり、分子量の大きい PEG はほとんど代謝されない。

2.6.4.6 排泄

BAY 94-9027 は PEG 化 BDD-rFVIII であり、ICH S6(R1) に従い、排泄試験は実施しなかった。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

非臨床薬物相互作用試験は実施しなかった。BAY 94-9027 と低分子薬の間で重複する消失機構は知られておらず、予期される薬物相互作用はない。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1 BAY 1025662 (PEG-60-マレイミド-システイン) の薬物動態

BAY 94-9027 の PEG 部の生体内運命を評価するために、マレイミドリンカーの末端にシステインを結合させた BAY 1025662 (PEG-60-マレイミド-システイン) をサロゲート分子として合成した。

ラットに BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 BAY 1025662 の薬物動態を検討した (2.6.4.8.1.2)。また、ラットに ^{14}C 標識した BAY 1025662 (^{14}C BAY 1025662 及び $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662) を単回静脈内ボラス投与したときの放射能の分布及び排泄を検討した (2.6.4.8.2)。これらのラットを用いた試験では、BAY 1025662 (非標識体及び ^{14}C 標識体) の用量を 11mg/kg に設定した。この用量は、BAY 94-9027 を用いた治療で、ヒトに生涯にわたって BAY 94-9027 を投与したときの、PEG-60 としてのおよその総投与量に相当する。

また、ラット及びウサギに BAY 1025662 を反復静脈内ボラス投与した毒性試験において、血漿中 BAY 1025662 の薬物動態 (トキシコキネティクス) を評価した (2.6.4.8.1.3、2.6.6.8.5)。

2.6.4.8.1.1 分析法

2.6.4.8.1.1.1 BAY 1025662

BAY 1025662 は、BAY 94-9027 のマレイミドリンカーの末端に、BDD-rFVIIIの代わりにシステインを結合させた分子 (PEG-60-マレイミド-システイン) である。特に記載しない限り、すべての用量及び濃度は、BAY 1025662 当量として示す。

2.6.4.8.1.1.2 血漿及び尿中 BAY 1025662 の測定

参照項目 : 4.2.2.7.6 R-9573
4.2.2.7.8 A49540
4.2.2.7.7 R-9570
4.2.2.7.3 R-8951

毒性試験において、雄性 Sprague Dawley ラット及び雄性 New Zealand White ウサギに BAY 1025662 を反復静脈内ボラス投与したときの薬物動態 (トキシコキネティクス) を評価した。

ラットの血漿及び尿中、並びにウサギの血漿中 BAY 1025662 濃度を、サイズ排除クロマトグラフィー用カラム及び高速液体クロマトグラフィータンデム型質量分析計 (HPLC-MS/MS) を用いて測定した。この分析法のバリデーション試験を社内 SOP 及び生体試料分析法バリデーションに関するガイドライン^{1, 2)}に従って実施した (4.2.2.7.6 R-9573、4.2.2.7.8 A49540、4.2.2.7.7 R-9570、4.2.2.7.3 R-8951)。血漿中濃度の定量範囲は 1~200 $\mu\text{g/mL}$ 、尿中濃度の定量範囲は 0.1~10 $\mu\text{g/mL}$ であった。

BAY 1025662 の生体試料中における長期安定性を評価し、ラット血漿中 (-20°C) で 11 ヶ月間 (4.2.2.7.8 A49540)、Tween 80 を添加したラット尿中 (-20°C 及び -80°C) で 33 日間 (4.2.2.7.7 R-9570)、ウサギ血漿中 (-20°C 及び -75°C) で 208 日間 (4.2.2.7.3 R-8951) 安定であった。最初に開発されたラット血漿中濃度の測定法 (4.2.2.7.8 A49540) 及びウサギ血漿中濃度の測定法 (4.2.2.7.3 R-8951) では外部標準法を用いたが、その後開発されたラット血漿及び尿中濃度の測定法 (4.2.2.7.6 R-9573、4.2.2.7.7 R-9570) では重水素標識体を内部標準

として用いた。安定性が担保された凍結融解サイクルは、ラット血漿で3回、ラット尿で5回、ウサギ血漿で5回であった。

表 2.6.4.8- 1 ラットの血漿及び尿中、並びにウサギの血漿中 BAY 1025662 濃度の分析法バリデーション

Location / Report No.	Species	Matrix	Working range [µg/mL]	Precision [%]	Accuracy [%]
4.2.2.7.3 / R-8951 ^a	Rabbit	Plasma	1.00 - 200	2.96 - 5.34	95.6 - 108.9
4.2.2.7.8 / A49540	Rat	Plasma	1.00 - 200	7.87 - 10.99	100.6 - 105.0
4.2.2.7.6 / R-9573	Rat	Plasma	1.00 - 200	1.51 - 2.77	97.8 - 104.5
4.2.2.7.7 / R-9570 ^a	Rat	Urine	0.100 - 10.0	3.99 - 9.26	97.5 - 106.7

a = core validation

表 2.6.4.8- 2 BAY 1025662 を用いた薬物動態試験及びトキシコキネティクス試験の実試料分析における QC 試料測定データ

Location / Report No.	Matrix	Quality Control Samples Conc. [µg/mL]	Quality Control Samples ^a	Mean Intra-assay Precision [%]	Mean Intra-assay Accuracy [%]	Inter-assay Precision [%]	Inter-assay Accuracy [%]	Location / Validation Report No.
4.2.2.7.9 / PH-38878	Rat Plasma	2.50 35.0 170	1 / 3	2.41 - 3.99	105.0 - 108.8	n.a.	n.a.	4.2.2.7.6 / R-9573 4.2.2.7.8 / A49540
4.2.2.7.9 / PH-38878	Rat Urine	0.250 1.00 9.50	2 / 3	1.10 - 11.86	90.2 - 113.5	4.69 - 11.08	97.27 - 109.83	4.2.2.7.7 / R-9570
4.2.3.7.7.3 / A50211	Rat Plasma	2.70 20.0 170	3 / 3	10.18 - 18.83	98.9 - 116.8	11.33 - 15.93	99.5 - 107.6	4.2.2.7.8 / A49540
4.2.3.7.7.4 / PH-38066	Rabbit Plasma	2.51 15.0 170	5 / 4	0.90 - 7.87	84.4 - 119.7	3.43 - 7.73	88.80 - 106.3	4.2.2.7.3 / R-8951

a = Number of analytical runs (sets) / replicates per concentration

n.a. = not applicable

2.6.4.8.1.2 単回投与後の血漿中薬物動態

参照項目：4.2.2.7.9 PH-38878

雄性 Wistar ラットに BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 BAY 1025662 の薬物動態を検討した。試験の概要を表 2.6.4.8- 3 に示す。

表 2.6.4.8- 3 雄性 Wistar ラット単回静脈内ボラス投与試験の概要

Study type	Single-dose pharmacokinetics, in vivo study
Bayer reference	4.2.2.7.9 PH-38878
Test system	Rats, 3-4 males/sampling time, strain: Wistar
Dosage	BAY 1025662 ^a : 11 mg/kg
Vehicle(s)	IV administration : 100% sterile physiological saline
Assay, matrix	LC-MS/MS, Plasma, Urine

a = Batch no.: PGCSNov2014, BHC Berkley

雄性 Wistar ラットに BAY 1025662 を 11mg/kg の用量で単回静脈内ボラス投与した。血漿中 BAY 1025662 の経時推移を図 2.6.4.8- 1、薬物動態パラメータを表 2.6.4.8- 4 に示す。

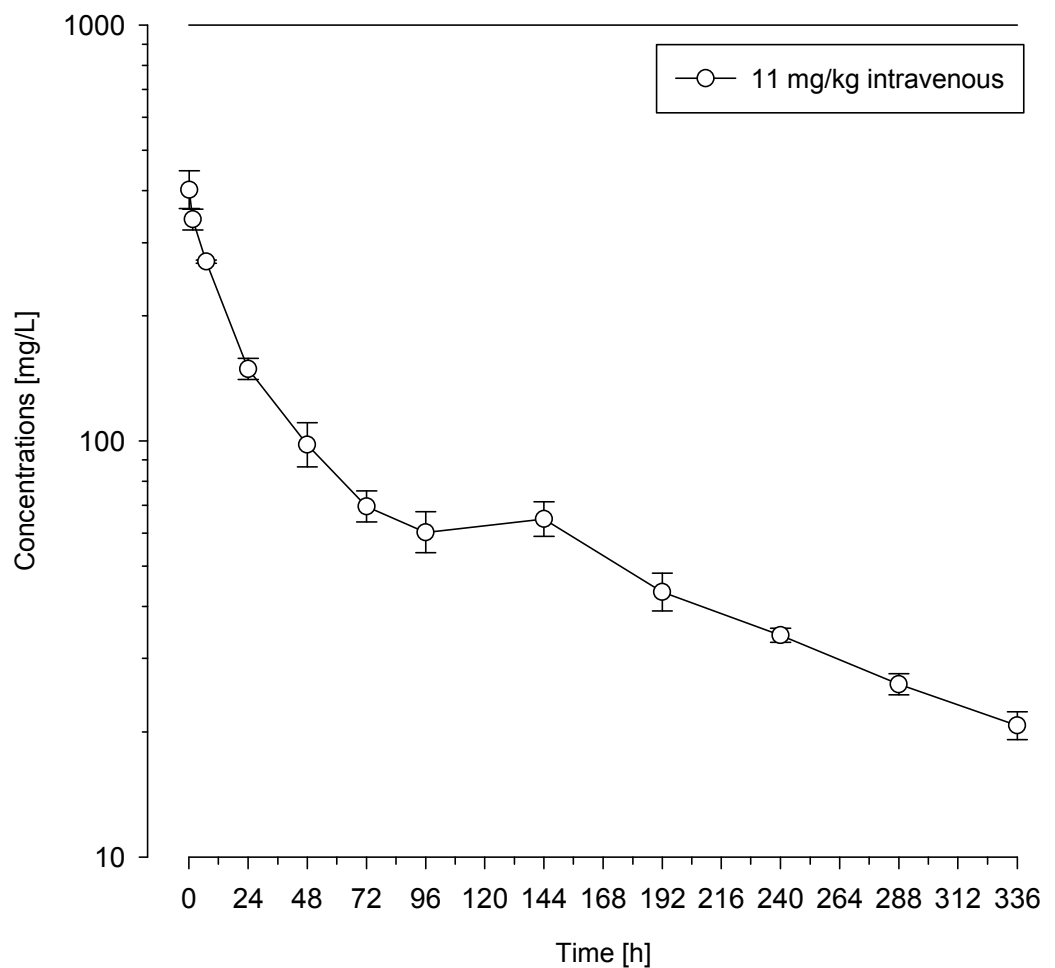
血漿中 BAY 1025662 は二相性の消失を示した。血漿中 BAY 1025662 の終末相（投与後 6~14 日）における消失半減期は 119 時間（約 5 日）であった。最終時点（投与後 336 時間）における血漿中 BAY 1025662 濃度は最高濃度（ C_{max} ）の約 5% であった。血漿クリアランスは非常に低く、0.43mL/h/kg であった。投与後初期の分布容積（=投与量/ C_{max} ）は 0.027L/kg で、ラットの血漿容積と類似していた。定常状態の分布容積は 0.068L/kg であった。

表 2.6.4.8- 4 雄性 Wistar ラットに BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 BAY 1025662 の薬物動態パラメータ（各時点 3~4 匹の平均血漿中濃度を用いて算出）

Route		Intravenous
Dose	[mg/kg]	11
AUC	[mg·h/L]	25600
AUC _{norm}	[kg·h/L]	2320
AUC(t _{last} -inf)	[%]	13.4
C _{max}	[mg/L]	402
C _{max, norm}	[kg/L]	36.6
t _{max}	[h]	0.0833
V _{ss}	[L/kg]	0.0684
CL	[L/h/kg]	0.000430
t _{1/2}	[h]	119
RRange ^a	[h]	144-336
MRT	[h]	159

a = used for calculation of half-life

Source: 4.2.2.7.9 PH-38878



Source: 4.2.2.7.9 PH-38878

図 2.6.4.8-1 雄性 Wistar ラットに BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの血漿中 BAY 1025662 の経時推移（幾何平均及び標準偏差）

2.6.4.8.1.3 反復投与後の血漿中薬物動態

2.6.4.8.1.3.1 雄性 Sprague Dawley ラット 4 週間反復静脈内ボーラス投与試験

参照項目：4.2.3.7.7.3 A50211

雄性 Sprague Dawley ラットに BAY 1025662 を 0.045、0.7 及び 11mg/kg の用量で 4 週間（2 日に 1 回）反復静脈内ボーラス投与したときの薬物動態を検討した（表 2.6.4.8-5）。Day 1 及び Day 27 における薬物動態パラメータを表 2.6.4.8-6 に示す。

表 2.6.4.8-5 雄性 Sprague Dawley ラット 4 週間反復静脈内ボーラス投与試験の概要

Toxicokinetics	
Reference	4.2.3.7.7.3 A50211
Test system	Sprague Dawley rats, 9 males/dose group (sparse sampling, 3 per sampling point)
Dosage	BAY 1025662 : Rat 0.045, 0.7, 11 mg/kg every 2 nd day IV for 4 weeks
Assay, matrix	LC-MS/MS, plasma samples

表 2.6.4.8-6 雄性 Sprague Dawley ラットに BAY 1025662 を 4 週間（2 日に 1 回）反復静脈内ボーラス投与したときの血漿中 BAY 1025662 の薬物動態パラメータ（各時点 3 匹の平均血漿中濃度を用いて算出）

Dose ev. 2 nd Day [mg/kg/d]	Day	C _{max} [mg/L]	C _{max,norm} [kg/L]	AUC(0-48) [mg·h/L]	AUC(0-48) _{norm} [kg·h/L]	C(48)/C _{max} [%]	R _A C _{max} [%]	R _A AUC [%]
Rat 4.2.3.7.7.3 A50211								
0.045	Day 1	1.13	25.0	26.7 ^a	594	n.c.	n.a.	n.a.
0.7	Day 1	25.9	37.0	501	716	23.5	n.a.	n.a.
11	Day 1	323	29.4	6495	590	24.0	n.a.	n.a.
0.045	Day 27	5.84	130	149	3302	50.8	519	556
0.7	Day 27	63.9	91.3	1585	2265	50.1	247	316
11	Day 27	884	80.4	19145	1740	41.4	273	295

a = rough estimate, AUC(0-48) extrapolated from 7 to 48 h

n.c. = not calculated

n.a. = not available

Day 27 において、血漿中 BAY 1025662 の投与 0 時間から 48 時間までの濃度-時間曲線下面積 [AUC(0-48)] 及び C_{max} は、用量比を下回って増加した。投与後 48 時間の血漿中 BAY 1025662 濃度は C_{max} の 41.4~50.8%であった。

BAY 1025662 の反復投与によって、AUC (0-48) 及び C_{max} に中等度~高度の蓄積 (2.5~5.6 倍) がみられた。

2.6.4.8.1.3.2 雄性 New Zealand White ウサギ 4 週間反復静脈内ボーラス投与試験

参照項目 : 4.2.3.7.7.4 PH-38066

雄性 New Zealand White ウサギに BAY 1025662 を 0.02、0.2 及び 2mg/kg の用量で 4 週間（週 2 回）反復静脈内ボーラス投与したときの薬物動態を検討した（表 2.6.4.8-7）。Day 1 及び Day 25 における薬物動態パラメータを表 2.6.4.8-8 に示す。

表 2.6.4.8-7 雄性 New Zealand White ウサギ 4 週間反復静脈内ボーラス投与試験

Toxicokinetics	
Reference	4.2.3.7.7.4 PH-38066
Test system	New Zealand White rabbits, 6 males/dose group (sparse sampling, 3 – 4 per sampling point)
Dosage	BAY 1025662 : Rabbit 0.02, 0.2, 2 mg/kg twice weekly IV for 4 weeks
Assay, matrix	LC-MS/MS, plasma samples

表 2.6.4.8-8 雄性 New Zealand White ウサギに BAY 1025662 を 4 週間（週 2 回）反復静脈内ボーラス投与したときの血漿中 BAY 1025662 の薬物動態パラメータ（各時点 3～4 匹の平均血漿中濃度を用いて算出）

Dose twice weekly [mg/kg]	Day	C _{max} [mg/L]	C _{max,norm} [kg/L]	AUC(0-72) [mg·h/L]	AUC(0-72) _{norm} [kg·h/L]	C(72)/C _{max} [%]	R _A C _{max} [%]	R _A AUC [%]
Rabbit 4.2.3.7.7.4 PH-38066								
0.02	Day 1	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.a.	n.a.
0.2	Day 1	5.74	28.7	241	1210	39.0	n.a.	n.a.
2	Day 1	56.5	28.2	2210	1110	37.9	n.a.	n.a.
0.02	Day 25	2.13	106	38.5 ^a	1920 ^a	n.c.	n.c.	n.c.
0.2	Day 25	15.3	76.6	692	3460	41.8	267	287
2	Day 25	133	66.5	6130	3060	46.9	236	277

a = AUC(0-24)

n.c. = not calculated

n.a. = not available

Day 25 において、血漿中 BAY 1025662 の投与 0 時間から 72 時間までの濃度-時間曲線下面積 [AUC(0-72)] 及び C_{max} は概ね用量比例的に増加した。静脈内ボーラス投与後 10 分から高い血漿中濃度がみられ、投与後 2 時間に C_{max} に到達した。その後、血漿中 BAY 1025662 濃度は緩徐に減少し、中用量及び高用量群では、投与後 72 時間の血漿中 BAY 1025662 濃度は C_{max} の約 40～50% であった。

反復投与（計 8 回投与）後では、中用量及び高用量群の AUC(0-72) 及び C_{max} に蓄積がみられ、蓄積率は約 2.5 倍であった。低用量群では、Day 1 においてすべての時点で LLOQ (1mg/L) 未満であったため、蓄積性に関する情報は得られなかった。

中用量及び高用量の回復群のウサギでは、最終投与後 28 日においても血漿中 BAY 1025662 濃度が LLOQ を上回り、それぞれ 0.9mg/L 及び 5.9mg/L であった。回復群における血漿中 BAY 1025662 の消失半減期は約 1 週間であった。

2.6.4.8.1.4 排泄

参照項目：4.2.2.7.9 PH-38878

雄性 Wistar ラットに BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの排泄を検討した。試験の概要を表 2.6.4.8- 3 に示す。

雄性 Wistar ラットに BAY 1025662 を 11mg/kg の用量で単回静脈内ボラス投与した。BAY 1025662 の尿中排泄率及び累積尿中排泄率を表 2.6.4.8- 9 に示す。

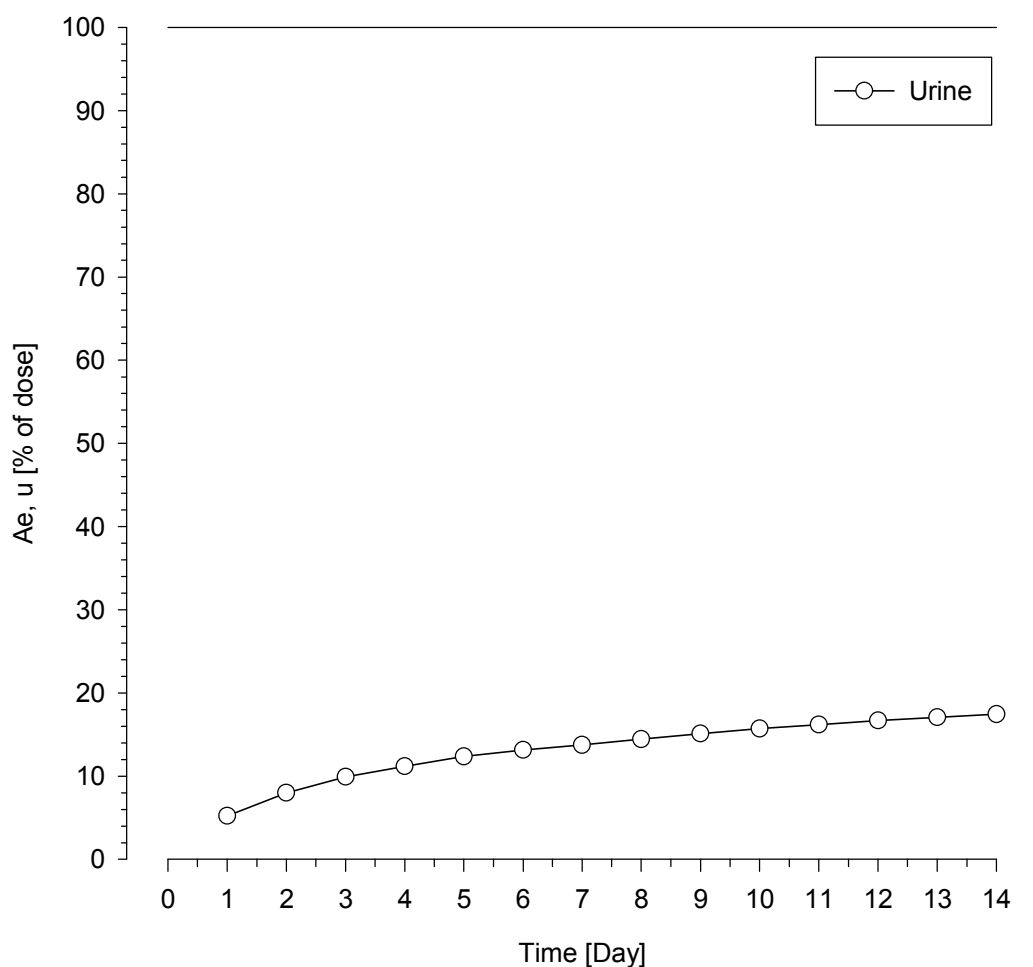
投与後 24 時間までに、投与量の 5.2% の BAY 1025662 が尿中に排泄された。その後も持続的に尿中に排泄され、投与後 7 日までに投与量の約 14% の BAY 1025662 が排泄された。

血漿中濃度の経時推移と同様に、BAY 1025662 の累積尿中排泄率の経時推移は双指数関数的であった (図 2.6.4.8- 2)。BAY 1025662 は、投与後 7 日～14 日にかけて、血漿中の消失半減期と同程度の半減期 (約 6 日) で尿中に排泄された。

表 2.6.4.8- 9 雄性 Wistar ラットに BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの BAY 1025662 の尿中排泄率及び累積尿中排泄率

No. of animals Matrix Sampling interval [h/d]	4 Urine	
	Ae,ur [%]	Ae,ur cumulative [%]
0-24 / 1	5.22	5.22
24-48 / 2	2.78	8.00
48-72 / 3	1.91	9.91
72-96 / 4	1.27	11.2
96-120 / 5	1.17	12.4
120-144 / 6	0.79	13.1
144-168 / 7	0.61	13.8
168-192 / 8	0.689	14.4
192-216 / 9	0.657	15.1
216-240 / 10	0.608	15.7
240-264 / 11	0.485	16.2
264-288 / 12	0.495	16.7
288-312 / 13	0.381	17.1
312-336 / 14	0.375	17.4

Source: 4.2.2.7.9 PH-38878



Source: 4.2.2.7.9 PH-38878

図 2.6.4.8-2 雄性 Wistar ラットに BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの BAY 1025662 の累積尿中排泄率の経時推移

2.6.4.8.2 $[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 及び $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 の排泄及び分布

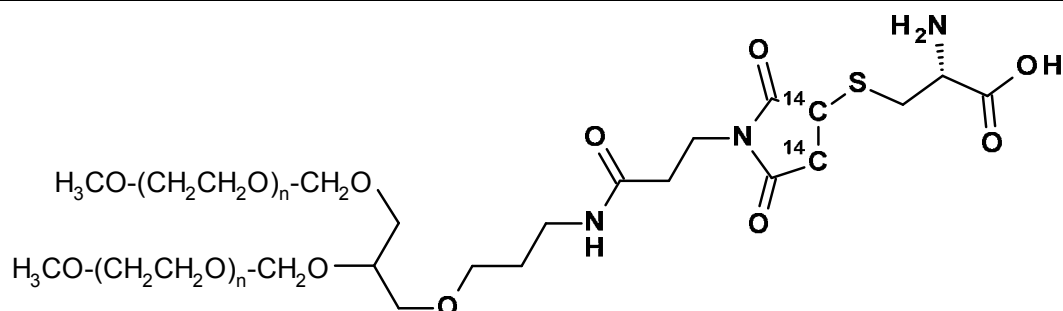
2.6.4.8.2.1 BAY 1025662 の ^{14}C 標識体の合成

BAY 1025662 の排泄及び分布を検討するために、マレイミドリンカー中の異なる位置を標識した 2 種類の BAY 1025662 の ^{14}C 標識体を合成した。両標識体は、共に同じ 2 段階の経路を用いて合成した。最初に合成した ^{14}C 標識体 ($[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662) は、マレイミド分子中の炭素が ^{14}C 標識されているのに対し、2 番目に合成した ^{14}C 標識体 ($[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662) は、リンカーのプロピオン酸中の炭素が ^{14}C 標識されている。

2.6.4.8.2.1.1 $[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662

参照項目：4.2.2.7.1 PH-37945

最初の ^{14}C 標識体合成では、マレイミド部分が ^{14}C 標識された $[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 を合成した。PEG アミン (SUNBRIGHT GL2-600PA) に 3-([2, 3- ^{14}C]マレイミド)プロピオン酸 N-ヒドロキシスクシンイミドエステルと結合させ、生成した PEG-60-マレイミドを生理食塩水中のシステインと反応させることにより、マレイミド部分が ^{14}C 標識された $[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 を得た (図 2.6.4.8-3)。比放射能は 0.059MBq/mg であった。合成された時点では、分析技術が確立されていなかったため、放射化学的純度に関する評価は実施しなかったが、その後の検討により、 ^{14}C 標識された低分子の副生成物が完全に除去されていなかったことが示唆された。

図 2.6.4.8-3 $[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 ($[^{14}\text{C}]$ PEG-60-マレイミド-システイン) の構造2.6.4.8.2.1.2 $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662

参照項目：4.2.2.7.2 PH-39307

2 番目の ^{14}C 標識体合成では、プロピオン酸部分が ^{14}C 標識された $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 を合成した。PEG アミン (SUNBRIGHT GL2-600PA) に 3-(マレイミド)[2, 3- ^{14}C]プロピオン酸 N-ヒドロキシスクシンイミドエステルを結合させ、生成した PEG-60-マレイミドを生理食塩水中のシステインと反応させることにより、プロピオン酸部分が ^{14}C 標識された $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 を得た (図 2.6.4.8-4)。比放射能は 0.069MBq/mg であった。PEG-60-マレイミドとシステインの反応において、イオン交換クロマトグラフィー-オフライン放射能検出により、マレイミドの二重結合が完全に反応し、最終産物に変換されたことを確認した (マレイミドの末端活性の測定)。放射化学的純度は 94.2% であった。

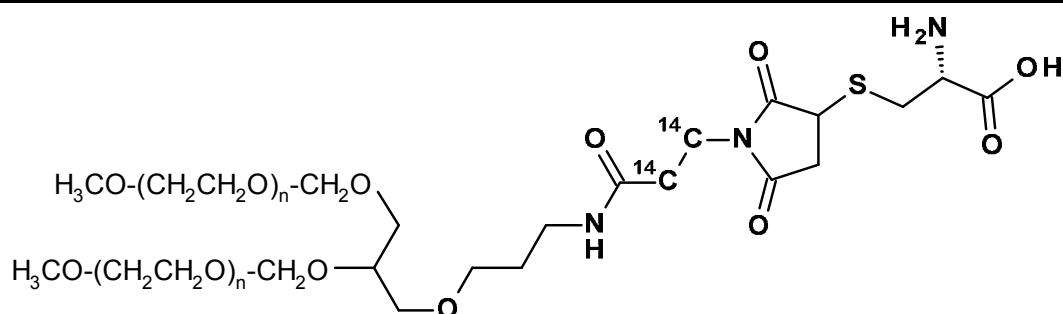


図 2.6.4.8- 4 [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-マレイミド-システイン) の構造

2.6.4.8.2.2 放射能の測定

体液、臓器・組織、排泄物中の放射能濃度を、適切に前処理した後、液体シンチレーション計測 (LSC) 法により測定した。この測定法では未変化体と代謝物を識別することはできない。

2.6.4.8.2.3 [¹⁴C]BAY 1025662 及び[prop-¹⁴C]BAY 1025662 の排泄

参照項目 : 4.2.2.7.10 PH-37841
4.2.2.7.11 PH-39637

雄性 Wistar ラットに [¹⁴C]BAY 1025662 又は [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの放射能の排泄 (マスバランス) を検討した。試験の概要を表 2.6.4.8- 10 に示す。

表 2.6.4.8- 10 雄性 Wistar ラット排泄試験の概要 ([¹⁴C]BAY 1025662 又は [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与)

Study type	Single-dose pharmacokinetics, in vivo study
Bayer reference	4.2.2.7.10 PH-37841, 4.2.2.7.11 PH-39637
Test system	Rats, 3 males/sampling time, strain: Wistar
Dosage	[¹⁴ C]BAY 1025662 ^a or [prop- ¹⁴ C]BAY 1025662 ^b : 11 mg/kg
Vehicle(s)	IV administration : 100% sterile physiological saline
Assay, matrix	LSC, plasma, urine, feces, organs and tissues
Sample collection period	168 days

a = specific activity: 0.059 MBq/mg (SXD 2701-1-01) in case of 4.2.2.7.10 PH-37841

b = [prop-¹⁴C]BAY 1025662 in case of 4.2.2.7.11 PH-39637, specific activity: 0.069 MBq/mg (SXD 3390-1-01)

BAY 1025662 の ¹⁴C 標識体を用いたラットの排泄試験を 2 回実施した。1 回目の試験では [¹⁴C]BAY 1025662 (4.2.2.7.10 PH-37841)、2 回目の試験では [prop-¹⁴C]BAY 1025662 (4.2.2.7.11 PH-39637) を 11mg/kg の用量で雄性 Wistar ラットに単回静脈内ボラス投与した。

1 回目の試験で用いた [¹⁴C]BAY 1025662 は、放射化学的純度に関する評価が実施されず、その後の検討で、¹⁴C 標識された低分子の副生成物が完全に除去されていなかったことが示唆された。したがって、投与後初期 (0~24 時間) における放射能の排泄は、PEG の排泄を正確に反映して

いない可能性が考えられた。2 回目の試験では、高い放射化学的純度（94.2%）の[¹⁴C]BAY 1025662 を用いたことから、投与後初期（0～24 時間）における放射能の排泄は、PEG の排泄を正確に反映していると考えられる。両試験の結果を表 2.6.4.8- 11（投与後 7 日までの回収率）及び表 2.6.4.8- 12（投与後 168 日までの回収率）に示す。

[¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したとき（4.2.2.7.11 PH-39637）、投与後 7 日までに投与量の 30.4%が排泄され、尿中への排泄が主であった（尿中に投与量の 23.7%、糞中に 6.27%が排泄された）。放射能の排泄は、徐々に減少していったが、試験終了まで持続した。1 日の放射能の排泄量は、投与量の 3.59%（投与後 2～3 日）から 0.025%（投与後 230～231 日）に減少した。投与後 168 日までに尿糞中に排泄された放射能は投与量の 82.6%であった〔尿中に 68.4%（投与後 231 日まで評価）、糞中に 13.8%が排泄された〕。

表 2.6.4.8- 11 雄性 Wistar ラットに [¹⁴C]BAY 1025662 又は [¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの放射能の回収率（投与後 7 日まで）

Location / Report No.	4.2.2.7.10 PH-37841		4.2.2.7.11 PH-39637	
	[¹⁴ C]BAY 1025662 168 h/ 7days		[¹⁴ C]BAY 1025662 168 h/ 7 days	
Test item	Mean arith.	CV	Mean arith.	CV
Duration [h]	[%]	[%]	[%]	[%]
Excreta				
Urine	59.4	3.34	23.7	3.92
Feces	15.9	5.73	6.27	18.5
Cage wash	0.294	8.58	0.432	22.0
Body (organs/tissues)				
Blood	1.76	14.4	6.63	14.0
Carcass	8.79	1.79	29.1	1.02
Liver	2.83	5.68	8.37	4.79
Kidneys	1.00	9.08	1.19	3.76
Skin, back, shorn	7.93	25.9	14.1	7.88
Tail, whole	0.213	9.18	0.603	7.71
Body excluding GIT	22.5	7.11	61.0	1.53
GIT	0.837	5.73	2.74	8.91
Recovery	99.0	3.27	94.1	0.779

PH-37841: 6 month study (first full study), [¹⁴C] test compound containing most likely impurities with lower molecular weight

PH-39637: 6 month study (second full study), well defined [¹⁴C] test compound with high purity

[¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したとき、投与後 168 日までの放射能の総回収率は 88.6%であった。投与量の 5.75%がラット体内（消化管を除く）から回収され、そのうちの大部分（投与量の 3.69%）が主要な臓器・組織（血液、肝臓、腎臓、皮膚及び尾）を除いた屍体から回収された。ラット体内（消化管を除く）の放射能の残存量は、投与後 7 日から 168 日にかけて、投与量の 61.0%から 5.75%に減少した。ラット体内における放射能の不可逆的な結合及び保持を示唆する兆候はみられなかった。

表 2.6.4.8-12 雄性 Wistar ラットに ^{14}C BAY 1025662 又は $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの放射能の回収率〔投与後 168 日まで（尿は投与後 231 日まで評価）〕

Report No.	4.2.2.7.10 PH-37841		4.2.2.7.11 PH-39637	
Test item	^{14}C BAY 1025662		$[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662	
Duration [d]	168 d		168 d	
	Mean arith. [%]	CV [%]	Mean arith. [%]	CV [%]
Excreta				
Urine	74.5 ^c		68.4 ^{b,c}	
Feces	17.4 ^c		13.8 ^c	
Cage wash	0.294 ^a	8.58	0.432 ^a	22.0
Body (organs/tissues)				
Blood	n.c.	n.c.	0.0421	69.6
Carcass	1.07	35.8	3.69	34.6
Liver	0.151	19.1	0.493	5.81
Kidneys	0.139	19.2	0.337	23.3
Skin, back, shorn	0.393	25.9	0.911	27.7
Tail, whole	n.c.	n.c.	0.0917	14.9
Body excluding GIT	1.79	29.8	5.75	28.8
GIT	0.121	n.c.	0.245	30.0
Recovery	94.1 ^c		88.6 ^c	

PH-37841: 6 month study (first full study), ^{14}C test compound containing most likely impurities with lower molecular weight

PH-39637: 6 month study (second full study), well defined $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ test compound with high purity
a = at 168 h

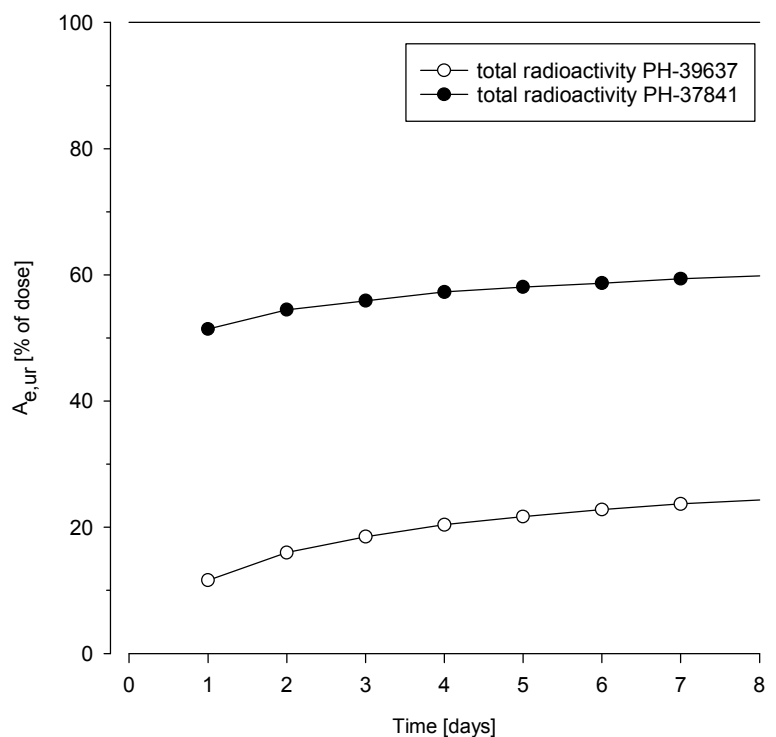
b = interpolated up to 5544 h (231 days)

c = the interpolated amount was considered, interpolation was carried out with the mean excretion rates. Therefore no CV could be calculated.

n.c. = not calculated

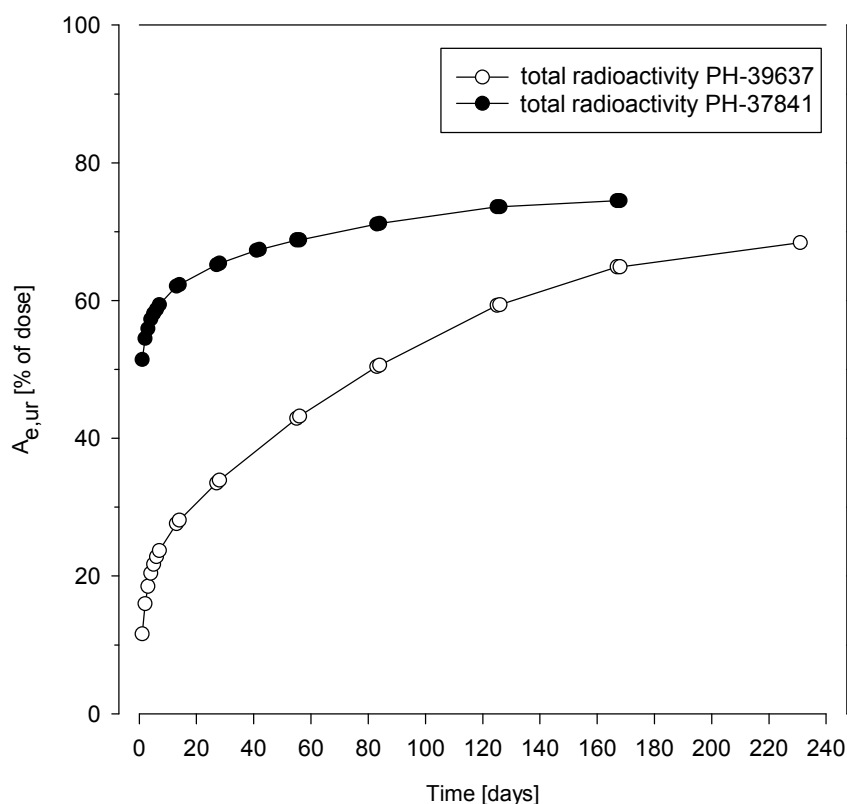
^{14}C BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したとき (4.2.2.7.10 PH-37841)、投与後 168 時間 (7 日) までに投与量の 59.4%が尿中に排泄され (そのうち投与量の 51.4%が投与後 24 時間までに排泄された)、 $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したとき [4.2.2.7.11 PH-39637、投与後 168 時間 (7 日) までに投与量の 23.7%が尿中に排泄され (そのうち投与量の 11.6%が投与後 24 時間までに排泄された)] と比較して、顕著に放射能の尿中への排泄が多かった。放射能の尿中排泄が多かった (同様に糞中への排泄も多かった) 原因として、 ^{14}C 標識された低分子の不純物が完全に除去されていなかったことが考えられる。それらの低分子の不純物は、PEG-60 よりも早く排泄されると考えられる。 $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 は約 6%の不純物しか含まないのに対し、 ^{14}C BAY 1025662 はそれよりも多くの不純物を含んでいた可能性が高い。投与後後期における放射能の尿中への排泄は、2 つの試験において非常に類似していた。 ^{14}C BAY 1025662 又は $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 を投与したときの放射能の累積尿中排泄率の経時推移を図 2.6.4.8-5 (投与後 7 日まで) 及び図 2.6.4.8-6 (投与後 168 日まで) に示す。投与後初期の放射能の尿中排泄速度は、 ^{14}C BAY 1025662 を投与した 1 回目の試験 (4.2.2.7.10 PH-37841) の方が、 $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 を投与した 2 回目の試験 (4.2.2.7.11 PH-39637) よりも速いが、投与後後期にかけて 2 つの試験における放射能の尿中排泄率は約 70%とほぼ同様の水準となった。これらの 2 つの試験の経時推移は、低分子の不純物は早く排泄

されるという仮説を支持するものであり、投与後初期における放射能の尿中排泄速度の違いを説明している。



Source: 4.2.2.7.10 PH-37841, 4.2.2.7.11 PH-39637

図 2.6.4.8-5 雄性 Wistar ラットに $[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 又は $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 を単回静脈内ポラス投与したときの放射能の累積尿中排泄率の経時推移 (投与後 7 日まで)



Source: 4.2.2.7.10 PH-37841, 4.2.2.7.11 PH-39637

図 2.6.4.8-6 雄性 Wistar ラットに ^{14}C BAY 1025662 又は $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 を単回静脈内ボーラス投与したときの放射能の累積尿中排泄率の経時推移〔投与後 168 日まで (PH-39637 は投与後 231 日まで) 〕

ラット尿試料の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いたプロファイリングにより、大部分の放射能は未変化体 (BAY 1025662) として尿中に排泄されることが示唆された〔投与後 7 日 (168 時間) までに回収した尿中放射能の 74% が未変化体で、投与量の 17.6% に相当した〕 (表 2.6.4.8-13、図 2.6.4.8-7)。この結果は、非標識の BAY 1025662 を投与したときの尿中 BAY 1025662 の排泄率を検討した結果と良く一致していた (4.2.2.7.9 PH-38878、表 2.6.4.8-9、図 2.6.4.8-2)。また、ラット尿中の放射能のうち、投与後 7 日までに投与量の 6.05% (投与後 1 日までに投与量の約 4.8%) が BAY 1025662 よりも低分子の画分から回収され、これは $[\text{prop-}^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 中に約 6% の低分子の不純物が含まれることと一致する。

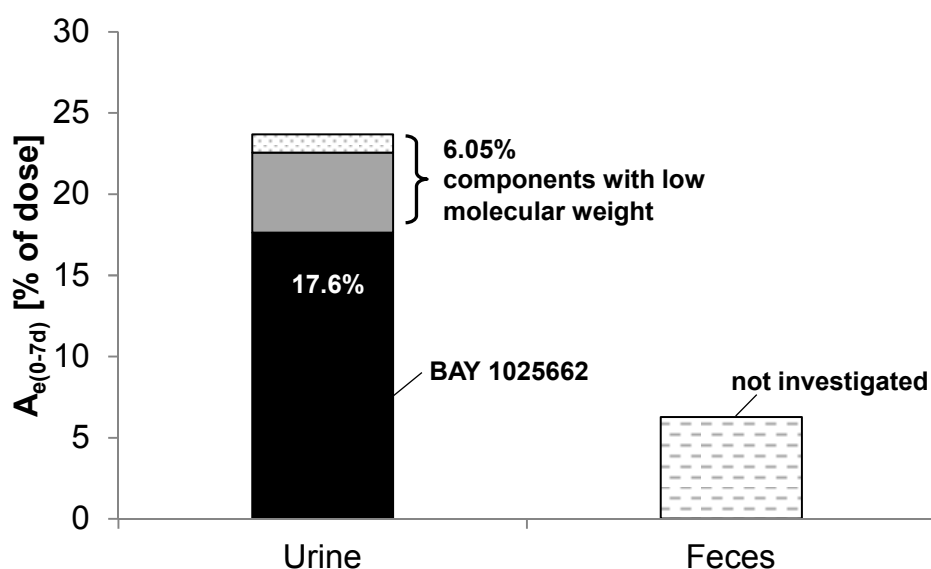
以上をまとめると、雄性 Wistar ラットに ^{14}C 標識した BAY 1025662 を単回静脈内ボーラス投与したときの排泄データは、PEG の代謝及び排泄を報告した文献^{6, 7, 8, 9, 10)}、並びに非標識の BAY 1025662 を投与したときの尿中排泄のデータ (2.6.4.8.1.4) と良く一致していた。

表 2.6.4.8-13 雄性 Wistar ラットに [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの放射能及び BAY 1025662 の累積尿中排泄率（投与後 7 日まで）

No. of animals Matrix Time [h / d]	Total radioactivity [% of dose]	3 Urine	BAY 1025662 [% of dose] ^a
24 / 1	11.6		6.79
48 / 2	16.0		10.7
72 / 3	18.5		12.9
96 / 4	20.4		14.6
120 / 5	21.7		15.8
144 / 6	22.8		16.9
168 / 7	23.7		17.6

a= determined via size-exclusion HPLC with offline-radioactivity detection

Source: 4.2.2.7.11 PH-39637



Source: 4.2.2.7.11 PH-39637

図 2.6.4.8-7 雄性 Wistar ラットに [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの放射能の尿及び糞中排泄率、並びに尿中放射能のプロファイリング（投与後 7 日まで）

[prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したとき、血液、血漿及び臓器・組織中の放射能は、緩徐ではあるが持続的に減少した。血液及び血漿中放射能の消失半減期は、共に約 24 日（血液：投与後 14～168 日の間隔で算出、血漿：投与後 84～168 日の間隔で算出）であった。また、臓器・組織中放射能の消失半減期は、肝臓で 33 日（投与後 14～168 日の間隔で算出）、皮膚で 31 日（投与後 56～168 日の間隔で算出）、屍体で 39 日（投与後 14～168 日の間隔で算出）、精巣で 54 日（投与後 14～168 日の間隔で算出）及び腎臓で 68 日（投与後 14～168 日の間隔で算出）であった（表 2.6.4.8-14）。

表 2.6.4.8-14 雄性 Wistar ラットに [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの血液、血漿及び臓器・組織中放射能の薬物動態パラメータ

Route		intravenous (bolus)						
Dose [mg/kg]		11						
Matrix		Blood	Plasma	Liver	Kidneys	Skin	Carcass	Testes
AUC	mg-eq·h/L	6860	11700	22800	36500	5940	6110	18500
AUC(0-t _{last})	mg-eq·h/L	6810	11600	22100	29700	5740	5790	16300
t _{last}	h	4032	4032	4032	4032	4032	4032	4032
%AUC(0-t1)	%	18.7	18.9	8.1	3.8	9.3	6.7	3.7
%AUC(t _{last} -inf)	%	0.6	0.8	3.2	18.7	3.4	5.3	12.0
Ce _{qmax}	mg-eq/L	15.2	26.3	21.9	16.6	6.61	4.90	8.18
t _{max}	h	168	168	168	168	168	168	168
t _{1/2}	h	566	569	798	1640	749	934	1300
t _{1/2}	days	23.6	23.7	33.3	68.3	31.2	38.9	54.2
RPoints		6	3	6	6	4	6	6
RRange	h	336-4032	2016-4032	336-4032	336-4032	1344-4032	336-4032	336-4032

Source: 4.2.2.7.11 PH-39637

表 2.6.4.8-15 雄性 Wistar ラットに [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの血液及び臓器・組織中放射能の残存量

Period	Day 7 Mean arith.	Day 14 Mean arith.	Day 28 Mean arith.	Day 56 Mean arith.	Day 84 Mean arith.	Day 126 Mean arith.	Day 168 Mean arith.
	[% of dose]						
Blood at sacrifice	6.63	2.76	1.66	0.677	0.434	0.226	0.0421
Carcass	29.1	28.1	23.4	16.8	13.4	8.12	3.69
Liver	8.37	7.29	5.88	2.95	1.76	1.01	0.493
Kidneys	1.19	1.09	1.00	0.854	0.812	0.487	0.337
Testes	0.944	0.966	0.954	0.919	0.723	0.352	0.189
Skin, shorn	14.1	11.0	4.63	8.12	4.86	2.79	0.911
Tail, whole	0.603	0.405	0.321	0.181	0.113	0.0753	0.0917
GIT	2.74	2.41	2.18	1.39	0.995	0.397	0.245
Body excl. GIT	61.0	51.5	37.9	30.5	22.1	13.1	5.75
Body	63.7	53.9	40.1	31.9	23.1	13.5	5.99

Source: 4.2.2.7.11 PH-39637

2.6.4.8.2.4 [prop-¹⁴C]BAY 1025662 の分布

参照項目：4.2.2.7.12 PH-39641

雄性 Wistar ラットに [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの放射能の臓器・組織分布を定量的及び定性的全身オートラジオグラフィーにより検討した。試験の概要を表 2.6.4.8-16 に示す。

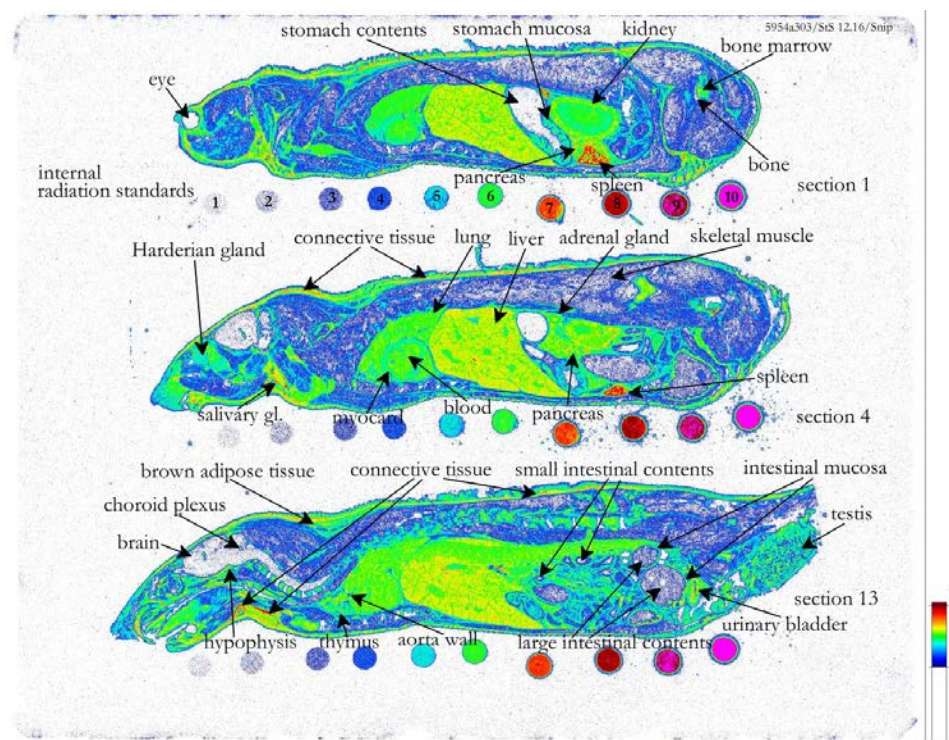
表 2.6.4.8-16 雄性 Wistar ラット臓器・組織分布試験の概要 ([prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与、定量的及び定性的全身オートラジオグラフィー)

Study type	Quantitative and qualitative, whole body-autoradiography		
Bayer reference	4.2.2.7.12 PH-39641		
Study design	Rats, 1 animal/time point		
Admin. Route	Dosage [prop- ¹⁴ C]BAY 1025662 ^a	Sex / species	Sacrifice time
IV	11 mg/kg	Wistar rat, male	2 h, 1, 7, 28, 84, 168 d
Vehicles	IV administration	: 100% sterile physiological saline	
Assay	Radioluminography		

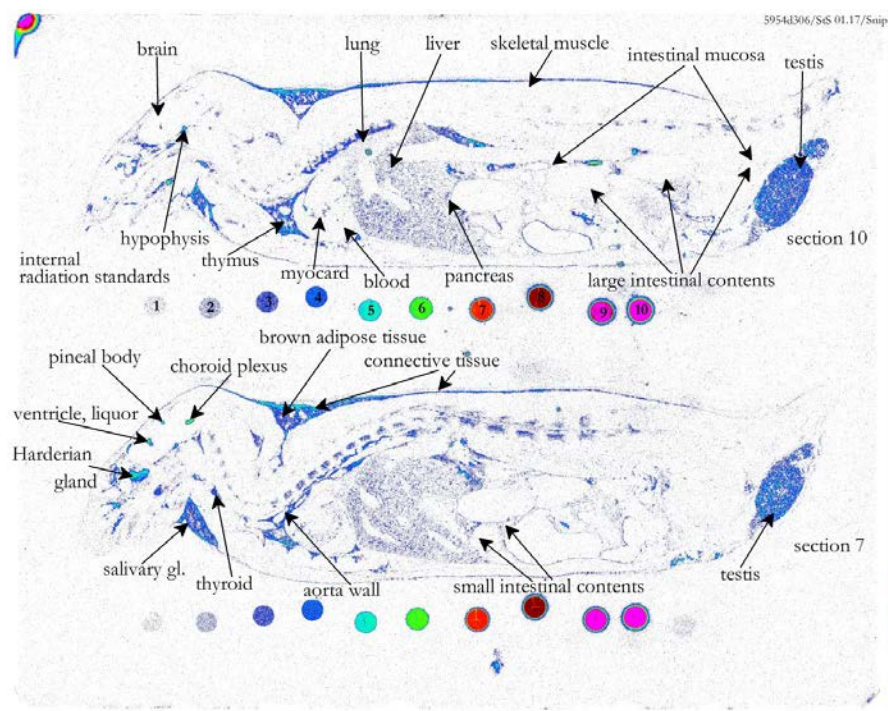
a = specific activity: 0.069 MBq/mg (SXD 3390-1-01 A).

雄性 Wistar ラットに [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を 11mg/kg の用量で単回静脈内ボラス投与した。投与後、放射能は血液から末梢の臓器・組織に緩徐に分布し [放射能濃度比 (組織/血液) < 0.5]、約半数の臓器・組織において投与後 2 時間に C_{max} に達した。投与後 2 時間に C_{max} に達した臓器・組織のうち、最も高い値を示したのは、血液 (135mg-eq/L) で、次いで肺 (90mg-eq/L)、肝臓 (75mg-eq/L) であった。腎臓において、放射能は不均一に分布し、C_{max} は、腎皮質の 39.9mg-eq/L から腎乳頭の 73.9mg-eq/L の範囲であった。投与後 2 時間に C_{max} に達した臓器・組織のうち、最も低い値を示したのは、骨、脳及び骨格筋で、約 2mg-eq/L であった。その他の臓器・組織では、投与後 24 時間以降に C_{max} に達し、C_{max} は低い値を示した。

A



B



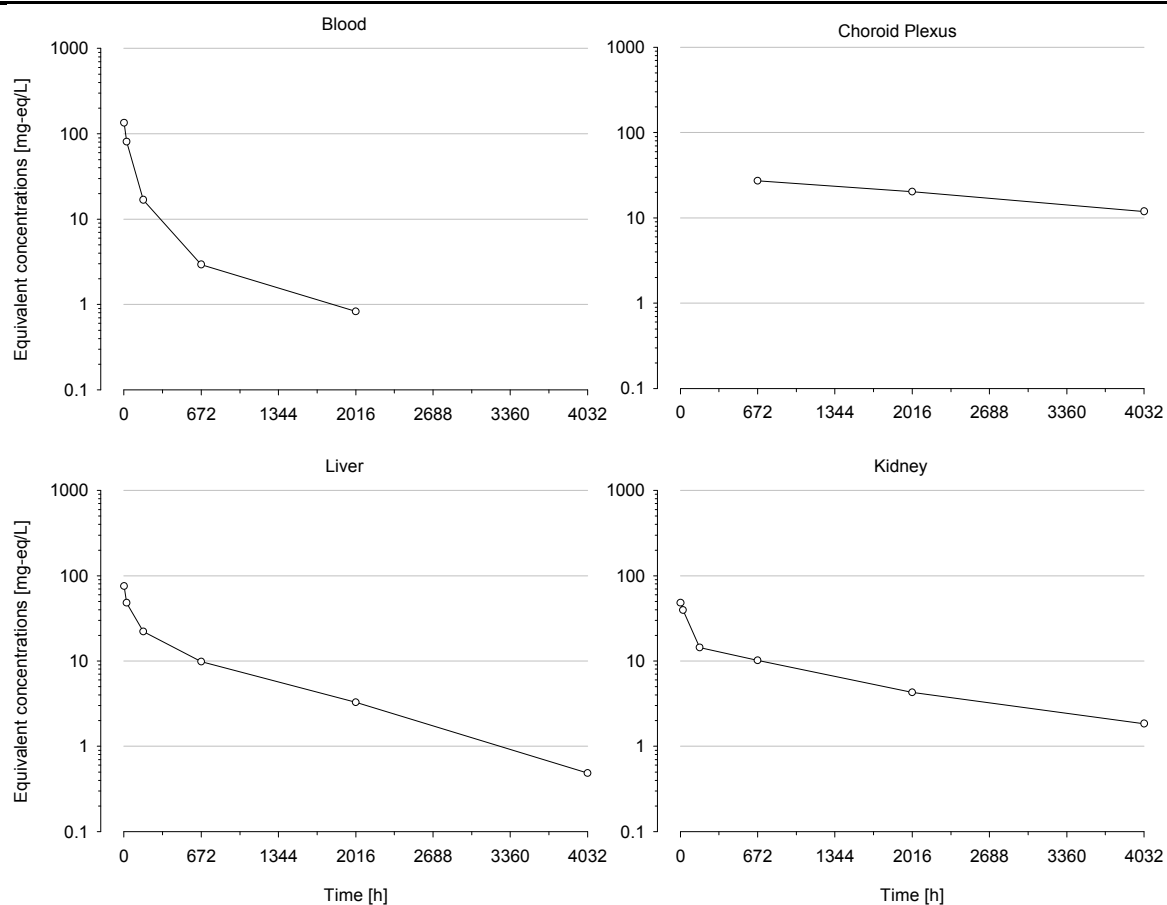
Source: 4.2.2.7.12 PH-39641

図 2.6.4.8-8 雄性 Wistar ラットに [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの全身オートラジオグラム：(A) 投与後 7 日、(B) 投与後 168 日

血液中放射能の投与 0 時間から無限大時間までの時間曲線下面積 (AUC) は、大部分の臓器・組織よりも低かった。血液よりも低い AUC を示したのは、前立腺 (血液の 0.57 倍)、精巣上体 (0.51 倍)、背部皮膚 (0.37 倍)、白色脂肪組織 (0.36 倍)、骨 (0.15 倍)、精囊 (0.073 倍) 及び骨格筋 (0.072 倍) であった。脳における放射能濃度は、検出下限をやや超える程度で、放射能の血液-脳関門通過性は非常に低いと考えられる。精巣中放射能の AUC は、血液より約 2 倍高く、血液-精巣関門通過性は高いと考えられる。いくつかの臓器・組織内では、放射能の不均一な分布に起因する AUC の違いがみられた (脂肪組織: 褐色脂肪組織は、白色脂肪組織より 3.5 倍高かった。副腎: 副腎髄質は、副腎皮質より 2.6 倍高かった。骨: 骨髄は、緻密骨より 9.4 倍高かった。)。副腎、ハーダー腺、松果体、下垂体、顎下腺、膵臓、涙腺及び甲状腺において、比較的高い放射能曝露がみられたことから、放射能の内分泌/外分泌ホルモン系に対する親和性が示唆された。また、リンパ器官 (脾臓、リンパ節及び胸腺など) 及び結合組織に対しても放射能の親和性がみられた。

検討したすべての臓器・組織中の放射能は、 C_{max} に達した後、緩徐にかつ持続的に減少し、長い消失半減期を示した。血液中放射能の消失半減期は約 19 日 (投与後 7~84 日の間隔で算出) であった。脳及びハーダー腺を除く臓器・組織中放射能の消失半減期は約 25~117 日 (投与後 168 日までの間隔で算出) の範囲で、脈絡叢における消失半減期が最も長く、約 117 日 (投与後 28~168 日の間隔で算出) であった。精巣における放射能の消失半減期は約 83 日 (投与後 7~168 日の間隔で算出) であった。最も消失半減期が短かったのは脳で、約 3.4 日 (投与後 2~168 時間の間隔で算出) であった。ハーダー腺における放射能は、 C_{max} に達した後に持続的な減少がみられず、消失半減期を算出するのに十分な数の測定時点が得られなかった。したがって算出した AUC の値は科学的妥当性が欠けている可能性が高い。

投与後 168 日では、ラット体内 (消化管を除くすべての臓器・組織) に残存していた放射能は投与量の 4.16% で、排泄 (マスバランス) 試験の結果 (投与後 168 日で約 6% 残存、表 2.6.4.8-12) と良く一致していた。投与後 168 日の全身オートラジオグラムでは、放射能は主に褐色脂肪組織 [投与量の 0.91% (全身オートラジオグラムから算出した値)]、皮膚 (0.75%)、精巣 (0.73%)、肝臓 (0.46%)、腎臓 (0.36%) 及び脾臓 (0.28%) に残存していた。脈絡叢における放射能の残存量は、投与量の 0.006% であった。血液、脳及び骨格筋における放射能は検出下限未満であった。



Source: 4.2.2.7.12 PH-39641

図 2.6.4.8-9 雄性 Wistar ラットに [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したときの血液、脈絡叢、肝臓及び腎臓における放射能濃度（全身オートラジオグラムから算出）の経時推移

2.6.4.8.3 トランスポーターに関する試験

トランスポーターに関する試験は実施しなかった。実施しなかった理由については、2.6.4.9を参照のこと。

2.6.4.9 考察及び結論

ラット及びウサギを用いて BAY 94-9027 の非臨床薬物動態試験（単回静脈内ボラス投与）、毒性試験の一環としてトキシコキネティクス試験（反復静脈内ボラス投与）を実施した。また、BAY 94-9027 において FVIII 分子の PEG 化に用いた PEG-60-マレイミド-システイン（BAY 1025662）をラットに投与し、排泄及び分布を検討した。このラットの排泄及び分布試験では、非標識又は ^{14}C 標識した BAY 1025662 を 11mg/kg の用量で単回静脈内ボラス投与した。11mg/kg は、BAY 94-9027 を用いた治療で、ヒトに生涯にわたって BAY 94-9027 を投与したときの、PEG-60 としてのおよその総投与量に相当する。

ラット及びウサギに BAY 94-9027 を単回静脈内ボラス投与したとき、血漿中 FVIII 活性の薬物動態は線形であった。ウサギでは、捕捉抗体として抗 FVIII 抗体を用いた測定法（抗 FVIII 抗体法）と抗 PEG 抗体を用いた測定法（抗 PEG 抗体法）によって得られた血漿中 FVIII 活性の投与後後期における経時推移に若干の差がみられ、抗 PEG 抗体法によって得られた消失半減期の方が短く、クリアランスは高かった。

ラット及びウサギの血漿中 FVIII 活性の終末相における消失半減期（抗 FVIII 抗体法で得られた値）は、それぞれ約 8 時間及び約 12 時間であった。血漿中 FVIII 活性のクリアランスは両動物種で非常に低かった。また、定常状態の分布容積は両動物種で小さく、ラットで 51.8~65.1 mL/kg（4.2.2.2.1 A47788）、ウサギで 53.5~63.8 mL/kg（4.2.2.2.3 A47769）の範囲で、治療用たん白質で期待されるように、ほぼ血管内に分布することが示唆された¹¹⁾。もう 1 つのラットの試験（4.2.2.2.2 PH-39789）で算出された定常状態の分布容積はやや小さかった（24.0~34.7 mL/kg）が、この差を説明し得る科学的根拠はなく、実験及びパラメータ算出上のアーティファクトと考えられる。

ウサギに BAY 94-9027 を 2 週間反復静脈内ボラス投与したとき、大部分の時点で血漿中 FVIII 活性が定量下限未満であったため、血漿中 FVIII 活性の蓄積性は評価できなかった。ラットでは、個体間及び投与群間での血漿中 FVIII 活性のばらつきが大きかったため、蓄積性に関する明確な結論は得られなかった。これらの結果は、抗薬物抗体及び／又は抗 FVIII 中和抗体の産生が原因であると考えられる。

BAY 94-9027 の PEG 部の薬物動態及び毒性を評価するために、マレイミドリンカーの末端にシステインを結合させた BAY 1025662（PEG-60-マレイミド-システイン）をサロゲート分子として合成した。

ラット及びウサギを用いた BAY 1025662 の毒性試験におけるトキシコキネティクス評価は、BAY 94-9027 を投与したときの血漿中 FVIII 活性の薬物動態と比較するためではなく、毒性評価における BAY 1025662 の血漿中曝露量を確認するために実施した。したがって、BAY 1025662 を用いた試験は PEG の薬物動態の補足的なデータとなるが、BAY 94-9027 から放出された PEG 部の薬物動態を直接的に表すものではない。BAY 1025662 を週 2 回又は 2 日に 1 回 4 週間反復静脈内ボラス投与したとき、血漿中 BAY 1025662 濃度は双指数関数的に減少した。血漿中 BAY 1025662 の消失は持続的で、ウサギにおける消失半減期は約 1 週間であった。

ラットに BAY 1025662 を単回静脈内ボラス投与したとき、血漿中 BAY 1025662 の消失半減期は 119 時間（約 5 日間）であった（投与後 6~14 日の間隔で算出）。また、BAY 1025662 は、投与後 7 日~14 日にかけて、血漿中の消失半減期と同程度の半減期（約 6 日）で尿中に排泄されたことから、尿中排泄が循環血中からの消失と密接に関係していることが示唆された。このことは、高分子 PEG に関する報告¹⁰⁾ と良く一致する。

ラット及びウサギに BAY 1025662 を反復静脈内ボラス投与したとき、BAY 1025662 の血漿中曝露に中等度から顕著な蓄積がみられ、AUC 及び C_{max} が 2.5~5.6 倍に増加した。これらの蓄積は、血漿中 BAY 1025662 の消失半減期と投与間隔で説明できる。

PEG 化たん白質は、通常、標的介在性の取り込み（受容体介在性の取り込みを含む）やピノサイトーシスによって循環血液の中から消失する。PEG 化たん白質のたん白質部分は、成熟エンドソームの酸性環境下で変性（デフォールディング）した後、リソソーム酵素により分解される^{6, 7, 12}。FVIIIは、主に低密度リポたん白質受容体関連たん白質（LRP）を介して選択的に肝臓に取り込まれ、分解されると考えられている¹³。また、もう 1 つの副次的な消失過程として PEG 化たん白質からの PEG の放出が報告されている¹²。一般的に、PEG 化たん白質から放出された PEG 部の生体内運命は、PEG のみを単独投与したときの生体内運命と類似していると考えられている⁷。

BAY 1025662（PEG-60-マレイミド-システイン）の薬物動態は、BAY 94-9027 の薬物動態及び BAY 94-9027 から放出された PEG 部の薬物動態を正確に反映していない可能性があるが、BAY 1025662 の排泄及び分布の評価結果からは、BAY 94-9027 から放出された PEG 部の消失経路に関して重要な知見が得られると考えられる。

ラットに ¹⁴C 標識した BAY 1025662（[prop-¹⁴C]BAY 1025662）を 11mg/kg の用量で単回静脈内ボラス投与したとき、放射能はほぼ完全に排泄され、試験終了時点の投与後 168 日（尿は投与後 231 日）までに尿糞中から投与量の 82.6%が回収された。放射能の総回収率（尿糞中への累積排泄量+体内の残存量）は 88.6%で、6 ヶ月の長期にわたって排泄を評価したため、約 10%の放射能は回収不能であった。

また、ラット体内における放射能の不可逆的な結合及び保持を示唆する兆候はみられなかった。したがって、文献^{7, 10, 14}で報告されているように、60kDa PEG のような高分子の PEG を排泄する機構が生体内に存在することが示された。

ラットに [prop-¹⁴C]BAY 1025662 を投与したとき、血液中放射能の AUC は、大部分の臓器・組織よりも低かった。検討したすべての臓器・組織中の放射能は、緩徐にかつ持続的に減少した。血液中放射能の消失半減期は 24 日（投与後 14~168 日の間隔で算出）であった。一方、臓器・組織中放射能の消失半減期は、血液中よりも長かった（肝臓の 33 日、腎臓の 68 日、皮膚の 31 日など）（表 2.6.4.8-14）。放射能の消失半減期及び分布に関するプロファイルは、同程度の分子サイズの PEG のプロファイル^{8, 9}と一致していた。

高分子 PEG [40kDa PEG（PEG-40）及び PEG-60 を含む]には 2 つのクリアランス経路があると考えられ、まず投与後 1~2 週間において速やかな排泄が起こり、続いてピノサイトーシスによって非特異的に細胞内に取り込まれ、この過程においては長い消失半減期を示す^{7, 8}。BAY 1025662 を用いた PEG-60 の臓器・組織分布試験及び PEG-40 に関する報告⁸から考察されるように、細胞内に取り込まれた PEG は、おそらくエキソサイトーシスによって血漿中に戻され、さらなる排泄を受けると考えられる⁷。また、PEG の分子量サイズの増加に伴い、PEG の総クリアランスは低下し、消失半減期は延長する¹⁰。ラットにおける Nonacog beta pegol（N9-GP）の PEG-40 部の分布及び排泄を検討した試験において、PEG-40 は生体内に広く分布し、排泄されることが示されている¹⁵。ラット組織の終末相における消失半減期を用いてモデル解析した結果、ヒトのすべての組織における PEG-40 部の濃度は、投与を開始して 1~2 年以内に定常状態に達すると考えられた^{8, 15}。一方、ヒトに BAY 94-9027 を投与したとき、血漿中の PEG-60 濃度は投与開始から約 1 年後に、組織中の PEG-60 濃度は投与開始から 4 年以内に定常状態に達すると考えられる（4.2.2.7.13 PH-39907）。しかし、N9-GP を 40IU/kg の用量（治療用量）で投与したときの PEG-40 としての用量は 230 µg/kg であるのに対し、BAY 94-9027 を 60IU/kg（治療用量）で週

1 回又は 2 回投与したときの PEG-60 としての用量は 4 又は 8 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{週}$ であり、N9-GP の治療における PEG の用量の方が BAY 94-9027 よりもはるかに多い。

ラットに [prop- ^{14}C]BAY 1025662 を投与したとき、リンパ器官（脾臓、リンパ節及び胸腺など）に比較的高い放射能濃度が認められたことから、リンパ器官における PEG の取り込みが示唆された。脳において放射能はほとんど認められず、放射能の血液-脳関門通過性は非常に低いことが示唆された。副腎、ハーダー腺、松果体、下垂体、顎下腺、膵臓、涙腺及び甲状腺などの分泌腺において放射能が認められたが、投与量に対する割合は非常に小さく、放射能の内分泌/外分泌ホルモン系に対する弱い親和性が示唆された。

投与後 7 日までに回収したラット尿試料の HPLC を用いたプロファイリングにより、大部分の放射能は未変化体（BAY 1025662）として尿中に排泄されることが示唆された。このことは文献の報告と良く一致していた。一般的に、PEG の尿中排泄のクリアランスは、分子量の増大に伴って低下する^{6, 8, 10, 14}。一方、PEG の胆汁中排泄クリアランスも、分子量の増大に伴って低下し、マウスにおいて約 50kDa で最も低くなることが報告されている^{6, 10}。したがって、マウスでは、50~60kDa 程度の PEG の排泄については、尿中排泄の方が胆汁中排泄よりもかなり大きい（約 100 倍）と考えられる。このことは、腎臓における糸球体濾過が PEG の尿中排泄に最も重要な要因であることを示している。糸球体濾過される球状たん白質の分子量の閾値は、約 60~70kDa であることが報告されている^{10, 16}。

PEG 化たん白質（及び PEG 化たん白質から放出される 30kDa 超の PEG）は、腎排泄されるのが遅く、組織及び細胞中に取り込まれた PEG 化たん白質のうち、たん白質部分はリソソーム酵素によって効率良く分解されるが、PEG 部は分解されない。そのため、PEG 化たん白質から放出された PEG は蓄積する可能性が非常に高い⁷。組織中での PEG の蓄積に関する重要な因子の 1 つが、定常状態（最大蓄積時）における PEG 濃度であり、その濃度と毒性所見に関連性があるかどうかが重要となる。PEG-40 に関する報告では、ラット組織中での PEG-40 の消失半減期は用量に伴って延長した。一方、治療用量はラットで検討した用量よりもかなり低いことから、治療用量を投与したときの消失半減期はかなり短いと考えられる⁸。しかし、ヒトにおける蓄積を評価する際には、最も保守的な（最も蓄積が大きくなるような）推定をする必要がある。

BAY 1025662 の薬物動態の検討で用いた 11mg/kg は、BAY 94-9027 を用いた治療で、ヒトに生涯にわたって BAY 94-9027 を投与したときの、PEG-60 としてのおよその総投与量に相当する。BAY 94-9027 の治療用量である 60IU/kg を単回投与したときの PEG-60 の投与量はわずか 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ にすぎない。

ラットにヒト生涯投与量の PEG を投与したとき（[prop- ^{14}C]BAY 1025662 を 11mg/kg 投与したとき）の血漿中薬物動態及び臓器・組織分布データ（4.2.2.7.11 PH-39637、4.2.2.7.12 PH-39641）に基づいて、ヒトに BAY 94-9027 を治療用量で（PEG-60 として 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）週 1 回投与したときの血漿中 PEG-60 濃度の経時推移をシミュレーションした（4.2.2.7.13 PH-39907）。ヒトの血漿中濃度推移のシミュレーションに必要なクリアランス（CL）及び定常状態の分布容積（ V_{ss} ）は、下記のアロメトリックスケール式を用いて、ラットのパラメータから算出した。

$$CL_{\text{human}} = CL_{\text{animal}} \cdot (\text{body weight}_{\text{human}} / \text{body weight}_{\text{animal}})^{0.8}$$

$$V_{ss \text{ human}} = V_{ss \text{ animal}} \cdot (\text{body weight}_{\text{human}} / \text{body weight}_{\text{animal}})^{1.0} \quad 17, 18)$$

ラットに高用量を投与したときの消失半減期に基づくヒトへの外挿は、ヒトにおける蓄積を最も保守的に推定する方法として適切であると考えられる⁸⁾ (4.2.2.7.13 PH-39907)。血漿中 PEG-60 濃度は、遅くとも治療開始から 1 年後には定常状態に達し、そのときの C_{max} は約 0.15mg/L、トラフ濃度は約 0.11mg/L と推定された。臨床試験において測定した血漿中の PEG 濃度は、アロメトリックスケーリングによる推定値よりも低かった (図 2.6.4.9-1)。臨床試験では、172 名の被験者のうち、わずか 3 名において、LLOQ (0.1mg/L) 付近の PEG 濃度が 1 時点で検出されたのみであった。また、その後、3 名の被験者の血漿中から PEG は認められなかった (2.7.4.2.1.6)。

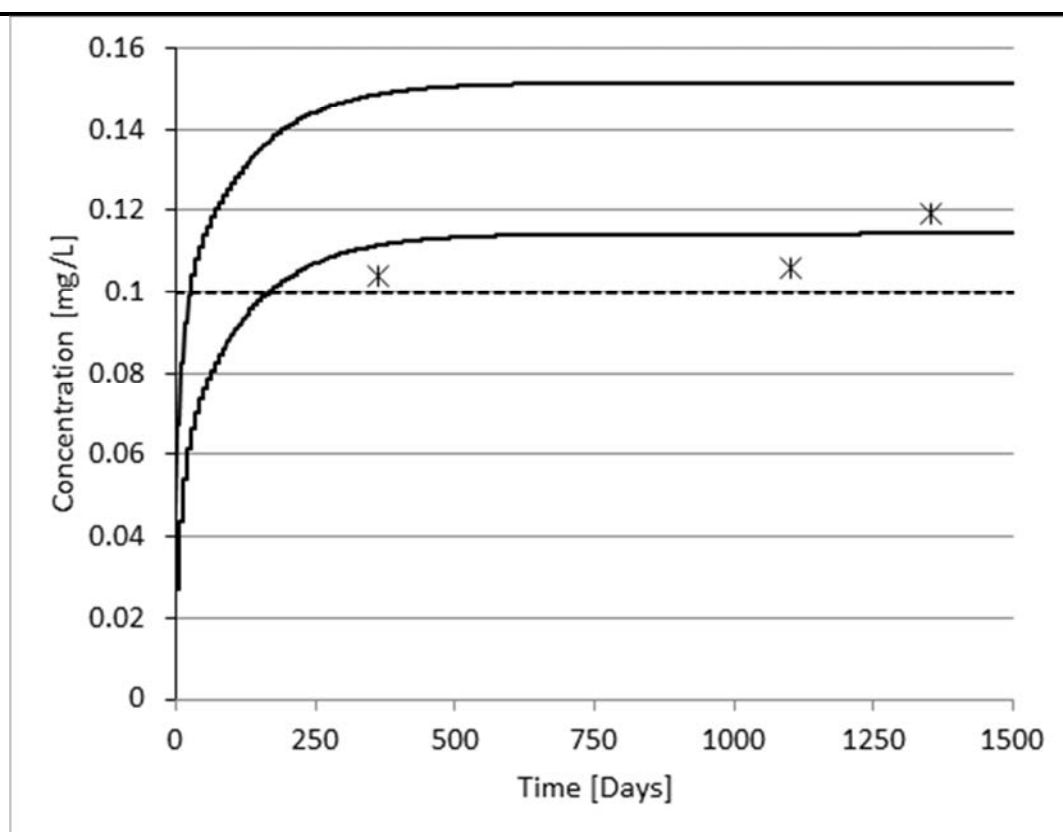


図 2.6.4.9-1 ヒトに BAY 94-9027 を治療用量 (PEG-60 として $4\mu\text{g}/\text{kg}$) で週 1 回投与したときの血漿中 PEG-60 濃度の経時推移のシミュレーション (上側の曲線: C_{max} 、下側の曲線: トラフ濃度) と実測値 (*印) の比較 (点線は LLOQ: 0.1mg/L)

これまでに、PEG-60 のトランスポーターに対する基質特性及び阻害作用の検討は実施していない。

これまでに得られている PEG の薬物動態に関する報告の中で、PEG-60 がトランスポーターによって能動的に輸送される可能性を示唆するものはない。さらに、トランスポーターの典型基質の分子量は 250~1260 の範囲であり^{19, 20)}、BAY 94-9027 で用いた PEG-60 よりもはるかに小さい。また、ラットにおいて、PEG-60 の腎クリアランスは低く、腎臓の能動分泌は示唆されなかった。以上のことから、PEG-60 はトランスポーターによって能動的に輸送される可能性は低いと考えられる。

PEG は P-糖たん白質 (P-gp) 等のトランスポーターを阻害することが報告されているが、それらの阻害試験で用いられた PEG の分子量は 200~400Da で、BAY 94-9027 に用いた PEG-60 と比較すると非常に小さい²¹⁾。また、これらの阻害試験で用いられた PEG の濃度は 25~500 μ M と高かった。BAY 94-9027 の臨床試験において、172 名の被験者のうち 3 名の血漿中で、それぞれ 1 時点のみ検出可能な PEG-60 が認められ、PEG-60 濃度は LLOQ の 0.1mg/L (2nM) 付近であり (図 2.6.4.9- 1)、P-gp の阻害試験で用いられた PEG (200~400Da) の濃度と比較して非常に低かった。また、排出及び取り込みトランスポーターに対する一般に知られている最も強い阻害薬の IC₅₀ 値は、エラクリダールの 30~60nM [P-gp 及び乳癌耐性タンパク (BCRP)]²²⁾、Fumitremorgin C の 250nM (BCRP)²³⁾、シクロスポリンの 300nM [有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP)]²⁴⁾ の範囲であり、ヒトに BAY 94-9027 を投与したときの定常状態における血漿中 PEG-60 濃度 (2nM) と比較して 10 倍以上の開きがあることから、BAY 949027 の臨床使用において、循環血中の PEG がトランスポーターを阻害する可能性は低いと考えられる。

これらの知見及び考察に基づき、BAY 94-9027 から放出された PEG 部は、トランスポーターを介した薬物相互作用の被相互作用薬及び相互作用薬とならないと考えられる。

引用文献一覧

- 1) FDA. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM). Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. 2001. (4.3.8)
- 2) EMA. European Medicines Agency. Guideline on bioanalytical method validation. 2011. (4.3.9)
- 3) Molineux G, *Pharmacotherapy* 2003;23:3S-8S (4.3.10)
- 4) Molineux G, *Cancer Treat Rev* 2002;28 Suppl A:13-16 (4.3.11)
- 5) Veronese FM et al., *Drug Discov Today* 2005;10:1451-1458 (4.3.12)
- 6) Webster R et al., *Drug Metab Dispos* 2007;35:9-16 (4.3.1)
- 7) Baumann A et al., *Drug Discov Today* 2014;19:1623-1631 (4.3.13)
- 8) Bjørnsdottir I et al., *Eur J Pharm Sci* 2016;87:58-68 (4.3.14)
- 9) Longley CB et al., *J Pharm Sci* 2013;102:2362-2370 (4.3.15)
- 10) Yamaoka T et al., *J Pharm Sci* 1994;83:601-606 (4.3.16)
- 11) Diehl KH et al., *J Appl Toxicol* 2001;21:15-23 (4.3.17)
- 12) Elliot VL et al., *Mol Pharm* 2012;9:1291-1301 (4.3.18)
- 13) Bovenschen N et al., *Blood* 2003;101:3933-3939 (4.3.19)
- 14) Stidl R et al., *Haemophilia* 2016;22:54-64 (4.3.20)
- 15) Rasmussen CE et al., *Toxicol Pathol* 2016;44:726-737 (4.3.21)
- 16) Caliceti P et al., *Adv Drug Deliv Rev* 2003;55:1261-1277 (4.3.22)
- 17) Huh Y et al., *Xenobiotica* 2011;41:972-987 (4.3.23)
- 18) Ling J et al., *J Clin Pharmacol* 2009;49:1382-1402 (4.3.24)
- 19) You G et al., *Drug Transporters: Molecular Characterization and Role in Drug Disposition*, John Wiley & Sons, Inc. 2007: 75-104 (4.3.25)
- 20) Sharom FJ, *Multidrug Resistance Protein (P-Glycoprotein; MDR1)*
<<http://tfcbio.com/pdf/p-glycoprotein-multidrug-resistance-protein.pdf>> (Accessed 2017 Sep 08) (4.3.26)
- 21) Ashiru-Oredope DA et al., *Int J Pharm* 2011;409:164-168 (4.3.27)
- 22) Rautio J et al., *Drug Metab Dispos* 2006;34:786-792 (4.3.28)
- 23) Noguchi K et al., *Cancer Sci* 2009;100:1701-1707 (4.3.29)
- 24) Ho RH et al., *Gastroenterology* 2006;130:1793-806 (4.3.47)

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

Test article: BAY 94-9027 (Damoctocog Alfa Pegol)

2.6.5.1-1: Overview on pharmacokinetic studies

Type of study	Species / strain	Route of administration / method	Administered compound / Analyte	Report no.	Location
Analytical methods					
Analytical Methods			BAY 94-9027	PH-38566	4.2.2.1.1
Analytical Methods			BAY 94-9027	PH-38430	4.2.2.1.2
Analytical Methods			BAY 94-9027_ADA	R-9341 ^b	4.2.2.1.3
Analytical Methods			BAY 94-9027_ADA	A47603	4.2.2.1.4
Analytical Methods			BAY 94-9027_ADA	A47898	4.2.2.1.5
Analytical Methods			BAY 94-9027_NAB	R-9360 ^b	4.2.2.1.6
Analytical Methods			BAY 94-9027_NAB	A47606	4.2.2.1.7
Analytical Methods			BAY 94-9027_NAB	A47899	4.2.2.1.8
Analytical Methods			BAY 14-2222	PH-39535	4.2.2.1.9
Analytical Methods			BAY 1025662_ADA	A48103	4.2.3.2.1
Analytical Methods			BAY 1025662_ADA	PH-36207	4.2.3.2.3
Pharmacokinetics					
	Rats / Sprague Dawley	IV / ELISA	BAY 94-9027	A47788	4.2.2.2.1
	Rats / Sprague Dawley	IV / ELISA	BAY 94-9027	PH-39789	4.2.2.2.2
	Rabbits / New Zealand White	IV / ELISA	BAY 94-9027	A47769	4.2.2.2.3
Toxicokinetics					
	Rats / Sprague Dawley	IV / ELISA	BAY 94-9027	A 48103	4.2.3.2.1
	Rats / Sprague Dawley	IV / ELISA	BAY 94-9027	PH-39043	4.2.3.2.2
	Rabbits / New Zealand White	IV / ELISA	BAY 94-9027	PH-36207	4.2.3.2.3

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表（続き）

Test article: BAY 1025662 (PEG-60-Mal-Cys)

2.6.5.1-1: Overview on pharmacokinetic studies (continued)

Type of study	Species / strain	Route of administration / method	Administered compound / Analyte	Report no.	Location
Other PK studies	Studies on BAY 1025662				
Synthesis			[¹⁴ C]BAY 1025662	PH-37945	4.2.2.7.1
Synthesis			[¹⁴ C]BAY 1025662	PH-39307	4.2.2.7.2
Analytical Methods			BAY 1025662	R-8951 ^a	4.2.2.7.3
Analytical Methods			BAY 1025662	R-9389 ^a	4.2.2.7.4
Analytical Methods			BAY 1025662	R-9390 ^a	4.2.2.7.5
Analytical Methods			BAY 1025662	R-9573 ^a	4.2.2.7.6
Analytical Methods			BAY 1025662	R-9570 ^a	4.2.2.7.7
Analytical Methods			BAY 1025662	A49540	4.2.2.7.8
Pharmacokinetics	Rats / Wistar	IV / LC-MS/MS	BAY 1025662	PH-38878	4.2.2.7.9
Pharmacokinetics	Rats / Wistar	IV / LSC	[¹⁴ C]BAY 1025662	PH-37841	4.2.2.7.10
Pharmacokinetics	Rats / Wistar	IV / LSC	[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662	PH-39637	4.2.2.7.11
Distribution	Rats / Wistar	IV / QWBA	[¹⁴ C]BAY 1025662	PH-37841	4.2.2.7.10
Distribution	Rats / Wistar	IV / QWBA	[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662	PH-39641	4.2.2.7.12
Excretion	Rats / Wistar	IV / LC-MS/MS	BAY 1025662	PH-38878	4.2.2.7.9
Excretion	Rats / Wistar	IV / LSC	[¹⁴ C]BAY 1025662	PH-37841	4.2.2.7.10
Excretion	Rats / Wistar	IV / LSC	[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662	PH-39637	4.2.2.7.11
Toxicokinetics	Rats / Sprague Dawley	IV / LC-MS/MS	BAY 1025662	A50211	4.2.3.7.7.3
Toxicokinetics	Rabbits / New Zealand White	IV / LC-MS/MS	BAY 1025662	PH-38066	4.2.3.7.7.4

All studies were performed at the Department of DMPK, Bayer AG, Germany unless otherwise mentioned

a performed at [REDACTED], Austria

b performed at [REDACTED], Switzerland

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

Test article: BAY 94-9027 (Damoctocog Alfa Pegol)

2.6.5.2-1: Pharmacokinetics: Analytical methods / Overview on Methods of Analysis

Analytical Method report (Location report no.)	Method	Method No.	Analyte	Matrix	Species	Applied to Study no.
4.2.2.1.2 PH-38430	ELISA with anti-PEG capture step	MB5042	BAY 94-9027	Plasma	Rabbit	I 5124-2
4.2.2.1.1 PH-38566	ELISA with anti-FVIII capture step	MB5046	BAY 94-9027	Plasma	Rabbit	I 5124-2
4.2.2.1.2 PH-38430	ELISA with anti-PEG capture step	MB5042	BAY 94-9027	Plasma	Rat	I 5126-4
4.2.2.1.1 PH-38566	ELISA with anti-FVIII capture step	MB5046	BAY 94-9027	Plasma	Rat	I 5126-4
4.2.2.1.1 PH-38566	ELISA with anti-FVIII capture step	MB5046	BAY 94-9027	Plasma	Rat	T100466-7
4.2.2.1.3 R-9341	ELISA anti drug antibodies	n.a. ^a	BAY 94-9027_ADA	Serum	Rat	T100466-7
4.2.2.1.6 R-9360	ELISA neutralizing antibodies	n.a. ^a	BAY 94-9027_NAB	Serum	Rat	T100466-7
4.2.2.1.1 PH-38566	ELISA with anti-FVIII capture step	MB5046	BAY 94-9027	Plasma	Rabbit	T2079871
4.2.2.1.5 A47898	ELISA anti drug antibodies	n.a. ^a	BAY 94-9027_ADA	Serum	Rabbit	T2079871
4.2.2.1.8 A47899	ELISA neutralizing antibodies	n.a. ^a	BAY 94-9027_NAB	Serum	Rabbit	T2079871
4.2.3.2.3 PH-36207	ELISA Anti-PEG antibody assay	MB5056	BAY 1025662_ADA	Serum	Rabbit	T2079871
4.2.2.1.1 PH-38566	ELISA with anti-FVIII capture step	MB5046	BAY 94-9027	Plasma	Rat	TOXT7081026
4.2.2.1.4 A47603	ELISA anti drug antibodies	n.a. ^a	BAY 94-9027_ADA	Serum	Rat	TOXT7081026
4.2.2.1.7 A47606	ELISA neutralizing antibodies	n.a. ^a	BAY 94-9027_NAB	Serum	Rat	TOXT7081026
4.2.3.2.1 A48103	ELISA Anti-PEG antibody assay	MB5044	BAY 1025662_ADA	Serum	Rat	TOXT7081026
4.2.2.1.9 PH-39535	ELISA with anti-FVIII capture step	MB5045	BAY 14-2222	Plasma	Rabbit	T2079871
4.2.2.1.5 A47898	ELISA anti drug antibodies	n.a. ^a	BAY 14-2222_ADA	Serum	Rabbit	T2079871
4.2.2.1.8 A47899	ELISA neutralizing antibodies	n.a. ^a	BAY 14-2222_NAB	Serum	Rabbit	T2079871
4.2.2.1.9 PH-39535	ELISA with anti-FVIII capture step	MB5045	BAY 14-2222	Plasma	Rat	TOXT7081026
4.2.2.1.4 A47603	ELISA anti drug antibodies	n.a. ^a	BAY 14-2222_ADA	Serum	Rat	TOXT7081026
4.2.2.1.7 A47606	ELISA neutralizing antibodies	n.a. ^a	BAY 14-2222_NAB	Serum	Rat	TOXT7081026

a = n.a. – not applicable

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

Test article: BAY 94-9027 (Damoctocog Alfa Pegol), BAY 14-2222

2.6.5.2-2: Pharmacokinetics: Analytical methods, and validation

Analytical Method report (Location report no.)	Species	Analyte	Working range [IU/L]	Precision (P) [%]	Accuracy (A) [%]
4.2.2.1.2 PH-38430	Rabbit	BAY 94-9027	68.4 - 2050	6.27 - 20.4	88.0 - 104
4.2.2.1.2 PH-38430	Rat	BAY 94-9027	25.0 - 2500	7.48 - 19.7	101 - 106
4.2.2.1.1 PH-38566	Rat	BAY 94-9027	200 - 2000	6.14 - 8.98	101 - 113
4.2.2.1.1 PH-38566	Rabbit	BAY 94-9027	200 - 2000	5.03 - 15.1	94.7 - 110
4.2.2.1.1 PH-38566	Dog	BAY 94-9027	300 - 3000	6.33 - 17.4	93.2 - 98.7
4.2.2.1.9 PH-39535	Rat	BAY 14-2222	68.4 - 2050	5.11 - 16.1	97.7 - 113
4.2.2.1.9 PH-39535	Rabbit	BAY 14-2222	68.4 - 2050	5.85 - 13.1	86.9 - 108

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

Test article: BAY 94-9027 (Damoctocog Alfa Pegol), BAY 14-2222

2.6.5.2-3: Pharmacokinetics: Analytical methods, and validation

Analytical Method report (Location report no.)	Species	Analyte	Sensitivity [µg/mL]	Precision (P) [%]
4.2.2.1.3 R-9341	Rat	BAY 94-9027_ADA	n.d. ^a	7.9 - 12.4
4.2.2.1.6 R-9360	Rat	BAY 94-9027_NAB	4.12-4.43	5.8-16.0
4.2.2.1.5 A47898	Rabbit	BAY 94-9027_ADA	n.d. ^a	22.4 - 34.9
4.2.2.1.8 A47899	Rabbit	BAY 94-9027_NAB	n.d. ^a	n.d. ^a
4.2.3.2.3 PH-36207	Rabbit	BAY 1025662_ADA	n.d. ^a	9.1 - 11.5
4.2.2.1.4 A47603	Rat	BAY 94-9027_ADA	n.d. ^a	20.6 - 24.3
4.2.2.1.7 A47606	Rat	BAY 94-9027_NAB	n.d. ^a	n.d. ^a
4.2.3.2.1 A48103	Rat	BAY 1025662_ADA	125	10.0 - 16.9
4.2.2.1.5 A47898	Rabbit	BAY 14-2222_ADA	n.d. ^a	9.3 - 11.3
4.2.2.1.8 A47899	Rabbit	BAY 14-2222_NAB	n.d. ^a	n.d. ^a
4.2.2.1.4 A47603	Rat	BAY 14-2222_ADA	n.d. ^a	26.7 - 34.2
4.2.2.1.7 A47606	Rat	BAY 14-2222_NAB	n.d. ^a	n.d. ^a

a = n.d. = not determined

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

Test article: BAY 94-9027 (Damoctocog Alfa Pegol)

2.6.5.2-4: Pharmacokinetics: Lot-numbers used

Type of study/ study duration	Location report no.	Species, Gender , Strain	Test item	Lot no.	GLP
PK single dose	4.2.2.2.1 A47788	Rat, male, Sprague Dawley	BAY 94-9027	949027T070209	No
PK single dose	4.2.2.2.2 PH-39789	Rat, male & female, Sprague Dawley	BAY 94-9027	040001374056	No
PK single dose	4.2.2.2.3 A47769	Rabbit, male, New Zealand White	BAY 94-9027	949027T070209	No

2.6.5.3 薬物動態試験： 単回投与後の吸収

Test article: BAY 94-9027 (Damoctocog Alfa Pegol)

2.6.5.3-1: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, rodent

Location: 4.2.2.2.1
Report no.: A47788

Species / strain:		Rat / Sprague Dawley					
Admin. compound:		BAY 94-9027					
Analyte:		BAY 94-9027					
Formulation:		BDD-rFVIII-PEG with excipient in WFI					
Route:		Intravenous bolus					
Dose:	[IU/kg]	60		250		800	
Duration:	[h]	32		32		32	
Gender / No. of animals:		Male / 20 (4 - 8 per time point)		Male / 25 (4 - 13 per time point)		Male / 30 (4-13 per time point)	
Assay:		FVIII	PEG	FVIII	PEG	FVIII	PEG
Parameter	Unit	Pharmacokinetic parameters were calculated from the geometric means of the concentrations					
AUC	[IU·h/L]	13200 ^b	10900	58200	49100	174000	138000
AUC _{norm}	[kg·h/L]	220 ^b	182	233	196	218	173
AUC(0-12)	[IU·h/L]	8590	7960	35700	30900	114000	90900
AUC(0-12) _{norm}	[kg·h/L]	143	133	143	124	143	114
AUC(t _{last} -∞)	[%]	34.7	3.65	7.33	6.32	6.31	6.24
t _{last}	[h]	12	32	32	32	32	32
C _{max}	[IU/L]	1930	1770	6190	4770	17100	15000
C _{max, norm}	[kg/L]	32.2	29.5	24.8	19.1	21.4	18.8
t _{max}	[h]	0.0878	0.0878	0.0833	0.159	1.00	1.00
t _{1/2}	[h]	8.03 ^b	6.66	8.55	8.06	8.15	8.14
R _{star} ^a	[h]	1	4	1.06	1.06	4	4
R _{end} ^a	[h]	12	32	32	32	32	32
MRT	[h]	11.4 ^b	9.40	12.4	11.8	11.4	11.2
V _{ss}	[L/kg]	0.0519 ^b	0.0518	0.0531	0.0599	0.0524	0.0651
V _z	[L/kg]	0.0528 ^b	0.0529	0.0530	0.0592	0.0539	0.0682
CL	[L/h/kg]	0.00456 ^b	0.00551	0.00430	0.00509	0.00459	0.00581

a = used for regression to determine t_{1/2}

b = only estimate as extrapolated part of AUC distinctly >20%

2.6.5.3 薬物動態試験： 単回投与後の吸収（続き）

Test article: BAY 94-9027 (Damoctocog Alfa Pegol)

2.6.5.3-3: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, non-rodentLocation: 4.2.2.2.3
Report no.: A47769

Species / strain:		Rabbit / New Zealand White					
Admin. compound:		BAY 94-9027					
Analyte:		BAY 94-9027					
Formulation:		BDD-rFVIII-PEG with excipient in WFI					
Route:		Intravenous bolus					
Assay:		FVIII					
Dose:	[IU/kg]	25		100		400	
Duration:	[h]	56		56		56	
Gender / No. of animals:		Male / 8		Male / 8		Male / 8	
Parameter	Unit	geom. Mean	geom. SD	geom. Mean	geom. SD	geom. Mean	geom. SD
AUC	[IU·h/L]	[7950]	1.45	29300 ^b	1.19	122000	1.14
AUC _{norm}	[kg·h/L]	[317]	1.45	293 ^b	1.19	304	1.14
AUC(0-8)	[IU·h/L]	2830	1.14	10400	1.12	47900	1.14
AUC(0-8) _{norm}	[kg·h/L]	113	1.14	104	1.12	120	1.14
%AUC($t_{last-\infty}$)	[%]	55.5	1.31	19.4	1.31	3.40	1.35
t_{last}	[h]	8 (8-24) ^d		28 (24-48) ^d		56 (48-56) ^d	
C _{max}	[IU/L]	494	1.11	2000	1.15	8220	1.13
C _{max, norm}	[kg/L]	19.8	1.11	20.0	1.15	20.5	1.13
t_{max}	[h]	0.0731 (0.067-0.5) ^d		0.067 (0.067-1) ^d		1 (0.167-2) ^d	
$t_{1/2}$ ^a	[h]	12.6	1.48	12.6 ^c	1.21	11.2	1.12
R _{start} ^e	[h]	1 (1-2) ^d		8 (4-8) ^d		8 (8-24) ^d	
R _{end} ^e	[h]	8 (8-24) ^d		28 (24-48) ^d		56 (48-56) ^d	
MRT	[h]	[17.1]	1.47	18.0 ^b	1.16	16.4	1.11
V _{ss}	[L/kg]	[0.0570]	1.13	0.0618 ^b	1.08	0.0535	1.16
CL	[L/h/kg]	[0.00315]	1.44	0.00341 ^b	1.19	0.00329	1.14

a = half-life used for calculation of AUC

b = estimate as extrapolated part of the AUC is >20% (in n = 3 of n = 8 individuals)

c = estimate as interval used for $t_{1/2}$ calculation was < 2 x $t_{1/2}$ (in n = 3 of n = 8 individuals)

d = median (minimum-maximum)

e = used for regression to determine $t_{1/2}$

[] = values not acceptable (extrapolated part of AUC in all animals distinctly >20%)

2.6.5.3 薬物動態試験： 単回投与後の吸収（続き）

Test article: BAY 94-9027 (Damoctocog Alfa Pegol)

2.6.5.3-4: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, non-rodentLocation: 4.2.2.2.3
Report no.: A47769

Species / strain:	Rabbit / New Zealand White							
Admin. compound:	BAY 94-9027							
Analyte:	BAY 94-9027							
Formulation:	BDD-rFVIII-PEG with excipient in WFI							
Route:	Intravenous bolus							
Assay:	PEG							
Dose:	[IU/kg]	25		100		400		
Duration:	[h]	56		56		56		
Gender / No. of animals:		Male / 8		Male / 8		Male / 8		
Parameter	Unit	geom. Mean	geom. SD	geom. Mean	geom. SD	geom. Mean	geom. SD	geom. SD
AUC	[IU·h/L]	[4510]	1.26	20400	1.12	93300	1.14	1.14
AUC _{norm}	[kg·h/L]	[180]	1.26	204	1.12	233	1.14	1.14
AUC(0-8)	[IU·h/L]	2410	1.14	9710	1.11	42800	1.14	1.14
AUC(0-8) _{norm}	[kg·h/L]	96.4	1.14	97.1	1.11	107	1.14	1.14
%AUC($t_{last-\infty}$)	[%]	29.6	1.24	7.65	1.22	1.93	1.42	1.42
t_{last}	[h]	12 (12-24) ^b		32 (32-48) ^b		56 (56-56) ^b		
C _{max}	[IU/L]	479	1.10	2080	1.13	8500	1.09	1.09
C _{max,norm}	[kg/L]	19.2	1.10	20.8	1.13	21.3	1.09	1.09
t_{max}	[h]	0.067 (0.067-0.167) ^b		0.067 (0.067-0.0908) ^b		0.167 (0.167-1) ^b		
$t_{1/2}^a$	[h]	7.43	1.24	9.42	1.16	10.1	1.08	1.08
R _{start} ^c	[h]	2 (2-4) ^b		4 (4-8) ^b		4 (4-12) ^b		
R _{end} ^c	[h]	12 (12-24) ^b		32 (32-48) ^b		56 (48-56) ^b		
MRT	[h]	[10.9]	1.23	12.9	1.09	13.8	1.11	1.11
V _{ss}	[L/kg]	[0.0584]	1.11	0.0638	1.09	0.0594	1.14	1.14
CL	[L/h/kg]	[0.00555]	1.26	0.00490	1.12	0.00429	1.14	1.14

c = used for regression to determine $t_{1/2}$

a = half-life used for calculation of AUC

b = median (minimum-maximum)

[] = values not acceptable (extrapolated part of AUC in all animals distinctly >20%)

2.6.5.4 薬物動態試験： 反復投与後の吸収

反復投与後のトキシコキネティクス試験における薬物動態パラメータは、表 2.6.4.3-8、表 2.6.4.3-10、表 2.6.4.3-12、2.6.6.3 及び 2.6.7.7 を参照のこと。

2.6.5.5 薬物動態試験： 分布

BAY 94-9027 に関して、該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.6 薬物動態試験： たん白結合

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.7 薬物動態試験： 妊娠または授乳動物における試験（胎盤移行性、乳汁中排泄）

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.8 薬物動態試験： その他の分布試験

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.9 薬物動態試験： In Vivo における代謝

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.10 薬物動態試験： In Vitro 代謝

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.11 薬物動態試験： 推定代謝経路

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.12 薬物動態試験： 薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.13 薬物動態試験： 累積排泄

BAY 94-9027 に関して、該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.14 薬物動態試験： 胆汁中排泄

該当する試験は実施しなかった。

2.6.5.15 薬物動態試験： 薬物相互作用

該当する試験は実施しなかった。

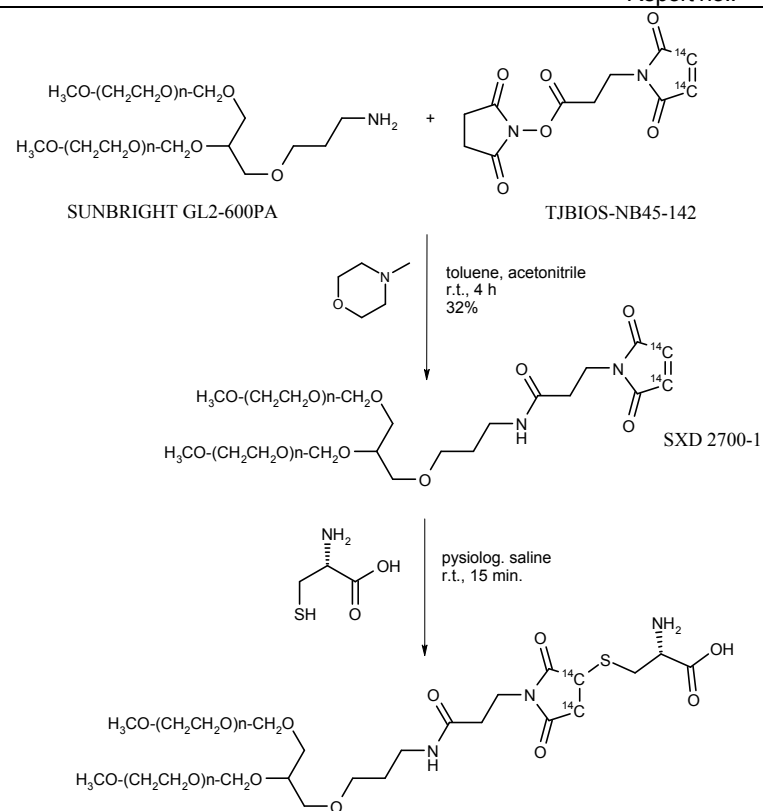
2.6.5.16 薬物動態試験： その他

Test article: $[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 ($[^{14}\text{C}]$ PEG-60-Mal-Cys)

2.6.5.16-1: Pharmacokinetics: Isotope Labeling Synthesis of BAY 1025662

Location: 4.2.2.7.1
Report no.: PH-37945

Chemical structure / labeling position, see reaction scheme:

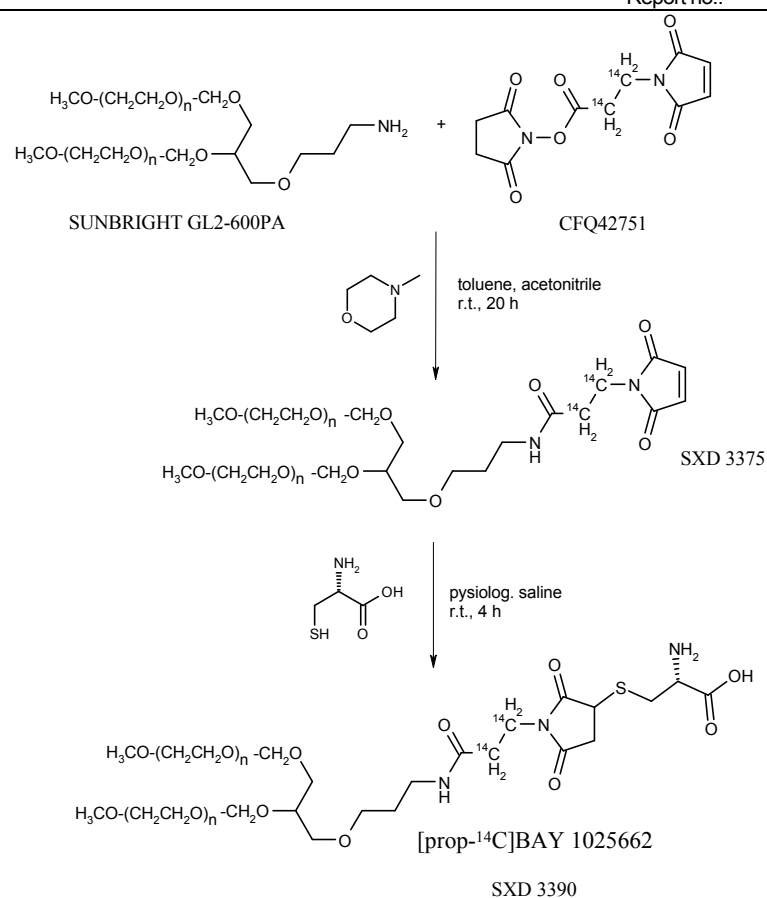


2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)
2.6.5.16-2: Pharmacokinetics: Isotope Labeling Synthesis of BAY 1025662

Location: 4.2.2.7.2
Report no.: PH-39307

Chemical structure / labeling position, see reaction scheme:



2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: BAY 1025662 (PEG-60-Mal-Cys)

2.6.5.16-3: Pharmacokinetics: Analytical methods / Overview on Methods of Analysis

Analytical Method report (Location report no.)	Method	Method No.	Analyte	Matrix	Species	Applied to Study no.
4.2.2.7.4 R-9389	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Plasma	Rat	I 5751-8
4.2.2.7.5 R-9390	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Urine	Rat	I 5751-8
4.2.2.7.6 R-9573	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Plasma	Rat	I 5751-8
4.2.2.7.7 R-9570	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Urine	Rat	I 5751-8
4.2.2.7.4 R-9389	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Plasma	Rat	T100467-8
4.2.2.7.6 R-9573	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Plasma	Rat	T100467-8
4.2.2.7.3 R-8951	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Plasma	Rabbit	T100526-4
4.2.2.7.3 R-8951	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Plasma	Rabbit	T100942-6
4.2.2.7.4 R-9389	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Plasma	Rat	TOXT2081111
4.2.2.7.4 R-9389	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Plasma	Rat	TOXT4081032
4.2.2.7.6 R-9573	LC-MS/MS	n.a. ^a	BAY 1025662	Plasma	Rat	TOXT4081032

a = n.a. – not applicable

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: BAY 1025662 (PEG-60-Mal-Cys)

2.6.5-16-4: Pharmacokinetics: Analytical methods, and validation

Analytical Method report (Location report no.)	Species	Analyte	Working range [µg/mL]	Precision (P) [%]	Accuracy (A) [%]
4.2.2.7.3 R-8951	Rabbit	BAY 1025662	1.00 - 200	2.96 - 5.34	95.6 - 108.9
4.2.2.7.4 R-9389	Rat	BAY 1025662	0.100 - 10.0	7.85 - 18.23	91.1 - 115.7
4.2.2.7.7 R-9570	Rat	BAY 1025662	0.100 - 10.0	3.99 - 9.26	97.5 - 106.7
4.2.2.7.5 R-9390	Rat	BAY 1025662	0.0800 - 16.0	2.06 - 11.37	93.8 - 109.5
4.2.2.7.6 R-9573	Rat	BAY 1025662	1.00 - 200	1.51 - 2.77	97.8 - 104.5

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: BAY 1025662 (PEG-60-Mal-Cys), [¹⁴C]BAY 1025662 ([¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys), [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)

2.6.5.16-5: Pharmacokinetics: Lot-numbers used

Type of study/ study duration	Location report no.	Species, Gender , Strain	Test item	Lot no.	GLP
PK single dose, Excretion	4.2.2.7.9 PH-38878	Rat, male, Wistar	BAY 1025662	PCGSNov2014	No
Distribution, Excretion	4.2.2.7.10 PH-37841	Rat, male, Wistar	[¹⁴ C]BAY 1025662	SXD 2701-1-01	No
Excretion	4.2.2.7.11 PH-39637	Rat, male, Wistar	[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662	SXD 3390-1-01 0.059 MBq/mg	No
Distribution	4.2.2.7.12 PH-39641	Rat, male, Wistar	[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662	SXD 3390-1-01 0.069 MBq/mg	No

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [¹⁴C]BAY 1025662 ([¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5.16-6: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, rodent**Location: 4.2.2.7.10
Report no.: PH-37841

Species / strain:		Rat / Wistar					
Admin. compound:		[¹⁴ C]BAY 1025662					
Analyte:		Total radioactivity					
Formulation:		100% Sterile physiological saline					
Route:		Intravenous bolus					
Dose:	[mg/kg]	11 ^a					
Duration:		168 d (4032 h)					
Gender / No. of animals:		Male / 21 (3 per time point)					
Assay:		LSC					
Matrix		Blood	Plasma	Liver	Kidneys	Skin	Carcass
AUC	[mg·eq·h/L]	3060	4560	8730	21400	3930	2020
AUC _{norm}	[kg·h/L]	278	415	794	1940	357	183
AUC(0-t _{last})	[mg·eq·h/L]	2960	4520	8400	16500	3830	1890
AUC(0-t _{last}) _{norm}	[kg·h/L]	269	411	763	1500	348	172
t _{last}	[h]	3020	4030	4030	4030	4030	4030
%AUC(0-t1)	[%]	14.4	16.2	7.23	5.79	7.34	6.32
%AUC(t _{last} -inf)	[%]	3.20	0.880	3.81	22.7	2.47	6.22
Ce _{qmax}	[mg·eq/L]	5.25	8.79	7.51	14.7	3.43	1.52
Ce _{qmax, norm}	[kg/L]	0.478	0.799	0.683	1.34	0.312	0.138
t _{max}	[h]	168	168	168	168	168	168
t _{1/2}	[h]	634	557	840	2210	738	986
t _{1/2}	[d]	26.4	32.2	35.0	92.1	30.1	41.1
RPoints ^b		4.00	3.00	6.00	3.00	6.00	6.00
RRange ^b		672-3020	2020-4030	336-4030	2020-4030	336-4030	336-4030
MRT	[h]	855	849	1230	2670	1170	1480

a = dose related to [¹⁴C]BAY 1025662b = used for regression to determine t_{1/2}

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: BAY 1025662 (PEG-60-Mal-Cys)

2.6.5.16-7: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, rodentLocation: 4.2.2.7.9
Report no.: PH-38878

Species / strain:		Rat / Wistar
Admin. compound:		BAY 1025662
Analyte:		BAY 1025662
Formulation:		100% Physiological saline
Route:		Intravenous bolus
Dose:	[mg/kg]	11 ^a
Duration:		14 d (336 h)
Gender / No. of animals:		Male / 12 (3 – 4 per time point)
Assay:		LC-MS/MS
Matrix		Plasma
AUC	[mg·h/L]	25600
AUC _{norm}	[kg·h/L]	2320
AUC(0-t _{last})	[mg·h/L]	22100
AUC(0-t _{last}) _{norm}	[kg·h/L]	2010
t _{last}	[h]	336
%AUC(0-t ₁)	[%]	0.1
%AUC(t _{last} -inf)	[%]	13.4
C _{max}	[mg/L]	402
C _{max, norm}	[kg/L]	36.6
t _{max}	[h]	0.0833
t _{1/2}	[h]	119
t _{1/2}	[d]	4.9
RPoints ^b		5
RRange ^b		144-336
MRT	[h]	159

a = dose related to BAY 1025662

b = used for regression to determine t_{1/2}

2. 6. 5. 16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5-16-8: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, rodent**Location: 4.2.2.7.11
Report no.: PH-39637

Species / strain:		Rat / Wistar						
Admin. compound:		[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662						
Analyte:		Total radioactivity						
Formulation:		100% Sterile physiological saline						
Route:		Intravenous bolus						
Dose:	[mg/kg]	11 ^a						
Duration:		168 d (4032 h)						
Gender / No. of animals:		Male / 21 (3 per time point)						
Assay:		LSC						
Matrix		Blood	Plasma	Liver	Kidneys	Testes	Skin	Carcass
AUC	mg-eq·h/L	6860	11700	22800	36500	18500	5940	6110
AUC(0-t _{last})	mg-eq·h/L	6810	11600	22100	29700	16300	5740	5790
t _{last}	h	4032	4032	4032	4032	4032	4032	4032
%AUC(0-t ₁)	%	18.7	18.9	8.1	3.8	3.7	9.3	6.7
%AUC(t _{last} -inf)	%	0.6	0.8	3.2	18.7	12.0	3.4	5.3
C _{eq} max	mg-eq/L	15.2	26.3	21.9	16.6	8.18	6.61	4.90
t _{max}	h	168	168	168	168	168	168	168
t _{1/2}	h	566	569	798	1640	1300	749	934
t _{1/2}	d	23.6	23.7	33.3	68.3	54.2	31.2	38.9
RPoints ^b		6	3	6	6	6	4	6
RRange ^b		336-4032	2016-4032	336-4032	336-4032	336-4032	1344-4032	336-4032
MRT	h	774	780	1160	2440	2020	1340	1430

a = dose related to [pro-¹⁴C]BAY 1025662b = used for regression to determine t_{1/2}

2. 6. 5. 16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: ^{14}C BAY 1025662 (^{14}C PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5.16-9: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose**Location: 4.2.2.7.10
Report no.: PH-37841

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous bolus	Assay:	QWBA
Admin. compound:	^{14}C BAY 1025662	Gender / no.:	Male / 3	Sampling time:	168 d (4032 h)
Analyte:	Radioactivity	Feeding conditions:	Fasted		
Dose [mg/kg]:	11 ^a	Formulation:	100% Sterile physiological saline		
	100	Animal No. 101	102	Mean geo.	S.D. geo.
Organ / tissue	Equivalent concentration [mg-eq/L]				
Adipose tissue, brown	0.769	1.54	0.669	0.925	1.56
Adipose tissue, white	<0.133	<0.131	<0.127	n.c. ^b	n.c. ^b
Adrenal, cortex (average)	4.77	4.44	3.74	4.29	1.13
Adrenal, medulla	2.83	~8.91	~2.56	4.01	2.00
Adrenal, zona fasciculata	1.34	1.35	1.74	1.46	1.16
Adrenal, zona glomerulosa	5.03	5.99	5.20	5.39	1.10
Adrenal, zona reticularis	8.09	5.67	3.84	5.61	1.45
Adrenal glands (average)	4.42	4.53	3.55	4.14	1.14
Aorta wall	0.243	0.386	0.337	0.316	1.27
Blood (heart)	<0.133	<0.131	<0.127	n.c. ^b	n.c. ^b
Bone (compact)	<0.133	<0.131	<0.126	n.c. ^b	n.c. ^b
Bone marrow	<0.133	0.258	0.171	0.143	2.01
Brain	<0.133	<0.182	<0.159	n.c. ^b	n.c. ^b
Cardiac muscle	0.177	0.293	<0.127	0.149	2.18
Choroid plexus	5.22	5.87	6.18	5.74	1.09
Epididymides	1.86	1.66	2.05	1.85	1.11
Eye wall	0.244	1.17	0.157	0.355	2.87
Harderian gland	1.85	3.19	2.00	2.28	1.34
Hypophysis	5.40	3.71	6.20	4.99	1.30
Kidney, cortex	1.14	1.54	1.47	1.37	1.18
Kidney, inner medulla	0.944	1.41	0.638	0.948	1.49

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: $[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662 ($[^{14}\text{C}]$ PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5.16-9: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose (continued)**Location: 4.2.2.7.10
Report no.: PH-37841

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous bolus	Assay:	QWBA
Admin. compound:	$[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662	Gender / no.:	Male / 3	Sampling time:	168 d (4032 h)
Analyte:	Radioactivity	Feeding conditions:	Fasted		
Dose [mg/kg]:	11 ^a	Formulation:	100% Sterile physiological saline		

Organ / tissue	Animal No.			Mean geo.	S.D. geo.
	100	101	102		
	Equivalent concentration [mg-eq/L]				
Kidney, outer medulla	0.983	1.02	1.01	1.00	1.02
Kidney, papilla	0.911	1.12	0.446	0.768	1.62
Kidneys (average)	1.05	1.44	1.00	1.15	1.22
Liver	0.210	0.409	0.305	0.297	1.40
Lung	<0.134	0.210	<0.127	n.c. ^b	n.c. ^b
Lymph nodes, cervical	0.880	~0.348	0.508	0.538	1.59
Lymph nodes, ventral	0.721	0.179	~0.155	0.272	2.34
Pancreas	1.65	3.12	1.31	1.89	1.56
Pineal body	~4.19	~4.74	~5.19	4.69	1.11
Prostate	0.479	0.437	0.207	0.351	1.58
Seminal vesicles	<0.158	0.166	<0.159	n.c. ^b	n.c. ^b
Skeletal muscle, dorsal	<0.133	<0.131	<0.126	n.c. ^b	n.c. ^b
Skin, dorsal	<0.133	<0.131	<0.126	n.c. ^b	n.c. ^b
Spleen	1.95	2.98	1.64	2.12	1.36
Submandibular gland	1.59	5.24	1.13	2.11	2.24
Testes	0.433	1.70	0.639	0.779	2.02
Thymus	0.614	1.39	0.238	0.587	2.42
Thyroid	0.633	2.87	0.748	1.11	2.29

~ = Analysed area was below area limit (1 mm²) which can reduce the accuracy

< = Value below LLQ

a = dose related to $[^{14}\text{C}]$ BAY 1025662

b = n.c. = not calculated

2. 6. 5. 16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5.16-10: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose**Location: 4.2.2.7.12
Report no.: PH-39641

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous bolus	Assay:	QWBA	
Admin. compound:	[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662	Gender / no.:	Male / 6			
Analyte:	Radioactivity	Feeding conditions:	Fasted			
Dose:	11 ^a	Formulation:	100% Sterile physiological saline			
Equivalent concentration [mg-eq/L]						
Organs / tissues	2 h	24 h	168 h	672 h	2016 h	4032 h
Adipose tissue, brown	9.26	10.1	9.11	6.99	2.95	1.44
Adipose tissue, white	3.18	5.00	7.52	1.22	0.768	0.220
Adrenal cortex	53.1	25.8	14.5	6.65	3.71	2.58
Adrenal medulla	~50.5	~31.6	~23.3	~21.3	~13.8	~5.16
Adrenals (average)	50.5	25.7	15.5	8.95	8.11	2.90
Aorta wall	~26.8	~40.1	~2.83	~4.25	~1.41	0.379
Blood (heart)	135	80.6	16.8	2.94	0.827	<0.119
Bone	2.10	1.34	1.02	1.15	0.285	0.129
Bone marrow	11.4	28.3	18.8	6.95	3.94	0.399
Brain	1.87	1.33	0.435	<0.133	<0.125	<0.134
Cardiac muscle	24.7	26.3	10.2	5.00	1.92	0.277
Choroid Plexus	~8.83	~16.1	~15.2	27.2	20.3	11.9
Epididymides	7.79	9.40	4.18	1.82	0.799	0.652
Eye wall	8.09	6.94	10.8	~8.83	~2.70	~0.314
Harderian gland	4.25	7.67	8.77	6.00	8.34	6.95
Hypophysis	22.2	22.6	17.8	15.2	5.86	2.89

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5.16-10: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose (continued)**Location: 4.2.2.7.12
Report no.: PH-39641

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous bolus	Assay:	QWBA	
Admin. compound:	[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662	Gender / no.:	Male / 6			
Analyte:	Radioactivity	Feeding conditions:	Fasted			
Dose:	11 ^a	Formulation:	100% Sterile physiological saline			
Equivalent concentration [mg-eq/L]						
Organs / tissues	2 h	24 h	168 h	672 h	2016 h	4032 h
Kidney cortex	39.9	34.3	18.2	11.8	5.00	2.51
Kidney, inner medulla	57.8	50.0	12.3	9.59	3.23	1.44
Kidney, outer medulla	37.6	33.8	12.6	9.30	4.03	1.90
Kidney, papilla	73.9	45.4	13.8	9.18	2.86	1.01
Kidneys (average)	48.0	39.5	14.4	10.1	4.28	1.84
Liver	75.5	48.1	22.2	9.78	3.27	0.483
Lungs	90.6	61.6	15.6	4.58	1.60	0.30
Pancreas	9.31	15.9	18.7	14.5	9.82	1.36
Pineal body	~29.4	19.9	20.0	18.3	13.1	~5.54
Prostate	5.37	8.89	8.11	3.20	1.29	0.299
Seminal vesicles	2.62	3.67	0.855	0.175	0.203	<0.134
Skeletal muscles (dorsal)	1.55	1.40	1.32	0.402	0.148	<0.119
Skin (dorsal)	1.81	4.80	4.33	2.62	0.924	0.130
Spleen	13.0	26.0	57.0	36.7	21.4	4.66
Submandibular gland	15.9	22.9	24.2	23.1	15.1	1.85
Testes	6.66	9.57	8.18	7.47	6.53	2.08
Thymus	2.99	6.10	8.85	6.94	6.32	1.68
Thyroid	26.3	~24.4	24.5	18.5	8.62	1.65

~ = Analysed area was below area limit (1 mm²) which can reduce the accuracy, < = Value below LLQa = dose related to [¹⁴C]BAY 1025662

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5.16-11: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose**Location: 4.2.2.7.12
Report no.: PH-39641

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous bolus	Assay:	QWBA			
Admin. compound:	[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662	Gender / no.:	Male / 6					
Analyte:	Radioactivity	Feeding conditions:	Fasted					
Dose:	11 ^a	Formulation:	100% Sterile physiological saline					
	AUC	AUC(0-t _{last})	t _{last}	Ce _q max	Ce _q max ratio	t _{max}	t _{1/2}	regression range
Organs / tissues	[mg-eq·h/L]	[mg-eq·h/L]	[h]	[mg-eq/L]	organ/blood	[h]	[h]	[h]
Adipose tissue, brown	18900	16200	4032	10.1	0.0748	24	1440	168-4032
Adipose tissue, white	5390	4940	4032	7.52	0.0557	168	1340	672-4030
Adrenal Cortex	27300	21800	4032	53.1	0.393	2	1740	168-4032
Adrenal medulla	70900	57000	4032	50.5	0.374	2	1750	168-4032
Adrenals	39300	31400	4032	50.5	0.374	2	1780	168-4032
Aorta wall	10100	9610	4032	40.1	0.297	24	971	672-4032
Blood heart	15000	14500	2016	135	1.00	2	466	168-2016
Bone	2190	1990	4032	2.10	0.0156	2	1170	168-4032
Bone marrow	20500	20100	4032	28.3	0.210	24	745	168-4032
Brain	203	152	168	1.87	0.0139	2	82.2	2.00-168
Cardiac muscle	13100	12700	4032	26.3	0.195	24	768	168-4032
Choroid Plexus	126000	76700	4032	27.2	0.201	672	2810	672-4032
Epididymides	7700	5680	4032	9.40	0.0696	24	2400	672-4032
Eyewall	15900	15600	4032	10.8	0.0800	168	741	168-4032
Harderian gland	106000 ^b	30000	4032	8.77	0.0650	168	7630 ^b	2016-4032
Hypophysis	38800	33400	4032	22.6	0.167	24	1420	168-4032
Kidney cortex	34400	29900	4032	39.9	0.296	2	1380	168-4032
Kidney, inner medulla	25200	22900	4032	57.8	0.428	2	1220	168-4032
Kidney, outer medulla	27200	23600	4032	37.6	0.279	2	1410	168-4032
Kidney, papilla	23100	21800	4032	73.9	0.547	2	1020	168-4032
Kidneys	28900	25600	4032	48.0	0.356	2	1310	168-4032

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5.16-11: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose (continued)**Location: 4.2.2.7.12
Report no.: PH-39641

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous bolus	Assay:	QWBA			
Admin. compound:	[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662	Gender / no.:	Male / 6					
Analyte:	Radioactivity	Feeding conditions:	Fasted					
Dose:	11 ^a	Formulation:	100% Sterile physiological saline					
	AUC	AUC(0-t _{last})	t _{last}	C _{eq} _{max}	C _{eq} _{max} ratio	t _{max}	t _{1/2}	regression range
Organs / tissues	[mg-eq·h/L]	[mg-eq·h/L]	[h]	[mg-eq/L]	organ/blood	[h]	[h]	[h]
Liver	25300	24800	4032	75.5	0.559	2	725	168-4032
Lung	16800	16500	4032	90.6	0.671	2	853	672-4032
Pancreas	38000	35900	4032	18.7	0.139	168	954	672-4032
Pineal body	69300	51700	4032	29.4	0.218	2	2070	168-4032
Prostate	8590	8240	4032	8.89	0.0659	24	862	168-4032
Seminal vesicles	1100	820	2016	3.67	0.0272	24	1160	168-2016
Skeletal muscle	1080	961	2016	1.55	0.0115	2	634	168-2016
Skin, dorsal	5600	5450	4032	4.80	0.0356	24	773	168-4032
Spleen	98000	90000	4032	57.0	0.422	168	1110	168-4032
Submandibular gland	56600	53800	4032	24.2	0.179	168	896	672-4032
Testes	29400	22600	4032	9.57	0.0709	24	1980	168-4032
Thymus	25800	21100	4032	8.85	0.0656	168	1680	168-4032
Thyroid	43300	40800	4032	26.3	0.195	2	992	168-4032

a = dose related to [¹⁴C]BAY 1025662b = values are rough estimates as insufficient number of points were used for calculation of t_{1/2}

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [¹⁴C]BAY 1025662 ([¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5.16-12: Pharmacokinetics: Excretion, rodent**Location: 4.2.2.7.10
Report no.: PH-37841

Species / strain / Gender:	Rat / Wistar / male
Admin. compound:	[¹⁴ C]BAY 1025662
Analyte:	Total radioactivity
Formulation:	100% Sterile physiological saline
Route:	Intravenous bolus
Dose: [mg/kg]	11 ^a
Duration:	168 h
Assay:	LSC

Matrix	Interval	% of administered dose			Mean arith.	C.V. [%]
		Animal 001	Animal 002	Animal 003		
Excreta						
Urine	0-168 h	60.2	57.1	60.8	59.4	3.34
Feces	0-168 h	17.0	15.2	15.6	15.9	5.73
Cage wash	0-168 h	0.314	0.265	0.302	0.294	8.58
Organs/tissues						
Blood ^b	168 h	1.69	2.05	1.56	1.76	14.4
Carcass	168 h	8.85	8.90	8.61	8.79	1.79
Liver	168 h	3.02	2.73	2.75	2.83	5.68
Kidneys	168 h	1.09	1.01	0.908	1.00	9.08
Skin, back, shorn	168 h	6.37	7.17	10.3	7.93	25.9
Tail, whole	168 h	0.194	0.212	0.233	0.213	9.18
Body excl. GIT ^c 168 h		21.2	22.1	24.3	22.5	7.11
GIT ^c	168 h	0.890	0.797	0.824	0.837	5.73
Recovery^d		99.6	95.5	102	99.0	3.27

a dose related to [¹⁴C]BAY 1025662

b blood at sacrifice

c GIT – gastrointestinal tract

d Sum of Urine, Feces, Cage wash, Body excl. GIT and GIT

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: BAY 1025662 (PEG-60-Mal-Cys)

2.6.5.16-13: Pharmacokinetics: Excretion, rodentLocation: 4.2.2.7.9
Report no.: PH-38878

Species / strain / Gender:	Rat / Wistar / male			
Admin. compound:	BAY 1025662			
Analyte:	BAY 1025662			
Formulation:	100% Physiological saline			
Route:	Intravenous bolus			
Dose: [mg/kg]	11 ^a			
Duration:	336 h			
Assay:	LC-MS/MS			
				% of administered dose
Matrix	Interval	Mean arith.	C.V. [%]	Ae, u cum
Urine	0-24 h	5.22	14.0	5.22
	24-48 h	2.78	18.3	8.00
	48-72 h	1.91	24.6	9.91
	72-96 h	1.27	4.17	11.2
	96-120 h	1.17	11.8	12.4
	120-144 h	0.79	3.66	13.1
	144-168 h	0.61	11.9	13.8
	168-192 h	0.689	30.2	14.4
	192-216 h	0.657	16.9	15.1
	216-240 h	0.608	30.9	15.7
	240-264 h	0.485	23.6	16.2
	264-288 h	0.495	18.1	16.7
	288-312 h	0.381	23.6	17.1
	312-336 h	0.375	11.8	17.4

a dose related to BAY 1025662

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5.16-14: Pharmacokinetics: Excretion, rodent**Location: 4.2.2.7.11
Report no.: PH-39637

Species / strain / Gender:	Rat / Wistar / male					
Admin. compound:	[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662					
Analyte:	Total radioactivity					
Formulation:	100% Sterile physiological saline					
Route:	Intravenous bolus					
Dose:	[mg/kg]	11 ^a				
Duration:		168 h				
Assay:		LSC				
		% of administered dose				
Matrix	Interval	Animal 001	Animal 002	Animal 003	Mean arith.	C.V. [%]
Excreta						
Urine	0-168 h	24.7	23.6	22.8	23.7	3.92
Feces	0-168 h	5.04	6.43	7.34	6.27	18.5
Cage wash	168 h	0.539	0.358	0.398	0.432	22.0
Organs/tissues						
Blood ^b	168 h	7.70	6.18	6.01	6.63	14.0
Carcass	168 h	29.1	28.8	29.4	29.1	1.02
Liver	168 h	8.76	7.96	8.38	8.37	4.79
Kidneys	168 h	1.17	1.15	1.24	1.19	3.76
Testes	168 h	0.968	0.969	0.895	0.944	4.53
Skin, back, shorn	168 h	13.0	14.3	15.2	14.1	7.88
Tail, whole	168 h	0.656	0.571	0.580	0.603	7.71
Body excl. GIT ^c 168 h		61.3	59.9	61.7	61.0	1.53
GIT ^c	168 h	2.76	2.97	2.48	2.74	8.91
Recovery^d		94.3	93.3	94.7	94.1	0.779

a dose related to [prop-¹⁴C]BAY 1025662

b blood at sacrifice

c GIT – gastrointestinal tract

d Sum of Urine, Feces, Cage wash, Body excl. GIT and GIT

2.6.5 薬物動態試験概要表

Bayer Yakuhin, Ltd.

Page 32 of 33

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)

2.6.5.16-15: Pharmacokinetics: Excretion, rodent

Location: 4.2.2.7.11
Report no.: PH-39637

Species / strain / Gender:		Rat / Wistar / male				
Admin. compound:		[prop- ¹⁴ C]BAY 1025662				
Analyte:		Total radioactivity				
Formulation:		100% Sterile physiological saline				
Route:		Intravenous bolus				
Dose:		[mg/kg]	11 ^a			
Duration:		168 d (Urine: 231 d)				
Assay:		LSC				
Matrix	Time [h/d]	% of administered dose				Sum
		Urine	Feces	Cage Wash		
	24 / 1	11.6	1.22	n.p.	12.8	
	48 / 2	16.0	2.32	n.p.	18.3	
	72 / 3	18.5	3.42	n.p.	21.9	
	96 / 4	20.4	4.19	n.p.	24.6	
	120 / 5	21.7	5.12	n.p.	26.8	
	144 / 6	22.8	5.78	n.p.	28.6	
	168 / 7	23.7	6.28	0.432	30.4	
	312 / 13	27.6 ^a	8.62 ^a	0.432	36.7	
	336 / 14	28.1	8.90	0.432	37.4	
	648 / 27	33.5 ^b	11.5 ^b	0.432	45.4	
	672 / 28	33.9	11.6	0.432	45.9	
	1320 / 55	42.9 ^c	13.4 ^c	0.432	56.7	
	1344 / 56	43.2	13.4 ^c	0.432	57.0	
	1992 / 83	50.4 ^d	13.7 ^c	0.432	64.5	
	2016 / 84	50.6	13.7 ^c	0.432	64.7	
	3000 / 125	59.3 ^e	13.8 ^c	0.432	73.4	
	3024 / 126	59.4	13.8 ^c	0.432	73.6	
	4008 / 167	64.9 ^f	13.8 ^c	0.432	79.1	
	4032 / 168	64.9	13.8 ^c	0.432	79.1	
	5520 / 230	68.4 ^h	13.8 ^c	0.432	82.6	
	5544 / 231	68.4	13.8 ^c	0.432	82.6	

2.6.5.16 薬物動態試験： その他（続き）

Test article: [prop-¹⁴C]BAY 1025662 ([prop-¹⁴C]PEG-60-Mal-Cys)**2.6.5.16-15: Pharmacokinetics: Excretion, rodent (continued)**

Location:	4.2.2.7.11
Report no.:	PH-39637

a = excreted amount of radioactivity in the interval from 168-312 h was interpolated

b = excreted amount of radioactivity in the interval from 336-648 h was interpolated

c = excreted amount of radioactivity in the interval from 672-1320 h was interpolated

d = excreted amount of radioactivity in the interval from 1344-1992 h was interpolated

e = excreted amount of radioactivity in the interval from 2016-3000 h was interpolated

f = excreted amount of radioactivity in the interval from 1344-1992 h was interpolated

g = excreted amount of radioactivity in the interval 672-4032 h was extrapolated via the half-life of the last 3 measured values.

h = excreted amount of radioactivity in the interval from 4032-5520 h was interpolated