目次

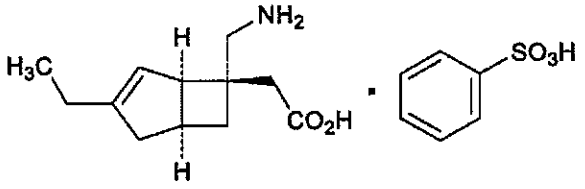
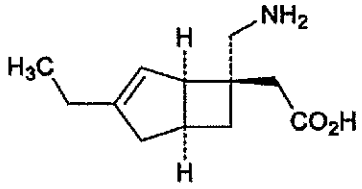
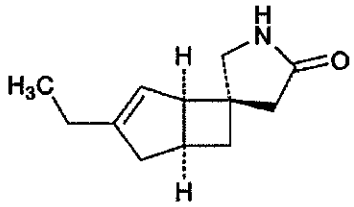
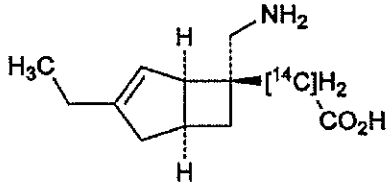
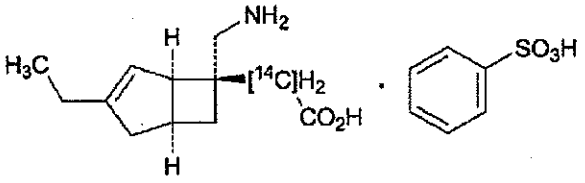
1. まとめ 5
2. 分析法 7
2.1 ミロガバリン及び A204-4455 の非標識体の分析 7
2.2 標識体の分析 8
3. 吸収 10
3.1 単回投与試験 10
3.1.1 ラットでのミロガバリンの薬物動態 10
3.1.2 サルでのミロガバリンの薬物動態 10
3.2 反復投与試験 11
3.2.1 ラット 11
3.2.1.1 ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットに反復経口投与後のミロガバリンの薬物動態 11
3.2.1.2 ラットに反復経口投与後のミロガバリン及び A204-4455 のトキシコキネティクス 12
3.2.1.3 妊娠ラットに反復経口投与後のミロガバリンのトキシコキネティクス 13
3.2.2 サル 13
3.2.2.1 サルに反復経口投与後のミロガバリン及び A204-4455 のトキシコキネティクス 13
3.2.3 ウサギ 14
3.2.3.1 妊娠ウサギに反復経口投与後のミロガバリンのトキシコキネティクス 14
4. 分布 15
4.1 白色ラット及び有色ラットの定量的全身オートラジオルミノグラフィー 15
4.2 In vitro 血漿タンパク結合 17
4.3 In vitro 血球分布 18
4.4 妊娠ラットにおける胎盤通過性 18
5. 代謝（種間比較） 19
5.1 In vivo 代謝プロファイル 19
5.1.1 マウス、ラット、サルでの代謝物の構造解析 19
5.1.1.1 血漿 19
5.1.1.2 尿 19
5.1.1.3 糞 19
5.1.1.4 胆汁 19
5.1.2 ラット及びサルでの代謝物の定量的な分析 20
5.2 推定代謝経路 21

6. 排泄 22
6.1 尿中及び糞中排泄 22
6.2 胆汁中排泄 22
6.3 乳汁中排泄 22
7. 薬物動態学的薬物相互作用 24
8. その他の薬物動態試験 25
9. 考察及び結論 26

略語一覧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the plasma concentration-time curve up to 24 hours	投与後24時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCinf	area under the concentration-time curve extrapolated to infinity	無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
CL	total body clearance	全身クリアランス
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
eq.	equivalent	同等
h	hours	時間
IS	internal standard	内部標準物質
LC-MS	liquid chromatography-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー－質量分析法
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー－タンデム質量分析法
MATE	multidrug and toxin extrusion	H+／有機カチオンアンチポーター
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
QWBA	quantitative whole-body autoradioluminography	定量的全身オートラジオルミノグラフィー法
radio-HPLC	high performance liquid chromatography with radio-detector	放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー
$T_{1/2}$	terminal elimination half-life	終末相の消失半減期
Tmax	time to reach the maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
Vss	volume of distribution at steady state	定常状態下の分布容積

化合物一覧

名称	定義	構造式
ミロガバリンベシル酸塩 (DS-5565)	原薬	
ミロガバリン (A200-0700)	原薬のフリー体、原薬の活性本体	
A204-4455 ([redacted])	ミロガバリンのラクタム体代謝物、[redacted]	
[^{14}C] 標識ミロガバリン (A207-6077、[^{14}C] 標識 DS-5565 [フリー体]、又は [^{14}C] 標識 A200-0700)	ミロガバリンの [^{14}C] 標識体	
[^{14}C] 標識ミロガバリンベシル酸塩	ミロガバリンの [^{14}C] 標識体のベシル酸塩	

1. まとめ

ミロガバリンベシル酸塩の in vivo 非臨床薬物動態試験には、in vivo 非臨床薬理試験及び毒性試験に用いたのと同じ動物種（主にラット及びカニクイザル）を用いた。In vivo 非臨床薬物動態試験は、ミロガバリンベシル酸塩の非標識体、ミロガバリンの標識体（[^{14}C] 標識ミロガバリン）、又はそのベシル酸塩の経口又は静脈内投与によって評価した。投与量はフリー体であるミロガバリン相当量で示している。

In vivo 薬物動態試験に用いた投与剤形は溶液であった。経口投与の媒体として、代謝物定量のための試験（5.1.2 項）では 0.5%（w/v）メチルセルロース溶液を、その他の薬物動態試験では水又は生理食塩水を使用した。静脈内投与の媒体としては、生理食塩水を使用した。

In vitro 非臨床薬物動態試験は、動物及びヒト血漿／血液で、[^{14}C] 標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩を用いて実施した。

ラット及びカニクイザルにミロガバリンベシル酸塩（1、3、又は 10 mg/kg）を単回経口投与したとき、ミロガバリンの血漿中濃度は速やかに上昇して Cmax に到達し、$T_{1/2}$ はラットで 3.77～5.43 時間、カニクイザルで 4.04～4.89 時間であった。ラット及びカニクイザルでは、ミロガバリンの Cmax 及び AUCinf は、概ね投与量に比例した。3 mg/kg を単回経口投与したときの生物学的利用率は、ラットで 97.6%、カニクイザルで 85.2%であった。3 mg/kg を単回静脈内投与した後、ミロガバリンの血漿中濃度は速やかに低下し、$T_{1/2}$ はラットで 4.50 時間、カニクイザルで 2.76 時間であった。ミロガバリンの CL は、ラットで 13.5 mL/min/kg、カニクイザルで 9.02 mL/min/kg であった。Vss は、ラットで 1.73 L/kg、カニクイザルで 1.04 L/kg であった。

ミロガバリンベシル酸塩をラットに 26 週間（10、30、又は 100 mg/kg／日）、カニクイザルに 39 週間（10、30、又は 100 mg/kg／日）反復経口投与したとき、ミロガバリン及びヒト主要代謝物である A204-4455 の Cmax は投与量比を下回る上昇を示したが、ミロガバリン及び A204-4455 の $AUC_{0\text{-}24h}$ は投与量にほぼ比例する傾向が認められた。両動物種では、ミロガバリン及び A204-4455 のトキシコキネティクスパラメータに反復投与による明らかな変化及び性差は認められなかった。

白色ラットに [^{14}C] 標識ミロガバリンを単回経口投与したとき、投与 30 分後には、ほとんどすべての組織に放射能が観察された後、大部分の組織から速やかに消失した。有色ラットの放射能分布プロファイルは白色ラットと同様であり、眼や皮膚のようなメラニン含有組織への蓄積性は認められなかった。マウス、ラット、カニクイザル、及びヒトでは、ミロガバリンの血漿タンパク結合率は低値（10.7%～25.5%）を示した。ラット、カニクイザル、及びヒトでは、A204-4455 の血漿タンパク結合率は比較的高値（62.7%～86.0%）を示した。

[^{14}C] 標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩の経口投与後、マウス、ラット、及びカニクイザルの血漿、尿、及び糞中の主な放射能成分はミロガバリンであった。

マウス、ラット、及びサルに [^{14}C] 標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩を単回経口投与したとき、投与放射能の大部分が尿から回収された。マウスでは、投与 96 時間後までに、投与放射能の 80.8%が尿から、12.3%が糞から回収された。ラットでは、投与 168 時間後までに、

投与放射能の 94.5%が尿から、3.2%が糞から回収された。カニクイザルでは、投与 168 時間後までに、投与放射能の 47.64%が尿から、9.60%が糞から、30.10%がケージ洗浄液から回収された。ラットに［^{14}C］標識ミロガバリンを単回静脈内投与したとき、投与 168 時間後までに、投与放射能の 93.3%が尿から、2.7%が糞から回収された。

授乳ラット及び妊娠ラットに［^{14}C］標識ミロガバリンを単回経口投与したとき、母乳及び胎児から放射能が検出された。

2. 分析法

2.1 ミロガバリン及び A204-4455 の非標識体の分析

非臨床薬物動態試験では、ラット及びカニクイザル血漿中のミロガバリン濃度は、バリデートされた液体クロマトグラフィータンデム質量分析法（liquid chromatography-tandem mass spectrometry: LC-MS/MS）にて測定した。毒性試験では、マウス、ラット、ウサギ、及びサル血漿中のミロガバリン濃度、ラット及びサル血漿中の A204-4455 濃度、並びにラット尿中のミロガバリン及び A204-4455 の濃度を、バリデートされた LC-MS/MS にて測定した。これらのバリデートされた分析法の概要を表 2.6.4.2-1 に示す。

ミロガバリンは、−80°C 保存条件にて、マウスの血漿中で 91 日間、ラット及びカニクイザルの血漿中で 90 日間、ウサギの血漿中で 61 日間、ラットの尿中で 30 日間安定であった。A204-4455 は、−80°C 保存条件にて、ラットの血漿中で 116 日間、カニクイザルの血漿中で 265 日間、ラットの尿中で 34 日間安定であった。

表 2.6.4.2-1　動物の血漿及び尿中のミロガバリン及び A204-4455 の分析法

Analyte	Assay method	Matrix	Quantification range (ng/mL)	Validation report No.
Mirogabalin	LC-MS/MS: Pretreatment: solid phase extraction IS: A205-9631 ($^2H_5$ labeled mirogabalin besylate)	Mouse plasma	1 to 1000	4.2.2.1-1
Mirogabalin and A204-4455	LC-MS/MS: Pretreatment: Protein precipitation with methanol/acetonitrile (1:1) IS: *p*-acetophenetidine	Rat plasma from 2-week toxicity study	20 to 20,000	4.2.3.2-2
Mirogabalin	LC-MS/MS: Pretreatment: solid phase extraction IS: A205-9631 ($^2H_5$ labeled mirogabalin besylate)	Rat plasma	1 to 1000	4.2.2.1-2
Mirogabalin	LC-MS/MS: Pretreatment: solid phase extraction IS: A205-9631 ($^2H_5$ labeled mirogabalin besylate)	Rat and monkey plasma	1 to 1000	4.2.2.1-3
Mirogabalin	LC-MS/MS: Pretreatment: solid phase extraction IS: A205-9631 ($^2H_5$ labeled mirogabalin besylate)	Rat urine from mechanistic study	100 to 100,000	4.2.2.1-4
A204-4455	LC-MS/MS: Pretreatment: liquid-liquid extraction IS: A212-6230 ($^2H_5$ labeled A204-4455)	Rat plasma and urine from mechanistic study	0.5 to 250 for plasma, 10 to 5000 for urine	4.2.2.1-5
A204-4455	LC-MS/MS: Pretreatment: liquid-liquid extraction IS: A212-6230 ($^2H_5$ labeled A204-4455)	Rat plasma from 26-week toxicity study	0.5 to 250	4.2.2.1-6
Mirogabalin	LC-MS/MS: Pretreatment: solid phase extraction IS: A205-9631 ($^2H_5$ labeled mirogabalin besylate)	Rabbit plasma	1 to 1000	4.2.2.1-7
Mirogabalin and A204-4455	LC-MS/MS: Pretreatment: Protein precipitation with methanol/acetonitrile (1:1) IS: *p*-acetophenetidine	Monkey plasma from 2-week toxicity study	20 to 20,000	4.2.3.2-8
Mirogabalin	LC-MS/MS: Pretreatment: solid phase extraction IS: A205-9631 ($^2H_5$ labeled mirogabalin besylate)	Monkey plasma	1 to 1000	4.2.2.1-8
A204-4455	LC-MS/MS: Pretreatment: liquid-liquid extraction IS: A212-6230 ($^2H_5$ labeled A204-4455)	Monkey plasma from 39-week toxicity study	0.5 to 250	4.2.2.1-9
Mirogabalin	LC-MS/MS: Pretreatment: solid phase extraction IS: A205-9631 ($^2H_5$ labeled mirogabalin besylate)	Rhesus monkey plasma	1 to 1000	4.2.2.1-10

IS: Internal standard

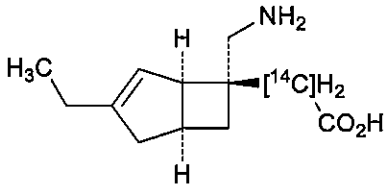
2.2　標識体の分析

［^{14}C］標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩は、吸収（単回投与）、分布、代謝、及び排泄の検討に使用した。［^{14}C］標識ミロガバリンの構造を図 2.6.4.2-1 に示す。

投与液の安定性は、各試験で動物への投与後に放射化学的純度を測定することによって担保した。

血漿、排泄物、及び組織中の放射能濃度は、液体シンチレーション計測法によって測定した。一部の分布試験では、オートラジオルミノグラフィーにて、組織中の放射能を検出・定量した。血漿及び排泄物中の［^{14}C］標識ミロガバリンとその代謝物は、放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー（high performance liquid chromatography with radio-detector: radio-HPLC）、液体クロマトグラフィー質量分析法（liquid chromatography-mass spectrometry: LC-MS）、及びLC-MS/MSによって分析した。

図 2.6.4.2-1　［^{14}C］標識ミロガバリンの構造



3. 吸収

3.1 単回投与試験

3.1.1 ラットでのミロガバリンの薬物動態

添付資料番号: 4.2.2.2-1、4.2.2.2-2

雄ラットにミロガバリンベシル酸塩（1、3、又は 10 mg/kg）を単回経口投与したとき、ミロガバリンの血漿中濃度は 0.33～0.50 時間で Cmax に到達した後、二相性に低下し、$T_{1/2}$ は 3.77～5.43 時間であった。ミロガバリンの Cmax 及び AUCinf は、投与量に概ね比例した。

雄ラットにミロガバリンベシル酸塩（3 mg/kg）を静脈内投与した後、ミロガバリンの $T_{1/2}$ は 4.50 時間であった。ラットでのミロガバリンの CL は 13.5 mL/min/kg、Vss は 1.73 L/kg であった。

3 mg/kg を投与したときの生物学的利用率は 97.6%であった。

表 2.6.4.3-1　ラットにミロガバリンベシル酸塩を単回経口投与及び単回静脈内投与したときのミロガバリンの血漿中薬物動態パラメータ

Route of Administration	Dose (mg/kg)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	$T_{1/2}$ (h)	AUCinf (ng·h/mL)	Bioavailability (%)
Oral	1	731 ± 57	0.33 ± 0.14	3.77 ± 2.58	1360 ± 190	NA
	3	1730 ± 150	0.42 ± 0.14	4.16 ± 0.62	3660 ± 330	97.6
	10	5170 ± 450	0.50 ± 0.00	5.43 ± 2.13	12900 ± 900	NA

Route of Administration	Dose (mg/kg)	CL (mL/min/kg)	Vss (L/kg)	$T_{1/2}$ (h)	AUCinf (ng·h/mL)
Intravenous	3	13.5 ± 1.8	1.73 ± 0.37	4.50 ± 1.62	3750 ± 510

Data represent the mean of 3 animals with the standard deviation.
NA: not applicable

ラットに［^{14}C］標識ミロガバリンを 3 mg/kg の投与量で単回経口投与したとき、血漿中放射能濃度は 0.83 時間で Cmax（1580 ng eq./mL）に到達した後、二相性に低下した。(2.6.5.3.2)

3.1.2 サルでのミロガバリンの薬物動態

添付資料番号: 4.2.2.2-3、4.2.2.2-4

雄カニクイザルにミロガバリンベシル酸塩（1、3、又は 10 mg/kg）を単回経口投与したとき、ミロガバリンの血漿中濃度は 0.83～1.7 時間で Cmax に到達した後、二相性に低下し、$T_{1/2}$ は 4.04～4.89 時間であった。Cmax 及び AUCinf は、概ね投与量に比例した。

雄カニクイザルに 3 mg/kg を静脈内投与した後、ミロガバリンの $T_{1/2}$ は 2.76 時間であった。ミロガバリンの CL は 9.02 mL/min/kg、Vss は 1.04 L/kg であった。

3 mg/kg を投与したときの生物学的利用率は 85.2%であった。

表 2.6.4.3-2　カニクイザルにミロガバリンベシル酸塩を単回経口投与及び単回静脈内投与したときのミロガバリンの血漿中薬物動態パラメータ

Route of Administration	Dose (mg/kg)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	$T_{1/2}$ (h)	AUCinf (ng·h/mL)	Bioavailability (%)
Oral	1	643 ± 71	0.83 ± 0.29	4.04 ± 0.19	1780 ± 30	NA
	3	1220 ± 80	1.7 ± 0.6	4.27 ± 1.16	4680 ± 430	85.2 ± 23.0
	10	3890 ± 840	1.5 ± 0.9	4.89 ± 0.74	14800 ± 1300	NA

Route of Administration	Dose (mg/kg)	CL (mL/min/kg)	Vss (L/kg)	$T_{1/2}$ (h)	AUCinf (ng·h/mL)
Intravenous	3	9.02 ± 1.64	1.04 ± 0.14	2.76 ± 1.10	5660 ± 950

Data represent the mean of 3 animals with the standard deviation.
NA: not applicable

カニクイザルに［^{14}C］標識ミロガバリンを 3 mg/kg の投与量で単回経口投与したとき、血漿中放射能濃度は 1.2 時間で Cmax（1870 ng eq./mL）に到達した後、二相性に低下した。（2.6.5.3.4）

3.2　反復投与試験

3.2.1　ラット

3.2.1.1　ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットに反復経口投与後のミロガバリンの薬物動態

添付資料番号: 4.2.2.2-5

ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにミロガバリンベシル酸塩を 2.5、5、又は 10 mg/kg の投与量で 1 日 2 回 5 日間経口投与したときのミロガバリンの血漿中濃度を投与 1、3、及び 5 日目に測定した。ミロガバリンの Cmax 及び $AUC_{0\text{-}12h}$ は、いずれの投与日にも投与量にほぼ比例した。（表 2.6.4.3-3）

表 2.6.4.3-3　ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにミロガバリンベシル酸塩を反復経口投与したときのミロガバリンの血漿中薬物動態パラメータ

Day of dosing	Dose (mg/kg)	Cmax (μg/mL)	Tmax (h)	$AUC_{0\text{-}12h}$ (μg·h /mL)
1	2.5	495 ± 122	1.2 ± 0.8	2550 ± 790
	5	1460 ± 60	1.2 ± 0.8	7200 ± 1460
	10	3220 ± 60	1.0 ± 0.0	10900 ± 900
3	2.5	606 ± 76	1.2 ± 0.8	2650 ± 740
	5	1080 ± 420	1.7 ± 2.0	5280 ± 1160
	10	2390 ± 280	0.8 ± 0.3	10700 ± 2700
5	2.5	546 ± 108	0.7 ± 0.3	1930 ± 80
	5	1040 ± 200	0.5 ± 0.0	5230 ± 1150
	10	2520 ± 320	2.3 ± 1.5	15100 ± 4700

Data represent the mean of 3 males with the standard deviation.

3.2.1.2　ラットに反復経口投与後のミロガバリン及び A204-4455 のトキシコキネティクス

添付資料番号: 4.2.3.2-5、4.2.3.2-6

ラット 26 週間反復投与毒性試験では、雌雄ともに、ミロガバリン及び A204-4455 の Cmax は投与量比を下回る上昇を示し、ミロガバリン及び A204-4455 の $AUC_{0\text{-}24h}$ は投与量にほぼ比例した。ミロガバリンのトキシコキネティクスパラメータには、明らかな性差及び反復投与による明らかな変化は認められなかった。しかし、A204-4455 の $AUC_{0\text{-}24h}$ は、雌雄ともに反復投与後に上昇した。(表 2.6.4.3-4、表 2.6.4.3-5)

表 2.6.4.3-4　ラットにミロガバリンベシル酸塩を反復経口投与後のミロガバリンの血漿中薬物動態パラメータ

		Cmax (μg/mL)		Tmax (h)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h /mL)	
	Dose (mg/kg/day)	Day 1	Day 180	Day 1	Day 180	Day 1	Day 180
Male	10	3.01 ± 0.30	3.02 ± 0.50	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	9.84 ± 1.37	10.2 ± 0.3
	30	8.20 ± 1.29	7.56 ± 0.29	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	25.3 ± 2.8	29.6 ± 2.9
	100	14.3 ± 2.4	23.3 ± 4.3	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	96.1 ± 10.2	108 ± 10
Female	10	2.90 ± 0.37	3.19 ± 0.33	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	9.19 ± 1.31	10.1 ± 1.7
	30	8.26 ± 0.49	7.73 ± 0.82	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	24.3 ± 1.5	29.0 ± 1.0
	100	17.9 ± 2.1	22.5 ± 1.1	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	109 ± 19	107 ± 7

Data represent the mean value of 3 animals with the standard deviation.

表 2.6.4.3-5　ラットにミロガバリンベシル酸塩を反復経口投与後の A204-4455 の血漿中薬物動態パラメータ

		Cmax (ng/mL)		Tmax (h)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h /mL)	
	Dose (mg/kg/day)	Day 1	Day 180	Day 1	Day 180	Day 1	Day 180
Male	10	49.0 ± 7.10	76.7 ± 5.98	1.0 ± 0.0	1.7 ± 1.2	195 ± 17.3	392 ± 103
	30	118 ± 15.5	184 ± 28.2	1.0 ± 0.0	1.7 ± 1.2	488 ± 45.7	1043 ± 101.2
	100	228 ± 46.5	542 ± 70.0	1.0 ± 0.0	1.7 ± 1.2	1765 ± 136.4	3753 ± 750.2
Female	10	86.1 ± 16.4	153 ± 17.7	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	314 ± 33.8	607 ± 90.5
	30	244 ± 38.4	348 ± 45.9	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	848 ± 65.5	1513 ± 127.2
	100	500 ± 109	725 ± 52.3	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	3821 ± 506.3	4752 ± 391.3

Data represent the mean value of 3 animals with the standard deviation.

3.2.1.3　妊娠ラットに反復経口投与後のミロガバリンのトキシコキネティクス

添付資料番号: 4.2.3.5.2-2、4.2.3.5.2-3

ラット胚・胎児発生に関する試験では、ミロガバリンの Cmax 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、10～100 mg/kg の間で概ね投与量の増加に伴い上昇し、300 及び 1000 mg/kg で投与量比を下回る上昇を示した。特に 1000 mg/kg では、反復投与による上昇傾向が認められた。(表 2.6.4.3-6)

表 2.6.4.3-6　妊娠ラットにミロガバリンベシル酸塩を反復経口投与後のミロガバリンの血漿中薬物動態パラメータ

	Cmax (μg/mL)		Tmax (h)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h /mL)	
Dose (mg/kg/day)	Day 1	Day 11	Day 1	Day 11	Day 1	Day 11
10[a]	3.02 ± 0.61	4.57 ± 0.58	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	12.8 ± 1.4	15.5 ± 1.7
30[a]	7.92 ± 1.68	7.88 ± 0.41	1.0 ± 0.0	1.4 ± 0.9	33.3 ± 5.9	46.0 ± 2.1
100[b]	17.5 ± 5.59	21.5 ± 3.32	1.4 ± 0.9	1.8 ± 1.1	125 ± 64.4	171± 14.0
300[b]	26.1 ± 8.85	35.7 ± 6.67	2.2 ± 1.1	3.8 ± 1.5	267 ± 50.8	429 ± 64.0
1000[b]	42.1 ± 7.07	84.3 ± 23.2	2.5 ± 1.0	4.5 ± 1.7	558 ± 90.1	1120 ± 260

Data represent the mean value of 4 or 5 animals with the standard deviation.
a: Embryo-fetal development study (additional low-dose study) (4.2.3.5.2-3)
b: Embryo-fetal development study (4.2.3.5.2-2)

3.2.2　サル

3.2.2.1　サルに反復経口投与後のミロガバリン及び A204-4455 のトキシコキネティクス

添付資料番号: 4.2.3.2-11、4.2.3.2-12

サル 39 週間反復投与毒性試験では、ミロガバリンの Cmax は概ね投与量の増加に伴い上昇したが、上昇の程度は投与量比を下回った。ミロガバリンの $AUC_{0\text{-}24h}$ は投与量にほぼ比例した。A204-4455 の Cmax 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、雌雄ともに投与量比を下回る上昇を示した。ミロガバリン及び A204-4455 のトキシコキネティクスパラメータには、反復投与による有意な変化及び有意な性差を認められなかった。(表 2.6.4.3-7、表 2.6.4.3-8)

表 2.6.4.3-7　サルにミロガバリンベシル酸塩を反復経口投与後のミロガバリンの血漿中薬物動態パラメータ

		Cmax (μg/mL)		Tmax (h)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h /mL)	
	Dose (mg/kg/day)	Day 1	Day 273	Day 1	Day 273	Day 1	Day 273
Male	10	4.24 ± 0.69	3.72 ± 0.94	1.0 ± 0.0	1.3 ± 0.5	19.2 ± 1.7	18.0 ± 4.0
	30	7.71 ± 2.45	13.9 ± 5.0	1.8 ± 1.5	1.0 ± 0.0	57.0 ± 16.9	58.1 ± 18.7
	100	17.2 ± 8.2	28.4 ± 3.1	3.3 ± 2.9	1.3 ± 0.5	182 ± 51	195 ± 29
Female	10	4.49 ± 2.59	5.30 ± 1.92	1.0 ± 0.0	1.3 ± 0.5	15.6 ± 4.8	18.6 ± 4.3
	30	12.1 ± 2.0	12.2 ± 3.9	1.0 ± 0.0	1.5 ± 0.6	44.2 ± 8.0	52.4 ± 18.5
	100	13.4 ± 3.0	32.2 ± 7.5	2.5 ± 1.7	2.0 ± 0.0	103 ± 27	171 ± 38

Data represent the mean value of 4 animals with the standard deviation.

表 2.6.4.3-8　サルにミロガバリンベシル酸塩を反復経口投与後の
A204-4455 の血漿中薬物動態パラメータ

		Cmax (ng/mL)		Tmax (h)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h /mL)	
	Dose (mg/kg/day)	Day 1	Day 273	Day 1	Day 273	Day 1	Day 273
Male	10	68.7 ± 10.7	50.8 ± 11.1	1.5 ± 0.6	1.3 ± 0.5	462 ± 125	282 ± 124
	30	106 ± 11.3	136 ± 29.2	2.3 ± 1.3	1.8 ± 0.5	966 ± 332	796 ± 232
	100	274 ± 120	275 ± 55.0	5.5 ± 1.7	2.3 ± 1.3	3309 ± 764.7	2321 ± 517.3
Female	10	47.6 ± 25.6	59.1 ± 21.6	1.5 ± 0.6	1.8 ± 1.5	246 ± 53.9	280 ± 116
	30	154 ± 91.5	116 ± 5.97	1.3 ± 0.5	2.0 ± 0.0	624 ± 226	586 ± 99.4
	100	140 ± 37.4	227 ± 37.0	3.3 ± 1.5	2.5 ± 1.0	1252 ± 374.3	1529 ± 381.7

Data represent the mean value of 4 animals with the standard deviation.

3.2.3　ウサギ

3.2.3.1　妊娠ウサギに反復経口投与後のミロガバリンのトキシコキネティクス

添付資料番号: 4.2.3.5.2-5

ウサギ胚・胎児発生に関する試験では、ミロガバリンの Cmax 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は投与量にほぼ比例した。トキシコキネティクスパラメータには、反復投与による明らかな変化は認められなかった。(表 2.6.4.3-9)

表 2.6.4.3-9　妊娠ウサギにミロガバリンベシル酸塩を反復経口投与後の
ミロガバリンの血漿中薬物動態パラメータ

	Cmax (μg/mL)		Tmax (h)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h /mL)	
Dose (mg/kg/day)	Day 1	Day 13	Day 1	Day 13	Day 1	Day 13
10	3.46 ± 0.387	3.07 ± 0.453	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	10.3 ± 1.48	9.25 ± 2.98
30	9.89 ± 1.42	9.21 ± 1.94	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	28.8 ± 4.2	21.1 ± 5.75
100	27.8 ± 4.32	26.4 ± 2.47	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	101 ± 11.4	69.3 ± 7.63

Data represent the mean value of 4 or 5 animals with the standard deviation.

4. 分布

4.1 白色ラット及び有色ラットの定量的全身オートラジオルミノグラフィー

添付資料番号: 4.2.2.3-1、4.2.2.3-2

白色ラット（雄 F344、1 例／時点）に［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回経口投与した後、投与 0.5、1、4、8、24、48、及び 96 時間後に、定量的全身オートラジオルミノグラフィー法（quantitative whole-body autoradioluminography: QWBA）により組織への放射能分布を検討した。有色ラット（雄 Long-Evans、1 例／時点）では、投与 1、4、8、及び 24 時間後に放射能分布を検討した。

白色ラットでは（図 2.6.4.4-1）、投与 30 分後には、ほとんどすべての組織に放射能が観察された。この時点で、血液より明らかに高い放射能分布を認めた組織は、肝臓、腎臓、膀胱尿、小腸内容物、及び胃内容物であった。投与 24 時間後には、主に包皮腺、鼻腔内、膀胱尿、及び大腸内容物に放射能が検出された。投与 96 時間後に放射能が検出可能であったのは包皮腺及び大腸内容物のみであった。放射能は大部分の組織から速やかに消失した。

有色ラットの放射能分布プロファイルは、図 2.6.4.4-2 に示すように白色ラットと同様であり、眼や皮膚のようなメラニン含有組織への蓄積性は認められなかった。

図 2.6.4.4-1　白色ラット（F344）に［^{14}C］標識ミロガバリンを 3 mg/kg で単回経口投与後の全身オートラジオルミノグラム

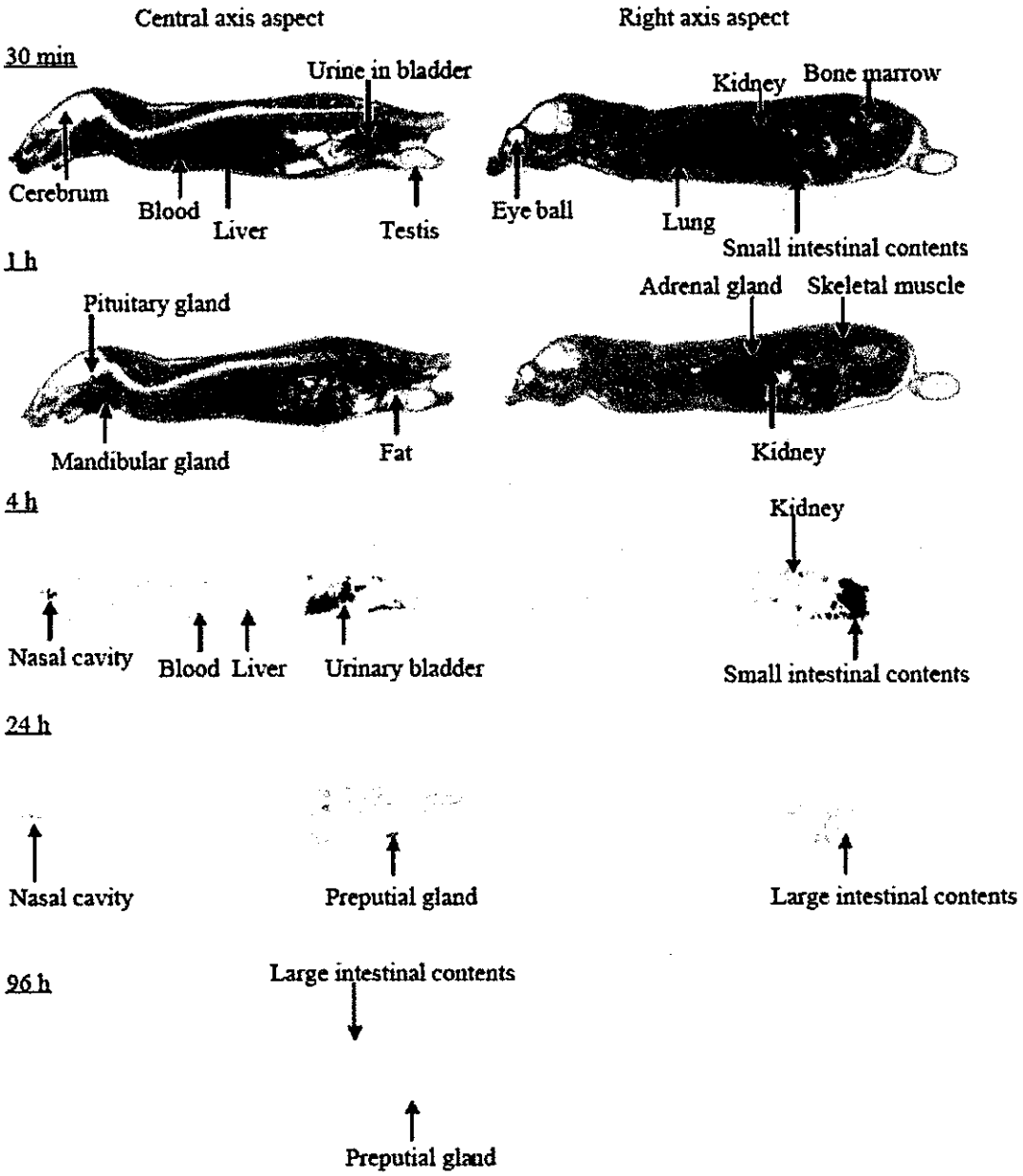
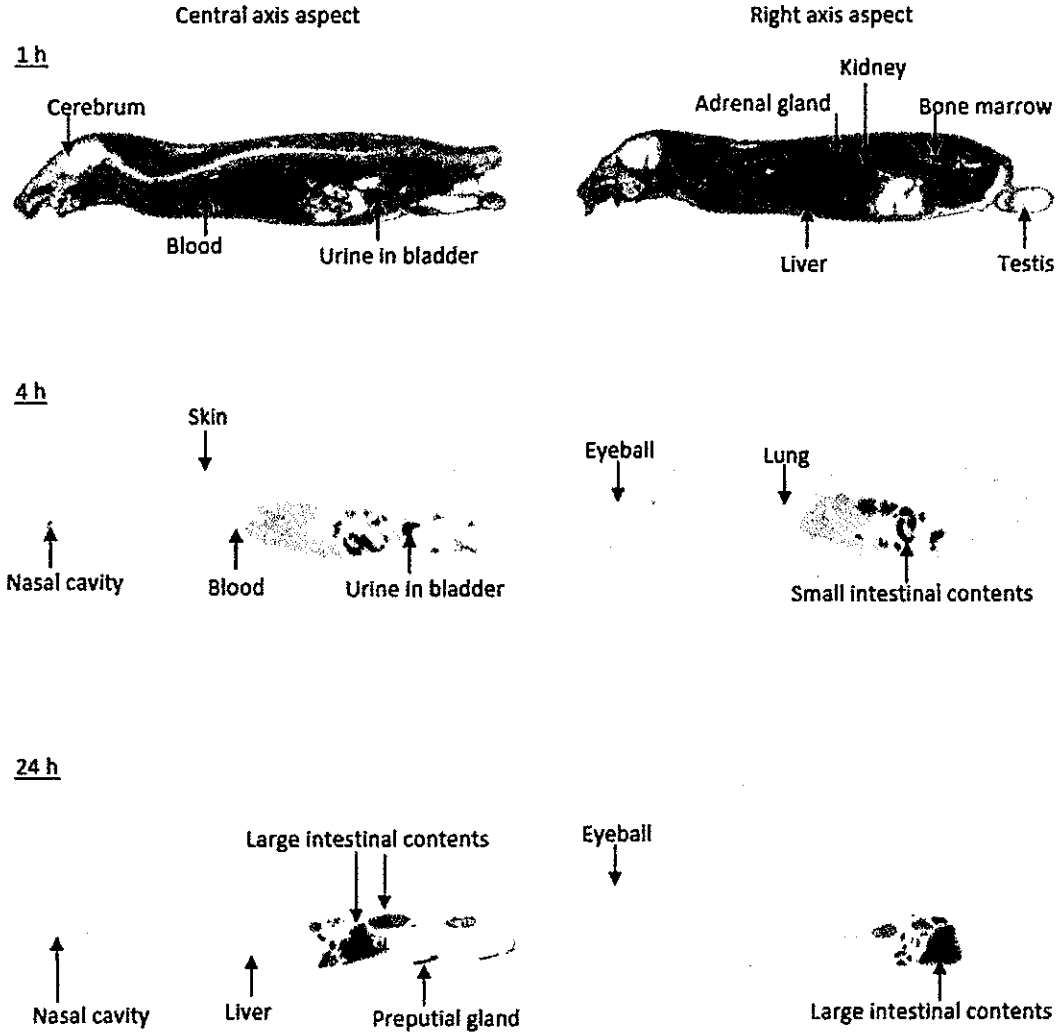


図 2.6.4.4-2　有色ラット（Long-Evans）に［^{14}C］標識ミロガバリンを 3 mg/kg で単回経口投与後の全身オートラジオルミノグラム



4.2　In vitro 血漿タンパク結合

添付資料番号: 4.2.2.3-3、4.2.2.3-4、4.2.2.3-5

マウスの血漿（10 例、プール）に［^{14}C］標識ミロガバリンベシル酸塩を 0.176、1.76、及び 17.6 μg/mL となるよう添加した後、ミロガバリンの in vitro 血漿タンパク結合率を超遠心法によって評価した。放射能の血漿タンパク結合率は比較的低く 18.0%～23.4%であった。

ラット、サル、及びヒトの血漿（各 3 例）に［^{14}C］標識ミロガバリンを 0.1、1、及び 10 μg/mL となるよう添加した後、ミロガバリンの in vitro 血漿タンパク結合率を超遠心法によって評価した。放射能の血漿タンパク結合率は比較的低く、ラットで 21.4%～24.2%、サルで 10.7%～12.3%、ヒトで 23.4%～25.5%であった。

ラット、サル、及びヒトの血漿（各 3 例）に A204-4455 を 0.01、0.03、及び 0.3 μg/mL となるよう添加した後、A204-4455 の in vitro 血漿タンパク結合率を迅速平衡透析法によって評

価した。血漿タンパク結合率は、ラットで 83.0%～86.0%、サルで 62.7%～70.5%、ヒトで 75.0%～82.7%であった。

ミロガバリン及び A204-4455 の血漿タンパク結合率は、試験濃度範囲内で濃度依存性を認めなかった。

4.3 In vitro 血球分布

添付資料番号: 4.2.2.3-6

ラット、サル、及びヒトの血液（プール）に［^{14}C］標識ミロガバリンを 0.1、1、及び 10 μg/mL となるよう添加した後、血球への分布を in vitro で評価した。放射能の赤血球移行率は、ラットで 37.5%～37.7%、サルで 42.3%～42.8%、ヒトで 35.5%～37.3%であった。血液／血漿中放射能濃度比は、ラットで 0.89～0.90、サルで 0.91～0.92、ヒトで 0.85～0.87 であった。

4.4 妊娠ラットにおける胎盤通過性

添付資料番号: 4.2.2.3-7

妊娠 18 日目のラット（雌 F344/DuCrlCrlj、投与 0.5、2、24、及び 48 時間後の 1 時点につき 1 例）に［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回経口投与後、QWBA にて組織への放射能分布を検討した。投与 0.5 及び 2 時間後の母動物の生殖器（子宮、胎盤、卵巣等）中放射能濃度は、母動物の血中放射能濃度と比較して同程度、もしくはそれよりも低かった。羊膜、胎児の肝、肺、腎、及び脳に低濃度ながらも放射能が検出された後、低下した。投与 24 時間後には、これら組織に放射能を視覚的に認めなかった。これらの結果から、ミロガバリンの胎児への移行性は低かった。ミロガバリンはその他の母動物の組織に広範に分布し、陰核腺を除く組織からの放射能の消失は速やかであった。

5. 代謝（種間比較）

5.1 In vivo 代謝プロファイル

5.1.1 マウス、ラット、サルでの代謝物の構造解析

添付資料番号: 4.2.2.4-1、4.2.2.4-2、4.2.2.4-3、4.2.2.4-4、4.2.2.4-5、4.2.2.4-6、4.2.2.4-7

マウス（雄 B6C3F1/Crlj）、ラット（雄 F344）、及びカニクイザル（雄）に［^{14}C］標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩（100 mg/kg）を単回経口投与後、radio-HPLC、LC-MS、及び LC-MS/MS を用いて、代謝物の構造を解析した。

5.1.1.1 血漿

投与 1 及び 3 時間後に採取したマウスの血漿では、2 つの放射能ピークが検出された。1 つのピークはミロガバリンと同定され、もう 1 つのピークはミロガバリンのラクタム体（A204-4455）と同定された。

投与 1 及び 4 時間後に採取したラットの血漿では、3 つの放射能ピークが検出された。1 つのピークはミロガバリンの酸化体と推定された。他の 2 つのピークはそれぞれミロガバリン及び A204-4455 と同定された。

投与 3 及び 8 時間後に採取したサルの血漿では、4 つの放射能ピークが検出された。2 つのピークはミロガバリンの酸化体と推定された。他の 2 つのピークはそれぞれミロガバリン及び A204-4455 と同定された。

5.1.1.2 尿

投与後 24 時間に採取したマウスの尿では、3 つの放射能ピークが検出された。1 つのピークはミロガバリンのグルクロン酸抱合体と推定された。他の 2 つのピークはそれぞれミロガバリン及び A204-4455 と同定された。

投与後 24 時間及び投与後 24～48 時間に採取したラット及びサルの尿では、1 つの放射能ピークが検出され、ミロガバリンと同定された。

5.1.1.3 糞

投与後 24 時間及び投与後 24～48 時間に採取したラット及びサルの糞では、1 つの放射能ピークが検出され、ミロガバリンと同定された。

5.1.1.4 胆汁

投与後 24 時間に採取したラットの胆汁では、8 つのピークが検出された。2 つのピークはそれぞれミロガバリン及び A204-4455 と同定された。他の 2 つのピークは、A204-4455 の酸化体の *O*-グルクロン酸抱合体と推定された。3 つのピークはミロガバリンのグルクロン酸抱合体と推定された。残り 1 つのピークの化学構造を解析したが、試料量が不十分であったため、構造解明には至らなかった。

サルの胆汁では、5 つのピークが検出された。1 つのピークはミロガバリンと同定された。

2 つのピークはミロガバリンのグルクロン酸抱合体と推定された。残り 2 つのピークの化学構造を解析したが、試料量が不十分であったため、構造解明には至らなかった。

5.1.2　ラット及びサルでの代謝物の定量的な分析

添付資料番号: 4.2.2.4-8、4.2.2.4-9

ラット（雄 F344/DuCrlCrlj、3 例）及びカニクイザル（雄、3 例）に［^{14}C］標識ミロガバリン（100 mg/kg）を単回経口投与したときの in vivo 代謝プロファイルを、radio-HPLC にて検討した。経口投与後、投与放射能の大部分（投与量の 80%超）が尿中排泄されたため（6.1 項）、定量的な分析用に胆汁は採取しなかった。

表 2.6.4.5-1 及び表 2.6.4.5-2 に示すように、ラット及びサルの血漿、尿、及び糞中の主な放射能成分はミロガバリンであった。この試験では、代謝物の明らかな放射能ピークは検出されなかった。

ラット及びサルの反復投与毒性試験では、A204-4455 の血漿中濃度を LC-MS/MS にて測定した。ミロガバリンベシル酸塩（100 mg/kg）の反復投与 1 日目の Cmax は、雄ラットで 0.228 μg/mL（3.2.1.2 項）、雄サルで 0.274 μg/mL であり（3.2.2.1 項）、いずれもミロガバリンの Cmax の約 1.6%に相当した。このように低濃度であったことと、放射能検出器と LC-MS/MS の間で測定感度に差があることから、この試験では A204-4455 は定量されなかったと考えられる。

ラットの膀胱腫瘍発生に関する機序試験では、ミロガバリン及び A204-4455 の尿中濃度を測定した。A204-4455 の尿中濃度はミロガバリンの尿中濃度の約 0.1%であった。(2.6.7.10.6)

表 2.6.4.5-1　ラット及びカニクイザルでの in vivo 代謝プロファイル

	Metabolite	Proportions (% in sample)			
		Plasma		Urine	Feces
		1 h	4 h	0-24 h	0-24 h
Rats	Mirogabalin	84.0 ± 1.9	75.5 ± 11.5	90.2 ± 0.6	60.1 ± 18.8
	Other	16.0 ± 1.8	24.5 ± 11.6	9.9 ± 0.6	39.9 ± 18.9
		3 h	8 h	0-24 h	0-24 h
Cynomolgus Monkeys	Mirogabalin	91.5 ± 3.7	77.1 ± 7.0	81.9 ± 3.7	93.3 ± 1.6
	Other	8.5 ± 3.7	23.0 ± 7.1	18.1 ± 3.8	6.6 ± 1.5

Data are expressed as the mean ± standard deviation of three animals.

表 2.6.4.5-2　ラット及びカニクイザルの排泄物からのミロガバリンとその代謝物の回収率

Metabolite	Proportions (% of dose)			
	Rats		Cynomolgus monkeys	
	Urine 0-24 h	Feces 0-24 h	Urine 0-24 h	Feces 0-24 h
Mirogabalin	76.0 ± 2.2	2.6 ± 2.0	42.2 ± 14.2	9.7 ± 8.7
Other	8.4 ± 0.5	1.4 ± 0.3	9.7 ± 4.5	0.6 ± 0.6
Total	84.3 ± 2.1	4.0 ± 1.8	51.9 ± 18.4	10.3 ± 9.2

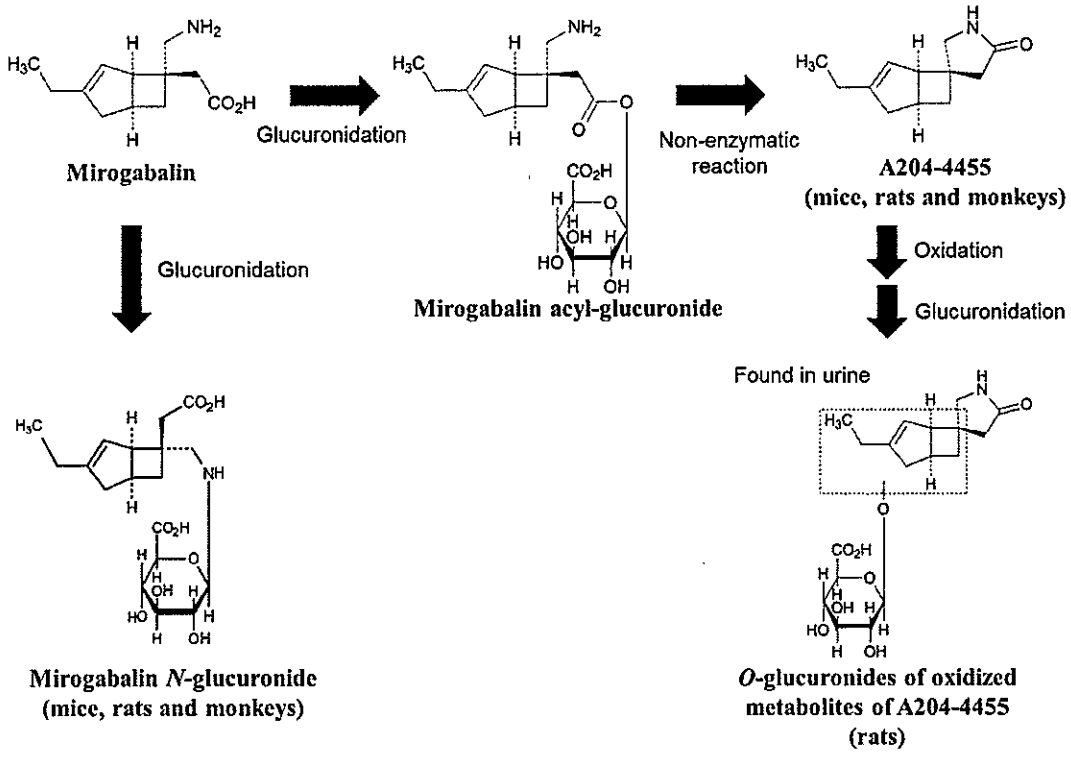
Data are expressed as the mean ± standard deviation of three animals.

5.2　推定代謝経路

ラット及びカニクイザルでの推定代謝経路を図 2.6.4.5-1 に示す。この代謝経路は、in vivo 構造解析試験（5.1.1 項）結果及びヒトでの代謝経路検討結果（2.7.2.2.1.2）を踏まえて推定した。

ラット及びサルの胆汁中で検出された代謝物は、アシルグルクロン酸抱合体又は *N*-グルクロン酸抱合体と考えられ、アシルグルクロン酸抱合体は水の存在下で速やかに A204-4455 に変換することから、*N*-グルクロン酸抱合体であると推定された。ミロガバリンの初発代謝反応はアミノ基とカルボン酸それぞれのグルクロン酸抱合反応と考えられ、アシルグルクロン酸抱合体は速やかに A204-4455 に変換された後、さらに酸化とグルクロン酸抱合反応を受けると推察された。

図 2.6.4.5-1　ラット及びカニクイザルでのミロガバリンの推定代謝経路



6. 排泄

6.1 尿中及び糞中排泄

添付資料番号: 4.2.2.5-1、4.2.2.5-2、4.2.2.5-3、4.2.2.2-4

ミロガバリンの排泄は、マウス（雄 B6C3F1/Crlj、3 例）、ラット（雄 F344、3 例）、及びカニクイザル（雄、3 例）で検討した。

マウスに［^{14}C］標識ミロガバリンベシル酸塩（100 mg/kg）を単回経口投与したところ、投与 24 時間後までに、投与放射能の 72.1%が尿中に、10.5%が糞中に排泄された。また、投与 96 時間後までに、投与放射能の 80.8%が尿中に、12.3%が糞中に排泄された。両者を合わせて投与放射能の 93.1%が投与 96 時間後までに排泄された。

ラットに［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回経口投与したところ、投与 24 時間後までに、投与放射能の 92.5%が尿中に、2.1%が糞中に排泄された。また、投与 168 時間後までに、投与放射能の 94.5%が尿中に、3.2%が糞中に排泄された。両者を合わせて投与放射能の 97.6%が投与 168 時間後までに排泄された。

ラットに［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回静脈内投与したところ、投与 24 時間後までに投与放射能の 91.4%が尿中に、2.3%が糞中に排泄された。また、投与 168 時間後までに、投与放射能の 93.3%が尿中に、2.7%が糞中に排泄された。両者を合わせて投与放射能の 96.0%が投与 168 時間後までに排泄された。

カニクイザルに［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回経口投与したところ、投与 168 時間後までに、投与放射能の 47.64%が尿中に、9.60%が糞中に排泄され、30.10%がケージ洗浄液として回収された。ケージ洗浄液中放射能を加えると、投与放射能の 87.35%が回収された。ケージ洗浄液中から回収された放射能は主に尿由来と判断された。

6.2 胆汁中排泄

添付資料番号: 4.2.2.5-4、4.2.2.5-5

胆管カニュレーションを施したラット（雄 F344、3 例）でミロガバリンの胆汁中排泄を検討した。

［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、投与 48 時間後までに投与放射能の 88.9%が尿中に、8.8%が胆汁中に、0.7%が糞中に排泄された。

［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回静脈内投与したとき、投与 48 時間後までに投与放射能の 90.9%が尿中に、5.9%が胆汁中に、0.0%が糞中に排泄された。

6.3 乳汁中排泄

添付資料番号: 4.2.2.5-6

授乳ラット（雌 F344、9～10 週齢時に交配、3 例）でミロガバリンの乳汁中排泄を検討した。

［^{14}C］標識ミロガバリン（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、母乳中放射能濃度は、投与 2 時間後に 429 ng eq./mL の最高濃度に到達した後、経時的に低下し、投与 48 時間後には

最高濃度の約 2%の濃度となった。母乳中放射能の $T_{1/2}$ は 11 時間であった。血漿中放射能濃度は、投与 0.5 時間後に 918 ng eq./mL の最高濃度に到達した後、低下し、投与 48 時間後には最高濃度の約 1%の濃度となった。血漿中放射能の $T_{1/2}$ は 8.9 時間であった。母乳中放射能の AUCinf（3690 ng eq.·h/mL）は、血漿中放射能の AUCinf（3910 ng eq.·h/mL）と同程度であった。

7. 薬物動態学的薬物相互作用

ヒト生体試料を用いて検討した in vitro 薬物動態学的薬物相互作用試験の詳細は 2.7.2 に示す。ミロガバリンは、チトクローム P450（cytochrome P450: CYP）1A2、2B6、及び 3A4 を誘導せず、また CYP 酵素に対して直接的阻害活性及び時間依存的な阻害活性を示さなかった。ミロガバリンは、ヒト有機アニオントランスポーター（organic anion transporter: OAT）1、OAT3、ヒト有機カチオントランスポーター（organic cation transporter: OCT）1、OCT2、ヒト有機アニオン輸送ポリペプチド（organic anion transporting polypeptide: OATP）1B1、OATP1B3、H+／有機カチオンアンチポーター（multidrug and toxin extrusion: MATE）1、及び MATE2-K、並びに P 糖蛋白及び乳がん耐性蛋白の輸送活性に影響しなかった。ミロガバリンの能動的な腎分泌には、ヒト OAT1、OAT3、及び OCT2 が取り込みトランスポーターとして、ヒト MATE1 及び MATE2-K が排泄トランスポーターとして関与することが明らかとなった。

8. その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施していない。

9. 考察及び結論

ラット及びカニクイザルにミロガバリンベシル酸塩を単回経口投与したとき、ミロガバリンは良好に吸収され、生物学的利用率はラットで 97.6%、カニクイザルで 85.2%であった。血漿中ミロガバリン濃度は投与後 2 時間以内に Cmax に到達し、$T_{1/2}$ はラットで 3.77～5.43 時間、カニクイザルで 4.04～4.89 時間であった。ミロガバリンの Cmax 及び AUCinf は、両動物種で投与量に比例した。

ミロガバリンベシル酸塩をラットに 26 週間、カニクイザルに 39 週間反復経口投与したとき、ミロガバリン及び A204-4455 の Cmax は投与量比を下回る上昇を示したが、ミロガバリン及び A204-4455 の $AUC_{0\text{-}24h}$ は投与量にほぼ比例した。両動物種では、ミロガバリン及び A204-4455 のトキシコキネティクスパラメータに反復投与による明らかな変化及び性差は認められなかった。

QWBA を用いた組織分布試験では、白色及び有色ラットに［^{14}C］標識ミロガバリンを経口投与したとき、放射能は大部分の組織から速やかに消失した。マウス、ラット、サル、及びヒトでのミロガバリンの in vitro 血漿タンパク結合率は、10.7%～25.5%であった。ラット、サル、及びヒトでの A204-4455 の血漿タンパク結合率は 62.7%～86.0%であり、ミロガバリンと比較して高かった。ミロガバリン及び A204-4455 の血漿タンパク結合率は濃度依存性を示さなかった。

［^{14}C］標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩の経口投与後、マウス、ラット、及びカニクイザルの血漿、尿、及び糞中の主な放射能成分はミロガバリンであった。

マウス、ラット、及びサルに［^{14}C］標識ミロガバリン又はそのベシル酸塩を単回経口投与したとき、投与放射能の大部分が尿から回収され、尿中に排泄された放射能の主な成分はミロガバリンであった。

妊娠ラット及び授乳ラットに［^{14}C］標識ミロガバリンを経口投与したとき、胎児及び母乳から放射能が検出された。このことから、ミロガバリンは胎盤を通過して胎児に分布し、母動物の血液から母乳へと分布することが示された。

ミロガバリンベシル酸塩の薬物動態試験の結論として、ラット及びカニクイザルに投与されたミロガバリンベシル酸塩は速やかに吸収されること、母乳及び胎児を含む広範な組織に分布した後に速やかに消失すること、また、わずかな代謝を受け、主な消失経路は腎排泄であることが明らかになった。

目次

1. **薬物動態試験：一覧表** 3
2. **分析方法及びバリデーション試験** 8
3. **薬物動態試験：単回投与後の吸収** 12
3.1 薬物動態試験：単回投与後の吸収—経口及び静脈内、ラット 12
3.2 薬物動態試験：単回投与後の吸収—経口、ラット 13
3.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収—経口及び静脈内、サル 14
3.4 薬物動態試験：単回投与後の吸収—経口、サル 15
4. **薬物動態試験：反復投与後の吸収** 16
4.1 薬物動態試験：反復投与後の吸収—経口、5 日間、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット 16
4.2 薬物動態試験：反復投与後の吸収—経口、26 週間、ラット 17
4.3 薬物動態試験：反復投与後の吸収—経口、39 週間、サル 18
5. **薬物動態試験：分布** 19
5.1 薬物動態試験：分布—定量的全身オートラジオルミノグラフィー、白色ラット 19
5.2 薬物動態試験：分布—定量的全身オートラジオルミノグラフィー、有色ラット 21
6. **薬物動態試験：タンパク結合** 23
6.1 薬物動態試験：タンパク結合—ミロガバリンベシル酸塩、マウス、ラット、サル、及びヒト 23
6.2 薬物動態試験：タンパク結合—A204-4455、ラット、サル、及びヒト 24
7. **薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験** 25
7.1 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験—吸収：反復経口投与 11 日間後、妊娠ラット 25
7.2 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験—吸収：反復経口投与 13 日間後、妊娠ウサギ 26
7.3 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験—胎盤通過性、ラット 27
7.4 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験—乳汁中排泄、ラット 29
8. **薬物動態試験：その他の分布試験** 30
8.1 薬物動態試験：その他の分布試験—血球分布、ラット、サル、及びヒト 30
9. **薬物動態試験：代謝：*In Vivo*** 31
9.1 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* —代謝物構造解析、マウス、ラット、及びサル 31
9.2 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* —代謝物定量プロファイル、ラット及びサル 32
10. **薬物動態試験：代謝：*In Vitro*** 33
11. **薬物動態試験：推定代謝経路** 34
12. **薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害** 35
13. **薬物動態試験：排泄** 36

13.1　薬物動態試験：排泄—尿糞中、マウス、ラット、及びサル 36
14.　**薬物動態試験：排泄** 37
14.1　薬物動態試験：排泄—胆汁中、ラット 37
15.　**薬物動態試験：薬物相互作用** 38
16.　**薬物動態試験：その他** 39

1. 薬物動態試験：一覧表 (1/5)

			Test Article: Mirogabalin besylate		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Analytical Method					
Validation of LC-MS/MS method to determine mirogabalin concentrations in mouse plasma for kinetic analysis of mirogabalin besylate	B6C3F1 mouse plasma	Not applicable	[redacted], Japan	4.2.2.1-1	4.2.2.1
Abbreviated validation of LC-MS/MS method to determine mirogabalin and A204-4455 concentrations in rat plasma for toxicokinetic analysis in 2-week repeated dose toxicity study	F344/DuCrlCrlj rat plasma	Not applicable	[redacted], Japan	4.2.3.2-2	4.2.3.2
Validation of LC-MS/MS method to determine mirogabalin concentrations in rat plasma	F344/DuCrlCrlj rat plasma	Not applicable	[redacted], Japan	4.2.2.1-2	4.2.2.1
Validation of LC-MS/MS method to determine mirogabalin concentrations in rat and monkey plasma for toxicokinetic analysis of mirogabalin besylate	F344/DuCrlCrlj rat plasma Crl:CD(SD) rat plasma Cynomolgus monkey plasma	Not applicable	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.1-3	4.2.2.1
Validation of LC-/MS/MS method to determine mirogabalin concentrations in rat urine for toxicokinetic analysis of mirogabalin besylate	F344/DuCrlCrlj rat urine	Not applicable	[redacted], Japan	4.2.2.1-4	4.2.2.1
Validation of LC-MS/MS method to determine A204-4455 concentrations in rat plasma and urine for toxicokinetic analysis of mirogabalin besylate	F344/DuCrlCrlj rat plasma /urine	Not applicable	[redacted], Japan	4.2.2.1-5	4.2.2.1
Validation of LC-MS/MS method to determine A204-4455 concentrations in rat plasma (Sodium Heparin) for toxicokinetic analysis in 26-week repeated dose toxicity study	F344/DuCrlCrlj rat plasma	Not applicable	[redacted], USA	4.2.2.1-6	4.2.2.1

1. 薬物動態試験：一覧表 (2/5)

			Test Article: Mirogabalin besylate		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Validation of LC-MS/MS method to determine mirogabalin concentrations in rabbit plasma for toxicokinetic analysis of mirogabalin besylate	Kbl:NZW rabbit plasma	Not applicable	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.1-7	4.2.2.1
Abbreviated validation of LC-MS/MS method to determine mirogabalin and A204-4455 concentrations for toxicokinetic analysis in 2-week repeated dose toxicity study in monkeys	Cynomolgus monkey plasma	Not applicable	[redacted], Japan	4.2.3.2-8	4.2.3.2
Validation of LC-MS/MS method to determine mirogabalin concentrations in monkey plasma	Cynomolgus monkey plasma	Not applicable	[redacted] Japan	4.2.2.1-8	4.2.2.1
Validation of LC-MS/MS method to determine A204-4455 concentrations in monkey plasma (sodium heparin) for toxicokinetic analysis in 39-week repeated dose toxicity study	Cynomolgus monkey plasma	Not applicable	[redacted] USA	4.2.2.1-9	4.2.2.1
Partial Validation of LC-MS/MS method to determine mirogabalin concentrations in monkey plasma for kinetic analysis of mirogabalin besylate	Rhesus monkey plasma	Not applicable	[redacted], Japan	4.2.2.1-10	4.2.2.1
Absorption					
PK profile of mirogabalin in plasma	F344/DuCrlCrlj rat	Single oral or intravenous	[redacted], Japan	4.2.2.2-1	4.2.2.2
PK profile of radioactivity in blood and plasma	F344/DuCrlCrlj rat	Single oral	[redacted] Japan	4.2.2.2-2	4.2.2.2
PK profile of mirogabalin in plasma	Cynomolgus monkey	Single oral or intravenous	[redacted] Japan	4.2.2.2-3	4.2.2.2
PK profile of radioactivity in blood and plasma	Cynomolgus monkey	Single oral	[redacted] Japan	4.2.2.2-4	4.2.2.2
PK profile of mirogabalin in pharmacology study	BN/SsN Slc rat	Repeated oral	[redacted], Japan	4.2.2.2-5	4.2.2.2

1. 薬物動態試験：一覧表 (3/5)

			Test Article: Mirogabalin besylate		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
TK profile of mirogabalin in rat plasma in 26-week repeated dose toxicity study	F344/DuCrlCrlj rat	Repeated oral	[redacted] Japan	4.2.3.2-5	4.2.3.2
TK profile of A204-4455 in rat plasma in 26-week repeated dose toxicity study	F344/DuCrlCrlj rat	Repeated oral	[redacted] USA	4.2.3.2-6	4.2.3.2
TK profile of mirogabalin to investigate effect of mirogabalin on pregnant female rats and on development of the embryo and fetus	Crl:CD(SD) rat	Repeated oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.3.5.2-2	4.2.3.5.2
TK profile of mirogabalin to investigate effect of mirogabalin on pregnant female rats and on development of the embryo and fetus	Crl:CD(SD) rat	Repeated oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.3.5.2-3	4.2.3.5.2
TK profile of mirogabalin in monkey plasma in 39-week repeated dose toxicity study	Cynomolgus monkey	Repeated oral	[redacted] Japan	4.2.3.2-11	4.2.3.2
TK profile of A204-4455 in monkey plasma in 39-week repeated dose toxicity study	Cynomolgus monkey	Repeated oral	[redacted] USA	4.2.3.2-12	4.2.3.2
TK profile of mirogabalin to investigate effect of mirogabalin on pregnant female rabbits and on development of the embryo and fetus	Kbl:NZW rabbit	Repeated oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.3.5.2-5	4.2.3.5.2
Distribution					
Whole body autoradioluminography in albino rats	F344/DuCrlCrlj rat	Single oral	[redacted] Japan	4.2.2.3-1	4.2.2.3
Whole body autoradioluminography in pigmented rats	Long-Evans rat	Single oral	[redacted] Japan	4.2.2.3-2	4.2.2.3
Protein binding of mirogabalin in mouse plasma	Mouse plasma	In vitro	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.3-3	4.2.2.3
Protein binding of mirogabalin in rat, monkey, and human plasma	Rat, monkey, and human plasma	In vitro	[redacted] Japan	4.2.2.3-4	4.2.2.3
Protein binding of A204-4455 in rat, monkey, and human plasma	Rat, monkey, and human plasma	In vitro	[redacted] UK	4.2.2.3-5	4.2.2.3

1. 薬物動態試験：一覧表 (4/5)

			Test Article: Mirogabalin besylate		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Blood cell distribution	Rat, monkey, and human whole blood	In vitro	[redacted] Japan	4.2.2.3-6	4.2.2.3
Placental transfer in pregnant rats	F344/DuCrlCrlj pregnant rat	Whole-body autoradiography	[redacted] Japan	4.2.2.3-7	4.2.2.3
Metabolism					
Qualitative analysis for metabolites in mouse plasma and urine	B6C3F1/Crlj mouse	Single oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.4-1	4.2.2.4
Qualitative analysis for metabolites in rat plasma	F344/DuCrlCrlj rat	Single oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.4-2	4.2.2.4
Qualitative analysis for metabolites in rat urine	F344/DuCrlCrlj rat	Single oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.4-3	4.2.2.4
Qualitative analysis for metabolites in rat bile and feces	F344/DuCrlCrlj rat	Single oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.4-4	4.2.2.4
Qualitative analysis for metabolites in monkey plasma	Cynomolgus monkey	Single oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.4-5	4.2.2.4
Qualitative analysis for metabolites in monkey urine	Cynomolgus monkey	Single oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.4-6	4.2.2.4
Qualitative analysis for metabolites in monkey bile and feces	Cynomolgus monkey	Single oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.4-7	4.2.2.4
Quantitative analysis for metabolites in rat plasma, urine and feces	F344/DuCrlCrlj rat	Single oral	[redacted] Japan	4.2.2.4-8	4.2.2.4
Quantitative analysis for metabolites in monkey plasma, urine and feces	Cynomolgus monkey	Single oral	[redacted] Japan	4.2.2.4-9	4.2.2.4
Excretion					
Urinary and fecal excretion of radioactivity in mice	B6C3F1/Crlj mouse	Single oral	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	4.2.2.5-1	4.2.2.5
Urinary and fecal excretion of radioactivity in rats	F344/DuCrlCrlj rat	Single oral	[redacted] Japan	4.2.2.5-2	4.2.2.5
Urinary and fecal excretion of radioactivity in rats	F344/DuCrlCrlj rat	Single intravenous	[redacted] Japan	4.2.2.5-3	4.2.2.5

1. 薬物動態試験：一覧表 (5/5)

			Test Article: Mirogabalin besylate		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Urinary and fecal excretion of radioactivity in monkeys	Cynomolgus monkey	Single oral	[redacted], Japan	4.2.2.2-4	4.2.2.2
Biliary excretion of radioactivity in rats	F344/DuCrlCrlj rat	Single oral	[redacted] Japan	4.2.2.5-4	4.2.2.5
Biliary excretion of radioactivity in rats	F344/DuCrlCrlj rat	Single intravenous	[redacted] Japan	4.2.2.5-5	4.2.2.5
Excretion into milk of radioactivity	F344/DuCrlCrlj rat	Single oral	[redacted] Japan	4.2.2.5-6	4.2.2.5
Pharmacokinetic Drug Interactions					
Uptake study of mirogabalin using OAT1-, OAT3-, and OCT2-expressing cells	HEK293T cell	In vitro	Daiichi Sankyo Co., Ltd., Japan	5.3.2.2-3	5.3.2.2
Uptake study of mirogabalin using human OCT2/MATE1- and OCT2/MATE2-K-expressing cells	MDCKII cell	In vitro	[redacted] Hungary	5.3.2.2-4	5.3.2.2
Inhibitory potential of mirogabalin on OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, OATP1B1, OATP1B3, P-gp and BCRP using their expressing cells	S_2, HEK293, and Caco-2 cell	In vitro	[redacted] Japan	5.3.2.2-5	5.3.2.2
Evaluation of the inhibitory potential of mirogabalin in human MATE1 and MATE2-K expressing cell system	MDCKII cell	In vitro	[redacted] Hungary	5.3.2.2-6	5.3.2.2
Inhibitory potential of mirogabalin on CYP isoform activities in human liver microsomes	human liver microsome	In vitro	[redacted], Japan	5.3.2.2-7	5.3.2.2
Induction potential of mirogabalin in CYP3A4, CYP1A2 and CYP2B6 in fresh human hepatocytes	fresh human hepatocyte	In vitro	[redacted], Germany	5.3.2.2-8	5.3.2.2
Other					
No studies were conducted					

LC-MS/MS: liquid chromatography-tandem mass spectrometry, PK: pharmacokinetics, TK: toxicokinetics, CYP: cytochrome P450, MATE: multidrug and toxin extrusion, HEK: human embryonic kidney, MDCKII: Madin-Darby canine kidney strain II, OAT: organic anion transporter, OCT: organic cation transporter, OATP: organic anion transporting polypeptide, P-gp: P-glycoprotein, BCRP: breast cancer resistance protein

2. 分析方法及びバリデーション試験 (1/4)

Animal Species	**Mouse**	**Rat**		**Rat**
Analyte	Mirogabalin	Mirogabalin	A204-4455	Mirogabalin
Sample Matrix	Plasma	Plasma		Plasma
Pretreatment	Solid phase extraction	Protein precipitation by methanol/acetonitrile (1:1)		Solid phase extraction
Analytical Method	LC-MS/MS	LC-MS/MS		LC-MS/MS
Internal Standard	$^{2}H_5$-mirogabalin besylate (A205-9631)	*p*-acetophenetidine		$^{2}H_5$-mirogabalin besylate (A205-9631)
Quantification Range (ng/mL)	1 to 1000	20 to 20,000		1 to 1000
LLOQ (ng/mL)	1	20		1
Intra-assay Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)**	−7.5 to 13.5 1.7 to 7.0	−3.20 to 4.50 2.38 to 6.02	−11.3 to 3.00 3.82 to 6.07	−12.5 to 2.0 1.0 to 6.4
Inter-assay Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)**	−8.3 to 13.5 3.3 to 6.2	Standard samples for calibration curve and QC samples were measured several times and met within 15% of accuracy and 15% precision as a consequence.		−12.5 to 3.0 1.5 to 5.2
Dilution Reproducibility	2000	50		100
Stability	−80°C: 91 days	Not confirmed		Not confirmed
Freeze and Thaw Stability	5 cycles	Not confirmed		Not confirmed
Attachment Number	4.2.2.1-1	4.2.3.2-2		4.2.2.1-2

LLOQ: Lower limit of quantification
% RE = ([mean of measured concentration] − [theoretical concentration]) ÷ [theoretical concentration] ×100
% CV = [standard deviation] ÷ [mean of measured values] ×100

2. 分析方法及びバリデーション試験 (2/4)

Animal Species	**Rat**	**Rat**		**Rat**
Analyte	A204-4455	A204-4455		Mirogabalin
Sample Matrix	Plasma	Plasma	Urine	Urine
Pretreatment	Liquid-liquid extraction	Liquid-liquid extraction		Solid phase extraction
Analytical Method	LC-MS/MS	LC-MS/MS		LC-MS/MS
Internal Standard	$^{2}H_5$-A204-4455 (A212-6230)	$^{2}H_5$-A204-4455 (A212-6230)		$^{2}H_5$-mirogabalin besylate (A205-9631)
Quantification Range (ng/mL)	0.5 to 250	0.5 to 250	10 to 5000	100 to 100,000
LLOQ (ng/mL)	0.5	0.5	10	100
Intra-assay Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)**	 −12.6 to 13.3 0.8 to 9.7	 −2.0 to −4.6 1.0 to 2.9	 4.8 to 9.0 1.4 to 2.8	 −0.6 to 6.8 2.3 to 11.0
Inter-assay Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)**	 −6.8 to 8.0 3.4 to 8.5	 −2.7 to 0.0 2.0 to 5.4	 6.5 to 9.8 2.8 to 4.6	 3.6 to 5.0 2.9 to 10.5
Dilution Reproducibility	20	100		200
Stability	−80°C: 116 days	−80°C: 34 days		−80°C: 30 days
Freeze and Thaw Stability	4 cycles	5 cycles		5 cycles
Attachment Number	4.2.2.1-6	4.2.2.1-5		4.2.2.1-4

LLOQ: Lower limit of quantification
% RE = ([mean of measured concentration] − [theoretical concentration]) ÷ [theoretical concentration] ×100
% CV = [standard deviation] ÷ [mean of measured values] ×100

2. 分析方法及びバリデーション試験 (3/4)

Animal Species	**Rabbit**	**Rat**	**Monkey**	**Monkey**
Analyte	Mirogabalin	Mirogabalin		Mirogabalin
Sample Matrix	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Pretreatment	Solid phase extraction	Solid phase extraction		Solid phase extraction
Analytical Method	LC-MS/MS	LC-MS/MS		LC-MS/MS
Internal Standard	$^{2}H_5$-mirogabalin besylate (A205-9631)	$^{2}H_5$-mirogabalin besylate (A205-9631)		$^{2}H_5$-mirogabalin besylate (A205-9631)
Quantification Range (ng/mL)	1 to 1000	1 to 1000		1 to 1000
LLOQ (ng/mL)	1	1	1	1
Intra-assay Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)**	 −0.3 to 5.0 2.2 to 13.2	 −5.0 to −2.0 1.7 to 3.7	 −10.5 to −1.0 1.4 to 5.1	 −14.5 to 1.8 1.7 to 4.4
Inter-assay Reproducibility **Accuracy (% RE)**[a] **Precision (% CV)**[b]	 −4.5 to −2.4 3.4 to 6.1	 −3.9 to 5.0 2.8 to 8.7	 −0.2 to 2.0 2.5 to 5.4	 −14.5 to 8.8 4.2 to 6.9
Dilution Reproducibility	2000	2000		100
Stability	−80°C: 61 days	−80°C: 90 days		Not confirmed
Freeze and Thaw Stability	5 cycles	3 cycles		Not confirmed
Attachment Number	4.2.2.1-7	4.2.2.1-3		4.2.2.1-8

LLOQ: Lower limit of quantification
% RE = ([mean of measured concentration] − [theoretical concentration]) ÷ [theoretical concentration] ×100
% CV = [standard deviation] ÷ [mean of measured values] ×100

2. 分析方法及びバリデーション試験 (4/4)

Animal Species	**Monkey**	**Monkey**		**Monkey**
Analyte	A204-4455	Mirogabalin	A204-4455	Mirogabalin
Sample matrix	Plasma	Plasma		Rhesus monkey plasma
Pretreatment	Liquid-liquid extraction	Protein precipitation by methanol/acetonitrile (1:1)		Solid phase extraction
Analytical Method	LC-MS/MS	LC-MS/MS		LC-MS/MS
Internal Standard	$^{2}H_5$-A204-4455 (A212-6230)	*p*-acetophenetidine		$^{2}H_5$-mirogabalin besylate (A205-9631)
Quantification Range (ng/mL)	0.5 to 250	20 to 20,000		1 to 1000
LLOQ (ng/mL)	0.5	20		1
Intra-assay Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)**	−10.5 to 10.0 1.6 to 7.8	−4.60 to 12.5 1.72 to 5.69	−11.5 to 4.50 2.45 to 4.98	Specificity and linearity were confirmed.
Inter-assay Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)**	−8.9 to 8.0 2.0 to 6.3	Standard samples for calibration curve and QC samples were measured several times and met within 15% of accuracy and 15% precision as a consequence.		
Dilution Reproducibility	20	50		
Stability	−80°C: 265 days	Not confirmed		
Freeze and Thaw Stability	4 cycles	Not confirmed		
Attachment Number	4.2.2.1-9	4.2.3.2-8		4.2.2.1-10

LLOQ: Lower limit of quantification
% RE = ([mean of measured concentration] − [theoretical concentration]) ÷ [theoretical concentration] ×100
% CV = [standard deviation] ÷ [mean of measured values] ×100

3. 薬物動態試験：単回投与後の吸収

3.1 薬物動態試験：単回投与後の吸収—経口及び静脈内、ラット

			Test Article: Mirogabalin besylate	
			Location in CTD: 4.2.2.2	
			Attachment No.: 4.2.2.2-1	
Species	F344/DuCrlCrlj rat			F344/DuCrlCrlj rat
Gender (M/F)/Number of animals	M/3 at each dose			M/3
Feeding Condition	Fasted			Fed
Vehicle/Formulation	Water/Solution			Saline/Solution
Method of Administration	Oral			Intravenous
Dose (mg/kg as mirogabalin)	1, 3, 10			3
Sample	Plasma			Plasma
Sampling Time (h)	Predose, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24			Predose, 0.0833, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24
Analyte	Mirogabalin			Mirogabalin
Assay	LC-MS/MS			LC-MS/MS
PK Parameters	1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	3 mg/kg
Cmax (ng/mL)	731 ± 57	1730 ± 150	5170 ± 450	
Tmax (h)	0.33 ± 0.14	0.42 ± 0.14	0.50 ± 0.00	
$T_{1/2}$ (h)	3.77 ± 2.58	4.16 ± 0.62	5.43 ± 2.13	4.50 ± 1.62
AUCinf (ng·h/mL)	1360 ± 190	3660 ± 330	12900 ± 900	3750 ± 510
Absolute Oral Bioavailability (%)	Not applicable	97.6	Not applicable	
CL (mL/min/kg)				13.5 ± 1.8
Vss (L/kg)				1.73 ± 0.37

PK parameters values are expressed as mean of 3 animals with the standard deviation.

3.2　薬物動態試験：単回投与後の吸収—経口、ラット

		Test Article: ^{14}C-mirogabalin
		Location in CTD: 4.2.2.2
		Attachment No.: 4.2.2.2-2
Species	F344/DuCrlCrlj Rat	
Gender (M/F)/Number of animals	M/3	
Feeding Condition	Fasted	
Vehicle/Formulation	Saline/Solution	
Method of Administration	Oral	
Dose as mirogabalin	3.493 MBq/3 mg/kg	
Sample	Whole blood, Plasma	
Sampling Time (h)	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 48	
Analyte	Radioactivity, ^{14}C	
Assay	Liquid scintillation counting	
PK Parameters	Whole blood	Plasma
Cmax (ng eq./mL)	1430 ± 510	1580 ± 530
Tmax (h)	0.83 ± 0.29	0.83 ± 0.29
$T_{1/2}$ (h)	5.0 ± 0.6	6.6 ± 3.1
AUClast (ng eq.·h/mL)	5450 ± 1050	6170 ± 1340
AUCinf (ng eq.·h/mL)	5550 ± 1070	6290 ± 1360

PK parameters values are expressed as mean of 3 animals with the standard deviation.

3.3　薬物動態試験：単回投与後の吸収—経口及び静脈内、サル

			Test Article: Mirogabalin besylate	
			Location in CTD: 4.2.2.2	
			Attachment No.: 4.2.2.2-3	
Species	Cynomolgus monkey			Cynomolgus monkey
Gender (M/F)/Number of animals	M/3 at each dose			M/3
Feeding Condition	Fasted			Fasted
Vehicle/Formulation	Water/Solution			Saline/Solution
Method of Administration	Oral			Intravenous
Dose (mg/kg as mirogabalin)	1, 3, 10			3
Sample	Plasma			Plasma
Sampling Time (h)	Predose, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24			Predose, 0.833, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24
Analyte	Mirogabalin			Mirogabalin
Assay	LC-MS/MS			LC-MS/MS
PK Parameters	1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	3 mg/kg
Cmax (ng/mL)	643 ± 71	1220 ± 80	3890 ± 840	
Tmax (h)	0.83 ± 0.29	1.7 ± 0.6	1.5 ± 0.9	
$T_{1/2}$ (h)	4.04 ± 0.19	4.27 ± 1.16	4.89 ± 0.74	2.76 ± 1.10
AUCinf (ng·h/mL)	1780 ± 30	4680 ± 430	14800 ± 1300	5660 ± 950
Absolute Oral Bioavailability (%)	NA	85.2 ± 23.0	NA	
CL (mL/min/kg)				9.02 ± 1.64
Vss (L/kg)				1.04 ± 0.14

PK parameters values are expressed as mean of 3 animals with the standard deviation.
NA: Not applicable

3.4　薬物動態試験：単回投与後の吸収—経口、サル

	Test Article: ^{14}C-mirogabalin	
	Location in CTD: 4.2.2.2	
	Attachment No.: 4.2.2.2-4	
Species	Cynomolgus monkey	
Gender (M/F)/Number of animals	M/3	
Feeding Condition	Fasted	
Vehicle/Formulation	Water/Solution	
Method of Administration	Oral	
Dose as mirogabalin	4 MBq/3 mg/kg	
Sample	Whole blood, Plasma	
Sampling Time (h)	0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24	
Analyte	Radioactivity, ^{14}C	
Assay	Liquid scintillation counting	
PK Parameters	Whole blood	Plasma
Cmax (ng eq./mL)	1820 ± 870	1870 ± 830
Tmax (h)	0.7 ± 0.3	1.2 ± 0.8
$T_{1/2}$ (h)	3.8 ± 0.3	3.9 ± 0.5
AUClast (ng eq.·h/mL)	6220 ± 1380	6850 ± 1500
AUCinf (ng eq.·h/mL)	6260 ± 1370	6900 ± 1490

PK parameters values are expressed as mean of 3 animals with the standard deviation.

4. 薬物動態試験：反復投与後の吸収

4.1 薬物動態試験：反復投与後の吸収—経口、5 日間、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット

				Test Article: Mirogabalin besylate					
				Location in CTD: 4.2.2.2					
				Attachment No.: 4.2.2.2-5					
Species				BN/SsN Slc rat					
Gender (M/F)/Number of animals				M/3 at each dose					
Treatment				Streptozotocin-induced diabetic					
Feeding Condition				Feed					
Vehicle/Formulation				Water/Solution					
Method of Administration				Oral					
Dosage (mg/kg as mirogabalin)				2.5, 5, 10 twice a daily for 5 days					
Sample				Plasma					
Analyte				Mirogabalin					
Assay				LC-MS/MS					
PK Parameters									
Day of dosing	Day 1 (the 1st dosing)			Day 3 (the 5th dosing)			Day 5 (the 9th dosing)		
Dose (mg/kg)	2.5	5	10	2.5	5	10	2.5	5	10
Cmax (ng/mL)	495 ± 122	1460 ± 60	3220 ± 60	606 ± 76	1080 ± 420	2390 ± 280	546 ± 108	1040 ± 200	2520 ± 320
$AUC_{0\text{-}12h}$ (ng·h/mL)	2550 ± 790	7200 ± 1460	10900 ± 900	2650 ± 740	5280 ± 1160	10700 ± 2700	1930 ± 80	5230 ± 1150	15100 ± 4700

PK parameters values are expressed as mean of 3 animals with the standard deviation.

4.2　薬物動態試験：反復投与後の吸収—経口、26 週間、ラット

						Test Article: Mirogabalin besylate		
						Location in CTD: 4.2.3.2		
						Attachment No.: 4.2.3.2-5 and 4.2.3.2-6		
Dose (mg/kg/day as mirogabalin)	**Sex**	**Day**	**Mirogabalin**			**A204-4455**		
			$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	**Cmax (μg/mL)**	**Tmax (h)**	**$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)**	**Cmax (ng/mL)**	**Tmax (h)**
10	Male	1	9.84	3.01	1.0	195	49.0	1.0
		180	10.2	3.02	1.0	392	76.7	1.7
	Female	1	9.19	2.90	1.0	314	86.1	1.0
		180	10.1	3.19	1.0	607	153	1.0
30	Male	1	25.3	8.20	1.0	488	118	1.0
		180	29.6	7.56	1.0	1043	184	1.7
	Female	1	24.3	8.26	1.0	848	244	1.0
		180	29.0	7.73	1.0	1513	348	1.0
100	Male	1	96.1	14.3	1.0	1765	228	1.0
		180	108	23.3	1.0	3753	542	1.7
	Female	1	109	17.9	1.0	3821	500	1.0
		180	107	22.5	1.0	4752	725	1.0

Data represent the mean value of 3 animals.
For the details, see Module 2.6.7, Section 7.3.

4.3　薬物動態試験：反復投与後の吸収—経口、39 週間、サル

						Test Article: Mirogabalin besylate			
						Location in CTD: 4.2.3.2			
						Attachment No.: 4.2.3.2-11 and 4.2.3.2-12			
Dose (mg/kg/day as mirogabalin)	**Sex**	**Day**	**Mirogabalin**			**A204-4455**			
			$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	**Cmax (μg/mL)**	**Tmax (h)**	**$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)**	**Cmax (ng/mL)**	**Tmax (h)**
10	Male	1	19.2	4.24	1.0	462	68.7	1.5
		273	18.0	3.72	1.3	282	50.8	1.3
	Female	1	15.6	4.49	1.0	246	47.6	1.5
		273	18.6	5.30	1.3	280	59.1	1.8
30	Male	1	57.0	7.71	1.8	966	106	2.3
		273	58.1	13.9	1.0	796	136	1.8
	Female	1	44.2	12.1	1.0	624	154	1.3
		273	52.4	12.2	1.5	586	116	2.0
100	Male	1	182	17.2	3.3	3309	274	5.5
		273	195	28.4	1.3	2321	275	2.3
	Female	1	103	13.4	2.5	1252	140	3.3
		273	171	32.2	2.0	1529	227	2.5

Data represent the mean value of 4 animals.
For the details, see Module 2.6.7, Section 7.6.

5. 薬物動態試験：分布

5.1 薬物動態試験：分布—定量的全身オートラジオルミノグラフィー、白色ラット (1/2)

	Test Article: ^{14}C-mirogabalin						
	Location in CTD: 4.2.2.3						
	Attachment No.: 4.2.2.3-1						
Species	F344/DuCrlCrlj rat						
Gender (M/F)/Number of animals	M/1 at each time						
Feeding Condition	Fasted						
Vehicle/Formulation	Saline/Solution						
Method of Administration	Single oral						
Dose (mg/kg as mirogabalin)	3						
Radionuclide	^{14}C						
Specific Activity	3.495 MBq/3 mg						
Sampling Time (h)	0.5, 1, 4, 8, 24, 48, 96						
Assay	Quantitative whole body autoradioluminography						
	Radioactivity Concentration (ng eq./g tissue)						
Tissues/Organs	**0.5 h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**
Blood	3280	1990	165	NS	NS	NS	NS
Cerebrum	106	131	55.1	NS	NS	NS	NS
Cerebellum	161	155	62.3	NS	NS	NS	NS
Pituitary gland	2570	1710	199	NS	NS	NS	NS
Eyeball	469	358	90.1	NS	NS	NS	NS
Harderian gland	1600	1130	129	NS	NS	NS	NS
Thyroid gland	2130	1510	264	NS	NS	NS	NS
Mandibular gland	2620	1570	158	NS	NS	NS	NS
Thymus	2530	1590	161	NS	NS	NS	NS
Heart	2640	1510	182	NS	NS	NS	NS
Lung	3330	1750	201	NS	NS	NS	NS
Liver	9130	3510	340	152	NS	NS	NS

Lower limit of quantification = 22.3 ng eq./g tissue
Upper limit of quantification = 43800 ng eq./g tissue
AUQ: Above the upper limit of quantification, BLQ: Below the lower limit of quantification, NS: Not specified

5.1　薬物動態試験：分布—定量的全身オートラジオルミノグラフィー、白色ラット (2/2)

			Test Article: ^{14}C-mirogabalin				
			Location in CTD: 4.2.2.3				
			Attachment No.: 4.2.2.3-1				
	Radioactivity Concentration (ng eq./g tissue)						
Tissues/Organs	**0.5 h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**
Kidney	8210	4310	604	159	NS	NS	NS
Adrenal gland	3800	2040	292	NS	NS	NS	NS
Spleen	2430	1290	157	NS	NS	NS	NS
Pancreas	2830	1730	189	NS	NS	NS	NS
Fat	340	231	BLQ	NS	NS	NS	NS
Brown fat	1590	1170	108	45.1	NS	NS	NS
Bone	290	289	BLQ	NS	NS	NS	NS
Skeletal muscle	2230	1710	204	NS	NS	NS	NS
Skin	1460	1070	155	69.8	NS	NS	NS
Bone marrow	2290	1210	122	NS	NS	NS	NS
Testis	547	466	222	106	NS	NS	NS
Epididymis	2080	1610	357	NS	NS	NS	NS
Prostate gland	1660	1580	161	NS	NS	NS	NS
Urinary bladder	2500	2960	362	NS	NS	399	NS
Urine in bladder	AUQ	AUQ	18600	7120	598	66.5	NS
Stomach	3090	1910	194	NS	NS	NS	NS
Small intestine	4210	2610	3030	572	NS	NS	NS
Large intestine	2230	1770	211	NS	NS	NS	NS
Gastric contents	26400	41700	871	NS	NS	NS	NS
Small intestinal contents	AUQ	AUQ	38100	9780	N.S	NS	NS
Large intestinal contents	BLQ	99.4	7150	9610	439	106	131
Nasal cavity	4070	4390	3730	6420	605	NS	NS
Preputial gland	2210	3020	5380	3670	2200	761	609

Lower limit of quantification = 22.3 ng eq./g tissue
Upper limit of quantification = 43800 ng eq./g tissue
AUQ: Above the upper limit of quantification, BLQ: Below the lower limit of quantification, NS: Not specified

5.2　薬物動態試験：分布—定量的全身オートラジオルミノグラフィー、有色ラット (1/2)

	Test Article: ^{14}C-mirogabalin			
	Location in CTD: 4.2.2.3			
	Attachment No.: 4.2.2.3-2			
Species	Iar: Long-Evans rat			
Gender (M/F)/Number of animals	M/1 at each time			
Feeding Condition	Fasted			
Vehicle/Formulation	Saline/Solution			
Method of Administration	Single oral			
Dose (mg/kg as mirogabalin)	3			
Radionuclide	^{14}C			
Specific Activity	3.537 MBq/3 mg			
Sampling Time (h)	1, 4, 8, and 24 h postdose			
Assay	Quantitative whole body autoradioluminography			
	Radioactivity Concentration (ng eq./g tissue)			
Tissues/Organs	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**24 h**
Blood	2360	326	NS	NS
Cerebrum	172	NS	NS	NS
Cerebellum	204	NS	NS	NS
Pituitary gland	1990	NS	NS	NS
Eyeball	352	NS	NS	NS
Harderian gland	1010	183	NS	NS
Thyroid gland	1650	252	NS	NS
Mandibular gland	2200	349	NS	NS
Thymus	2060	252	NS	NS
Heart	2350	298	NS	NS
Lung	2390	349	NS	NS
Liver	4680	858	325	108
Kidney	10900	1810	401	104
Adrenal gland	3180	506	NS	NS

Lower limit of quantification = 22.1 ng/g tissue
Upper limit of quantification = 43500 ng eq./g tissue
AUQ: Above the upper limit of quantification, NS: Not specified

5.2　薬物動態試験：分布—定量的全身オートラジオルミノグラフィー、有色ラット (2/2)

	Test Article: ^{14}C-mirogabalin			
	Location in CTD: 4.2.2.3			
	Attachment No.: 4.2.2.3-2			
	Radioactivity Concentration (ng eq./g tissue)			
Tissues/Organs	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**24 h**
Spleen	2040	252	NS	NS
Pancreas	2380	347	NS	NS
Fat	254	71.3	NS	NS
Brown fat	1170	155	NS	NS
Bone	1340	259	NS	NS
Skeletal muscle	1940	433	NS	NS
Skin	1570	234	60.0	NS
Bone marrow	1960	269	NS	NS
Testis	493	328	154	NS
Epididymis	1670	547	62.4	NS
Prostate gland	1980	316	NS	NS
Urinary bladder	4520	2520	200	NS
Urine in bladder	AUQ	AUQ	7300	1010
Stomach	2950	332	242	NS
Small intestine	2800	4330	1900	246
Large intestine	2210	323	4450	NS
Gastric contents	AUQ	1680	3780	129
Small intestinal contents	19600	AUQ	11400	5210
Large intestinal contents	73.3	NS	26300	2610
Nasal cavity	9200	4000	17200	149
Preputial gland	2690	4990	4380	5330

Lower limit of quantification = 22.1 ng/g tissue
Upper limit of quantification = 43500 ng eq./g tissue
AUQ: Above the upper limit of quantification, NS: Not specified

6. 薬物動態試験：タンパク結合

6.1 薬物動態試験：タンパク結合—ミロガバリンベシル酸塩、マウス、ラット、サル、及びヒト

				Location in CTD: 4.2.2.3
Test Article	**^{14}C-mirogabalin**			**^{14}C-mirogabalin besylate**
Test system	In vitro			
Substrate Concentration (μg/mL as mirogabalin)	0.1, 1, 10			0.176, 1.76, 17.6
Sample	Plasma (F344/DuCrlCrlj rats, cynomolgus monkeys, humans), n = 3			Plasma (B6C3F1/Crlj mice), pool (n = 10)
	Ultracentrifugation			
Radionuclide	^{14}C			
Specific Radioactivity	8.82 MBq/mg			135 μCi/3.21 mg
Assay	Liquid scintillation counting			
	Plasma Protein Binding Ratio (%)			
Substrate Concentration (μg/mL)	**Rat**	**Monkey**	**Human**	**Mouse**
0.1	24.2 ± 0.4	10.7 ± 4.4	25.5 ± 2.3	
1	23.4 ± 1.0	12.3 ± 1.5	25.0 ± 1.9	
10	21.4 ± 0.4	12.0 ± 1.4	23.4 ± 2.1	
0.176				23.4[a]
1.76				18.0[a]
17.6				18.7[a]
Attachment Number	4.2.2.3-4			4.2.2.3-3

Data represent the mean of 3 samples with the standard deviation.
a: The mean value was calculated from duplicate data.

6.2 薬物動態試験：タンパク結合—A204-4455、ラット、サル、及びヒト

	Test Article: A204-4455		
	Location in CTD: 4.2.2.3		
	Attachment No.: 4.2.2.3-5		
Test system	In vitro		
Substrate Concentration (µg/mL)	0.01, 0.03, 0.3		
Sample	Plasma (Sprague Dawley CD rats, cynomolgus monkeys, humans), pool		
Method	Rapid equilibrium dialysis		
Analyte	A204-4455		
Assay	LC-MS/MS		
	Plasma Protein Binding Ratio (%)		
Substrate Concentration (µg/mL)	**Rat**	**Monkey**	**Human**
0.01	86.0 ± 6.5	62.7 ± 4.4	75.0 ± 4.9
0.03	83.0 ± 3.3[a]	68.0 ± 4.7	82.7 ± 0.7
0.3	83.4 ± 0.1	70.5 ± 0.6	80.4 ± 0.8

Data are expressed as mean of triplicate measurements with the standard deviation.
a: Data are expressed as mean of duplicate measurements due to device error.

7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

7.1 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験—吸収：反復経口投与 11 日間後、妊娠ラット

		Test Article: Mirogabalin besylate		
		Location in CTD: 4.2.3.5.2		
		Attachment No.: 4.2.3.5.2-2 and 4.2.3.5.2-3		
Dose (mg/kg as mirogabalin)	**Day of Dosing**	**Mirogabalin**		
		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	**Cmax (μg/mL)**	**Tmax (h)**
10	I	12.8	3.02	1.0
	II	15.5	4.57	1.0
30	I	33.3	7.92	1.0
	II	46.0	7.88	1.4
100	I	125	17.5	1.4
	II	171	21.5	1.8
300	I	267	26.1	2.2
	II	429	35.7	3.8
1000	I	558	42.1	2.5
	II	1120	84.3	4.5

Data represent the mean of 5 animals except that the data for Day 11 in 300 mg/kg group are of 4 animals.
Day 1 of dosing represents Day 7 of pregnancy.
For the details, see Module 2.6.7, Section 13.1 and Section 13.2.

7.2　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験—吸収：反復経口投与 13 日間後、妊娠ウサギ

		Test Article: Mirogabalin besylate		
		Location in CTD: 4.2.3.5.2		
		Attachment No.: 4.2.3.5.2-5		
Dose (mg/kg as mirogabalin)	**Day of Dosing**	**Mirogabalin**		
		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	**Cmax (μg/mL)**	**Tmax (h)**
10	1	10.3	3.46	1.0
	13	9.25	3.07	1.0
30	1	28.8	9.89	1.0
	13	21.1	9.21	1.0
100	1	101	27.8	1.0
	13	69.3	26.4	1.0

Data represent mean value of 5 animals except that the data for Day 13 in 30 mg/kg group are of 4 animals.
Day 1 of dosing represents Day 6 of pregnancy.
For the details, see Module 2.6.7, Section 13.3.

7.3　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験—胎盤通過性、ラット (1/2)

	Test Article: ^{14}C-mirogabalin			
	Location in CTD: 4.2.2.3			
	Attachment No.: 4.2.2.3-7			
Species	F344/DuCrlCrlj rat			
Gender (M/F)/Number of animals	F/1 at each time			
Feeding Condition	Fasted			
Vehicle/Formulation	Saline/Solution			
Method of Administration	Single oral			
Dose (mg/kg as mirogabalin)	3			
Radionuclide	^{14}C			
Specific Activity	3.664 MBq/3 mg			
Sampling Time (h)	0.5, 2, 24, 48			
Assay	Quantitative whole body autoradioluminography			
	Radioactivity Concentration (ng eq./g tissue)			
Tissues/Organs	**0.5 h**	**2 h**	**24 h**	**48 h**
Blood	2570	1230	NS	NS
Uterus	2550	1000	NS	NS
Ovary	2630	1250	NS	NS
Placenta	1980	1110	NS	NS
Amnion	1980	1000	NS	NS
Amniotic fluid	BLQ	38.4	NS	NS
Cerebellum	193	248	NS	NS
Cerebrum	159	166	NS	NS
Heart	2990	1470	NS	NS
Kidney	9190	3720	75.3	28.5
Liver	4830	1790	40.2	BLQ
Lung	2540	1070	NS	NS
Pituitary gland	2600	1340	NS	NS
Adrenal gland	3230	1590	NS	NS
Clitoral gland	3520	7210	7330	6350

Lower limit of quantification = 21.3 ng eq./g tissue
BLQ: Below the lower limit of quantification, NS: Not specified, meaning that the radioactivity in the tissue could not be confirmed by visual observation

7.3. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験—胎盤通過性、ラット (2/2)

		Test Article: ^{14}C-mirogabalin		
		Location in CTD: 4.2.2.3		
		Attachment No.: 4.2.2.3-7		
Tissues/Organs	**0.5 h**	**2 h**	**24 h**	**48 h**
Fetus Brain	183	273	NS	NS
Fetus Kidney	877	790	NS	NS
Fetus Liver	1020	687	NS	NS
Fetus Lung	996	708	NS	NS
Fetus[a]	757	675	NS	NS

a: As for fetus, the radioactivity detected inside the outline of each fetal whole body on the animal section was determined.
Lower limit of quantification = 21.3 ng eq./g tissue
BLQ: Below the lower limit of quantification, NS: Not specified, meaning that the radioactivity in the tissue could not be confirmed by visual observation

7.4　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験—乳汁中排泄、ラット

	Test Article: ^{14}C-mirogabalin
	Location in CTD: 4.2.2.3
	Attachment No.: 4.2.2.5-6
Species	F344/DuCrlCrlj rat
Lactating Date/Number of Animals	^{14}C-mirogabalin administered to dam on around 10th after delivery/ 3
Feeding Condition	Not fasted before dosing
Vehicle/Formulation	Saline
Method of Administration	Single oral
Dose (mg/kg as mirogabalin)	3.712 MBq/3 mg/kg
Radionuclide	^{14}C
Assay:	Liquid scintillation counting

	Radioactivity Concentration (ng eq./mL)								
Time	**0.25 h**	**0.5 h**	**1 h**	**2 h**	**4 h**	**6 h**	**8 h**	**24 h**	**48 h**
Milk	121 ± 29	206 ± 68	356 ± 67	429 ± 48	270 ± 37	147 ± 25	95.7 ± 21.0	33.8 ± 17.9	10.7 ± 1.5
Plasma	820 ± 186	918 ± 173	724 ± 101	549 ± 57	181 ± 41	113 ± 35	89.0 ± 19.4	24.2 ± 20.6	4.92 ± 1.35

PK Parameters	**Milk**	**Plasma**
Cmax (ng eq./mL)	429 ± 48	918 ± 173
Tmax (h)	2.0 ± 0.0	0.5 ± 0.0
$T_{1/2}$ (h)	11 ± 1	8.9 ± 1.2
AUClast (ng eq.·hr/mL)	3520 ± 50	3850 ± 230
AUCinf (ng eq.·hr/mL)	3690 ± 60	3910 ± 250

Data are expressed mean of 3 animals with the standard deviation.

8. 薬物動態試験：その他の分布試験

8.1 薬物動態試験：その他の分布試験—血球分布、ラット、サル、及びヒト

	Test Article: ^{14}C-mirogabalin		
	Location in CTD: 4.2.2.3		
	Attachment No.: 4.2.2.3-6		
Test System	In vitro		
Specific Radioactivity	8.82 MBq/mg		
Substrate Concentration (μg/mL as mirogabalin)	0.1, 1, 10		
Sample	Plasma (F344/DuCrlCrlj rats, cynomolgus monkeys, humans), n = 3		
Method	Centrifugation		
Analyte	Radioactivity, ^{14}C		
Assay	Liquid scintillation counting		
	Distribution Ratio of Radioactivity to Red Blood Cells (% in whole blood)		
Substrate Concentration (μg/mL)	**Rat**	**Monkey**	**Human**
0.1	37.7 ± 0.3	42.4 ± 2.0	37.3 ± 2.1
1	37.7 ± 0.8	42.3 ± 1.3	35.9 ± 1.6
10	37.5 ± 0.7	42.8 ± 1.5	35.5 ± 2.5
Substrate Concentration (μg/mL)	**Ratio of Blood to Plasma Concentration of Radioactivity**		
0.1	0.89 ± 0.01	0.91 ± 0.01	0.87 ± 0.01
1	0.90 ± 0.01	0.91 ± 0.02	0.85 ± 0.01
10	0.89 ± 0.01	0.92 ± 0.01	0.85 ± 0.00

Data are expressed as the mean of 3 experiments with the standard deviation.

9. 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

9.1 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* —代謝物構造解析、マウス、ラット、及びサル

		Test Article: ^{14}C-mirogabalin besylate (mouse) or ^{14}C-mirogabalin (rat, monkey)						
						Location in CTD: 4.2.2.4		
Species	**Sample**	**Observed Metabolites**						**Attachment Number**
		Mirogabalin	**A204-4455**	**Oxidized metabolites of mirogabalin**	**Glucuronides of mirogabalin**	***O*-glucuronides of oxidized metabolites of A204-4455**	**Others**	
Mouse	Plasma	○	○	ND	ND	ND	ND	4.2.2.4-1
	Urine	○	○	ND	○	ND	ND	
Rat	Plasma	○	○	○[a]	ND	ND	ND	4.2.2.4-2
	Urine	○	ND	ND	ND	ND	ND	4.2.2.4-3
	Feces	○	ND	ND	ND	ND	ND	4.2.2.4-4
	Bile	○	○	ND	○[b]	○[c]	○[d]	
Monkey	Plasma	○	○	○[e]	ND	ND	ND	4.2.2.4-5
	Urine	○	ND	ND	ND	ND	ND	4.2.2.4-6
	Feces	○	ND	ND	ND	ND	ND	4.2.2.4-7
	Bile	○	ND	ND	○[f]	ND	○[g]	

○: Detected, ND: Not detected
a: One peak was proposed to be the oxidized metabolite of the 3-ethylbicyclo[3.2.0]heptane moiety of mirogabalin.
b: Three peaks were proposed to be glucuronides of mirogabalin.
c: Two peaks were proposed to be O-glucuronides of oxidized metabolites of A204-4455.
d: The chemical structure of the peak could not be elucidated because the sample amount was insufficient.
e: Two peaks was proposed to be the oxidized metabolites of the 3-ethylbicyclo[3.2.0]heptane moiety of mirogabalin.
f: Two peaks were proposed to be glucuronides of mirogabalin.
g: The chemical structure of two peaks could not be elucidated because the sample amount was insufficient.

9.2 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* —代謝物定量プロファイル、ラット及びサル

							Test Article: ^{14}C-mirogabalin	
							Location in CTD: 4.2.2.4	
Species			Rat and monkey					
Gender (M/F)/Number of animals			M/3					
Feeding Condition			Fasted					
Vehicle/Formulation			0.5% (w/v) methylcellulose solution/Solution					
Method of Administration			Single oral					
Dose (mg/kg as mirogabalin)			100 mg/kg					
Sampling Time			Plasma: 1,4 hours for rats, 3, 8 hours for monkeys, Urine and feces: 24 hours					
Radionuclide/Specific Activity			^{14}C, 629 kBq/100 mg					
Assay			Liquid scintillation counting					
Species	**Sample**	**Sampling Time or Period**	**% of Compound in Sample**		**% of Dose**			**Attachment Number**
			Mirogabalin	**Other**	**Mirogabalin**	**Other**	**Total**	
Rat	Plasma	1 h	84.0 ± 1.9	16.0 ± 1.8	Not Applied			4.2.2.4-8
		4 h	75.5 ± 11.5	24.5 ± 11.6				
	Urine	0-24 h	90.2 ± 0.6	9.9 ± 0.6	76.0 ± 2.2	8.4 ± 0.5	84.3 ± 2.1	
	Feces	0-24 h	60.1 ± 18.8	39.9 ± 18.9	2.6 ± 2.0	1.4 ± 0.3	4.0 ± 1.8	
Monkey	Plasma	3 h	91.5 ± 3.7	8.5 ± 3.7	Not Applied			4.2.2.4-9
		8 h	77.1 ± 7.0	23.0 ± 7.1				
	Urine	0-24 h	81.9 ± 3.7	18.1 ± 3.8	42.2 ± 14.2	9.7 ± 4.5	51.9 ± 18.4	
	Feces	0-24 h	93.3 ± 1.6	6.6 ± 1.5	9.7 ± 8.7	0.6 ± 0.6	10.3 ± 9.2	

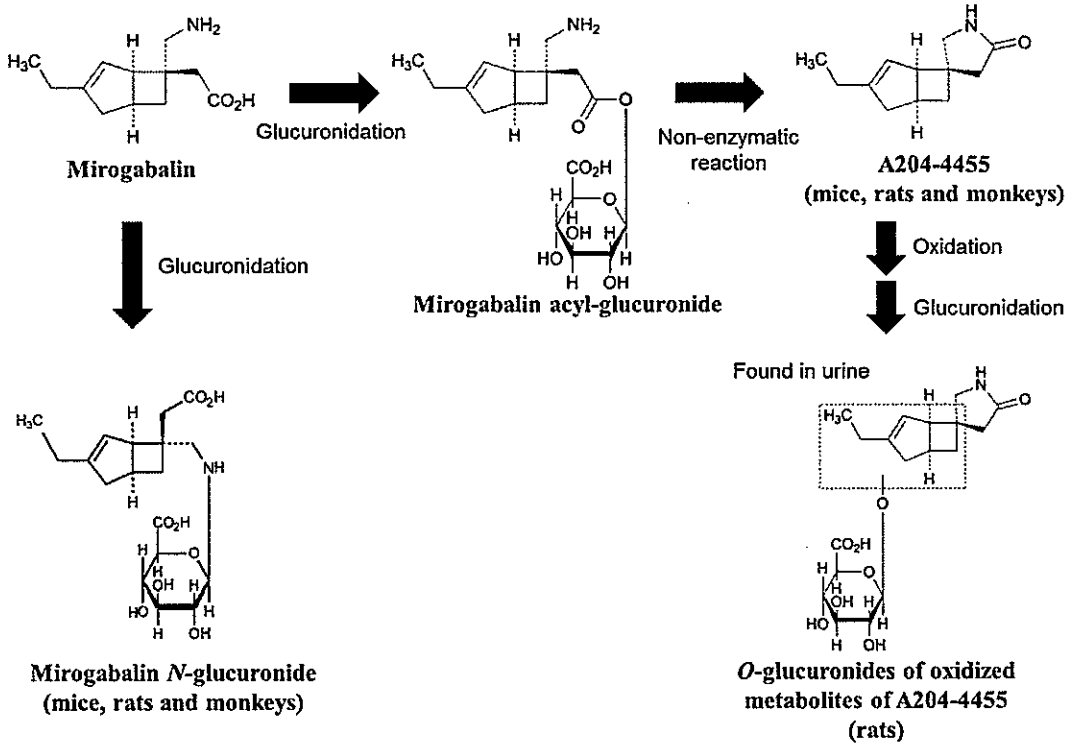
Data are expressed as the mean of 3 animals with the standard deviation.

10. 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

本申請で該当する試験は実施していない。

11. 薬物動態試験：推定代謝経路

	Test Article: ^{14}C-mirogabalin or ^{14}C-mirogabalin besylate



Glucuronidation using human liver microsomes and UDPGA produced A204-4455 from mirogabalin and mirogabalin acylglucuronide in water rapidly changed to A204-4455, suggesting mirogabalin glucuronide observed in mouse urine, rat and monkey bile was mirogabalin *N*-glucuronide. Identified and proposed metabolites observed in mice, rats and monkeys were mirogabalin, A204-4455, mirogabalin *N*-glucuronide and *O*-glucuronides of oxidized metabolites of A204-4455. These metabolites were also observed in human urine (See the clinical pharmacology written summary Module 2.7.2).

12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.7.2 項に記載

13. 薬物動態試験：排泄

13.1 薬物動態試験：排泄—尿糞中、マウス、ラット、及びサル

Test Article		^{14}C-mirogabalin besylate			^{14}C-mirogabalin								
Species		B6C3F1/Crlj mouse			F344/DuCrlCrlj rat			F344/DuCrlCrlj rat			Cynomolgus monkey		
Gender(M/F)/ Number of Animals		M/3											
Feeding Condition		Fasted											
Vehicle/Formulation		Water/Solution			Saline/Solution			Saline/Solution			Water/Solution		
Method of Administration		Single oral			Single oral			Single intravenous			Single oral		
Dose (mg/kg)		100			3								
Sample		Feces and urine including cage washing											
Sampling Time (h)		24, 48, 72, 96			6, 24, 48, 72, 120, 168						24, 48, 72, 120, 168		
Specific Activity		675 μCi/kg			3.495 MBq/kg			3.581 MBq/kg			3.7 MBq/kg		
Analyte/Assay		Radioactivity, ^{14}C/Liquid scintillation counting											
		Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)											
		Mouse (oral)			Rat (oral)			Rat (intravenous)			Monkey (oral)		
Excretion Route		Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total	Urine[a]	Feces	Total
Sampling Time	0 - 24 h	72.1 ± 0.4	10.5 ± 2.2	82.6 ± 2.0	92.5 ± 1.4	2.1 ± 0.4	94.7 ± 1.6	91.4 ± 1.4	2.3 ± 1.2	93.7 ± 0.2	70.21 ± 8.71	6.54 ± 5.25	76.75 ± 10.21
	0 - 168 h[b]	80.8 ± 2.1	12.3 ± 2.5	93.1 ± 0.5	94.5 ± 1.3	3.2 ± 0.3	97.6 ± 1.1	93.3 ± 1.4	2.7 ± 1.0	96.0 ± 0.5	77.75 ± 6.73	9.60 ± 5.45	87.35 ± 9.06
Attachment Number		4.2.2.5-1			4.2.2.5-2			4.2.2.5-3			4.2.2.2-4		
Location in CTD		4.2.2.5									4.2.2.2		

Data are expressed as the mean of 3 animals with the standard deviation.
a: Urine including cage washing.
b: For mouse, sampling time was 0 to 96 hrs.

14. 薬物動態試験：排泄

14.1 薬物動態試験：排泄—胆汁中、ラット

		Test Article: ^{14}C-mirogabalin							
Species		F344/DuCrlCrlj rat							
Gender (M/F)/Number of Animals		M/3							
Feeding Condition		Fasted							
Vehicle/Formulation		Saline/Solution							
Method of Administration		Single oral and intravenous							
Dose (mg/kg as mirogabalin)		3							
Sample		Bile, urine, and feces							
Sampling Time (h)		6, 24, 48							
Specific Activity		Oral: 3.495 MBq/kg, Intravenous: 3.581 MBq/kg							
Analyte		Radioactivity in bile, ^{14}C							
Assay		Liquid scintillation counting							
		Cumulative excretion of radioactivity (% of dose)							
		Oral Administration				Intravenous Administration			
Excretion Route		Bile	Urine	Feces	Total	Bile	Urine	Feces	Total
Sampling Time	**0 - 24 h**	8.7 ± 0.3	86.1 ± 1.6	0.2 ± 0.2	95.0 ± 2.0	5.9 ± 0.8	90.3 ± 0.6	0.0 ± 0.1	96.3 ± 0.5
	0 - 48 h	8.8 ± 0.3	88.9 ± 1.0	0.7 ± 0.3	98.4 ± 1.1	5.9 ± 0.8	90.9 ± 0.8	0.0 ± 0.1	96.9 ± 0.4
Attachment Number		4.2.2.5-4				4.2.2.5-5			
Location in CTD		4.2.2.5							

Data are expressed as the mean of 3 animals with the standard deviation.

15. 薬物動態試験：薬物相互作用

2.7.2 項に記載

16. 薬物動態試験：その他

本申請で該当する試験は実施していない。