2.6.4 薬物動態試験の概要文

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 3
2.6.4.1 まとめ 5
2.6.4.2 分析法 11
2.6.4.3 吸収 12
2.6.4.4 分布 16
2.6.4.5 代謝 18
2.6.4.6 排泄 25
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 26
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 27
2.6.4.9 考察及び結論 29
2.6.4.10 図表 32
2.6.4.11 参考文献 32

2.6.4 薬物動態試験の概要文

本項で使用した用語及び略号を表 2.6.4-1 に，関連化合物の名称を表 2.6.4-2 に示す.

表 2.6.4-1 用語及び略号一覧

用語及び略号	内容又は日本語名称
^{14}C-	^{14}C 標識
^{3}H-	^{3}H 標識
AUC	血漿中又は組織中濃度－時間曲線下面積
AUC24h	投与後 24 時間までの AUC
AUCinf	投与後無限大時間までの AUC
AUClast	最終定量時点までの AUC
BA	生物学的利用率
BCRP	Breast cancer resistance protein
CL	クリアランス
CLint	固有クリアランス
CLint,u	非結合型 CLint
Cmax	最高血漿中濃度又は最高組織中濃度
CYP	シトクロム P450
EC_{50}	50%有効濃度
Emax	最大効果
Encorafenib	エンコラフェニブ
IC_{50}	50%阻害濃度
K_I	最大不活性化速度の 1/2 の不活性化をもたらす濃度
k_{inact}	最大不活性化速度定数
Km	ミカエリス定数
Km,u	非結合型 Km
LC/MS	液体クロマトグラフィー／マススペクトロメトリー
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー／タンデムマススペクトロメトリー
LSC	液体シンチレーションカウンター
mRNA	メッセンジャーリボ核酸
MRP	Multidrug resistance-associated protein
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（還元型）
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
P-gp	P-糖蛋白質
PXR	Pregnane X receptor
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー
Radio-HPLC	放射能検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー
Rb	血液／血漿中濃度比
T1/2	消失半減期
Tmax	最高血漿中濃度到達時間又は最高組織中濃度到達時間
UDPGA	ウリジン-5’-二リン酸-グルクロン酸
UGT	ウリジン-5’-二リン酸-グルクロン酸転移酵素
Vmax	最大速度
Vss	定常状態での分布容積

表 2.6.4-2　関連化合物の一覧

名称	その他の名称
Encorafenib	LGX818
LHY746	M42.5A

2.6.4.1 まとめ

薬物動態試験では，*in vitro* 試験及び *in vivo* 試験で encorafenib 又は ^{14}C-encorafenib の薬物動態を評価した．*In vivo* 試験では，有効性薬理試験及び毒性試験と同種のマウス（BALB/c 系），ラット（Wistar 系及び Wistar Hannover 系）及びサル（カニクイザル）を用いて，静脈内投与で評価した一部の試験を除き，臨床投与経路である経口投与で評価した．

生体試料中放射能濃度の分析には LSC，試料中放射能の組成分析には radio-HPLC，組織分布試験の分析には QWBA，血漿中 encorafenib 濃度の分析には LC/MS/MS を用いた．

2.6.4.1.1 吸収

マウス，ラット及びサルに encorafenib 又は ^{14}C-encorafenib を単回経口投与したとき，BA はそれぞれ 42.6，42 及び 22%であった．T1/2 はマウス，ラット及びサルでそれぞれ 1.42，2.37～7.6 及び 1.4 時間であった．マウス，ラット及びサルに encorafenib 又は ^{14}C-encorafenib を単回静脈内投与したとき，CL はそれぞれ 4.34，1.42，及び 20.0 mL/min/kg，Vss はそれぞれ 0.10，0.31 及び 1.0 L/kg であった．ラット及びサルに encorafenib を反復経口投与したとき，encorafenib の血漿中曝露量は概ね投与量に比例して増加し，蓄積性は認められなかった．

Encorafenib は P-gp の基質であったものの，Caco-2 細胞における encorafenib の頂端膜側から基底膜側への透過係数は P-gp 阻害剤存在下で 67.4×10^{-5}～76.0×10^{-5} cm/min であり，膜透過性の高いプロプラノロール（79.2×10^{-5} cm/min）と同程度であることから，受動的膜透過性が高いことが示された．

2.6.4.1.2 分布

有色ラットに ^{14}C-encorafenib を単回経口投与したとき，放射能は組織に広く分布し，放射能濃度の Tmax はほとんどの組織で 0.25～2 時間であった．脳及び脊髄への移行性は低かった．また，放射能はメラニン含有組織に残留しなかった．

Encorafenib の血漿蛋白結合率はマウス，ラット，サル及びヒトでそれぞれ 98.6，98.1，74.6 及び 86.1%であった．また，Rb はラット，サル及びヒトでそれぞれ 0.61，0.76 及び 0.75 であった．

ヒト血漿中の主な代謝物である LHY746 の血漿蛋白結合率はラット，サル及びヒトでそれぞれ 95.8～97.1，89.6～89.7，及び 88.6~89.4%であった．

2.6.4.1.3 代謝

ラット，サル及びヒトの肝細胞と ^{14}C-encorafenib をインキュベーションしたときの主な代謝物は，ラットで *N*-脱アルキル化体（M32.7 及び M23.8），サルで *N*-脱アルキル化体

（M32.7，M23.8 及び LHY746）並びに水酸化体（M36.5）であった．ヒトでは M32.7 のグルクロン酸抱合体である M17.3 が最も多く，*N*-脱アルキル化体（LHY746，M32.7 及び M23.8）並びに水酸化体（M42.5B，M46.3 及び M36.5）も検出された．他の動物種と比較してヒトでは未変化体及び代謝物のグルクロン酸抱合体が多く検出された．M46.3，グルクロン酸抱合体（M35 及び M39.4），代謝物のグルクロン酸抱合体（M12.8，M31A，M33.8 及び M38），グルコース抱合体（M31.8）及び代謝物のグルコース抱合体（M19.6）はヒト肝細胞でのみ検出された．

ラットに ^{14}C-encorafenib を経口投与したとき，血漿中には主に未変化体が存在し，血漿中総放射能の 85%であった．ラット血漿中の主な代謝物は *N*-脱アルキル化体（M23.8，M32.7 及び LHY746）であり，いずれも血漿中総放射能の 3.8%以下であった．サルに ^{14}C-encorafenib を経口投与したとき，未変化体は血漿中総放射能の 10%であり，血漿中の主な代謝物は M22.5A 及び *N*-脱アルキル化体（M23.8，M32.7 及び LHY746）であった．血漿中総放射能に占める M22.5A，M23.8，M32.7 及び LHY746 の割合はそれぞれ 42，12，6.1 及び 4.9%であった．未変化体から M22.5A への代謝には *in vitro* で推定された代謝経路（*N*-脱アルキル化，水酸化，加水分解及び酸化的脱アミノ化）が複合的に関与していると考えられた．

Encorafenib は主に CYP3A4，CYP2C19 及び CYP2D6 により代謝され，ヒト肝ミクロソームにおける encorafenib の代謝への寄与率はそれぞれ 83.3，16.0 及び 0.71%と推定された．また，LHY746 は主に CYP2C19，CYP2C9 及び CYP3A4 により代謝され，ヒト肝ミクロソームにおける LHY746 の代謝への寄与率はそれぞれ 70.1，20.8 及び 9.1%と推定された．

Encorafenib は水酸化，*N*-脱アルキル化及び *N*-脱アルキル化後のグルクロン酸抱合を含む複数の代謝経路で代謝され，推定代謝経路はラット，サル及びヒトで類似していた．

2.6.4.1.4 排泄

ラットに ^{14}C-encorafenib を経口投与したとき，尿及び糞中に投与放射能量の 12.2 及び 85.1%が排泄され，未変化体排泄率はそれぞれ 0.05 及び 45.7%であった．ラットに ^{14}C-encorafenib を静脈内投与したとき，尿及び糞中に投与放射能量の 24.3 及び 74.1%が排泄され，未変化体排泄率はそれぞれ 0.20 及び 9.96%であった．いずれの投与経路でも尿中の主な代謝物は M23.8，糞中の主な代謝物は M32.7 であった．尿及び糞中の *N*-脱アルキル化体（M23.8 及び M32.7）の総和が投与放射能量に占める割合は経口投与時が 35.1%，静脈内投与時が 61.3%であった．胆管カニューレ処置したラットに ^{14}C-encorafenib を経口及び静脈内投与したとき，胆汁中に投与放射能量の 28.2 及び 41.5%が排泄され，未変化体排泄率はそれぞれ 0.87 及び 1.33%であった．胆汁中の主な代謝物は M23.8 及び M32.7 であった．

サルに ^{14}C-encorafenib を経口投与したとき，尿及び糞中に投与放射能量の 17.4 及び 59.7%が排泄され，未変化体排泄率はそれぞれ 0.16 及び 6.03%であった．サルに ^{14}C-encorafenib を静脈内投与したとき，尿及び糞中に投与放射能量の 14.4 及び 68.2%が排泄され，未変化体排泄率はそれぞれ 0.08 及び 2.43%であった．いずれの投与経路でも，尿中の主な代謝物は *N*-脱アルキル化体（M23.8 及び M32.7）並びに水酸化と *N*-脱アルキル化の両方を受けた代謝物（M28.3），糞中の主な代謝物は水酸化体（M36.5），*N*-脱アルキル化体（M32.7）及び M36.5 の酸化体（M30.6）であった．尿及び糞中の 5 種の主な代謝物（M23.8，M32.7，M28.3，M36.5 及び M30.6）の総和が投与放射能量に占める割合は経口投与時が 44.3%，静脈内投与時が 50.1%であった．

2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用

ヒト肝ミクロソームにおいて，encorafenib は CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A を可逆的に阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 22，1，20～30，5，50，25 及び 8～15 μmol/L であった．また，encorafenib は CYP3A を時間依存的に阻害し，K_I 値は 20.5 μmol/L，k_{inact} 値は 0.0527 min^{-1} であった．ヒト肝ミクロソームにおいて，encorafenib は UGT1A1 を阻害し，IC_{50} 値は 1～7 μmol/L であった．Encorafenib は PXR のアゴニストであり，ヒト肝細胞において CYP1A2，CYP2B6，CYP2C9 及び CYP3A4 を誘導した．CYP3A4 mRNA の発現誘導に対する EC_{50} 値は 10.2 μmol/L，Emax 値は 169 倍であった．Encorafenib は BCRP，OCT1，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 及び OAT3 を阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 10～25，12.7，5.35，6.16，2.05，4.20 及び 0.92 μmol/L であった．

ヒト肝ミクロソームにおいて，LHY746 は CYP2C8 及び CYP2C9 を阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 9.5 及び 8.3 μmol/L であった．LHY746 は P-gp，BCRP，OATP1B1，OCT2 及び OAT3 を阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 69.4，22.6，46.6，66.3 及び 9.44 μmol/L であった．

非臨床薬物動態試験の概要を表 2.6.4.1-1 に示す．

表 2.6.4.1-1　非臨床薬物動態試験の概要

CTD 記載箇所	試験系	投与経路／用量，又は 添加濃度	試験目的
吸収			
4.2.2.2-1	雄 Balb/c 系マウス	経口／10 mg/kg 静脈内／2 mg/kg	マウスにおける encorafenib の薬物動態を検討する．
4.2.2.2-2	雄 Wistar Hannover 系ラット	経口／50 mg/kg 静脈内／5 mg/kg	ラットにおける ^{14}C-encorafenib の薬物動態を検討する．
4.2.2.2-3	雄 Wistar 系ラット	経口／10 mg/kg 静脈内／3 mg/kg	ラットにおける encorafenib の薬物動態を検討する．
4.2.2.2-4	雄カニクイザル	経口／20 mg/kg 静脈内／3 mg/kg	サルにおける ^{14}C-encorafenib の薬物動態を検討する．
4.2.3.2-2	雌雄 Wistar Hannover 系ラット	経口／6，20，60 mg/kg	ラットにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験で，encorafenib の薬物動態を検討する．
4.2.3.2-5	雌雄カニクイザル	経口／20，60 mg/kg	サルにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験で，encorafenib の薬物動態を検討する．
分布			
4.2.2.3-1	雄 Wistar Hannover 系ラット及び雄 Long-Evans 系ラット	経口／50 mg/kg 静脈内／5 mg/kg	ラットにおける ^{14}C-encorafenib の組織分布を検討する
4.2.2.3-2	マウス，ラット，サル及びヒト血液並びに血漿	50～50000 ng/mL	超遠心法を用いて，マウス，ラット，サル及びヒトにおける *in vitro* 血漿蛋白結合を検討する．ラット，サル及びヒトの血球移行を検討する．
代謝			
4.2.2.4-1	ラット，サル及びヒト肝細胞	2.5，12.5 μ mol/L	肝細胞における encorafenib の *in vitro* 代謝を検討し，*in vitro* 代謝速度を評価する．
5.3.2.2-1	ヒト肝ミクロソーム，ヒト CYP 発現系ミクロソーム及びヒト UGT 発現系ミクロソーム	0.97～224， 38，64 μ mol//L	ヒト肝ミクロソームにおける ^{14}C-encorafenib の *in vitro* 代謝を検討し，*in vitro* 代謝速度を評価する． Encorafenib の代謝に関与する代謝酵素を推定する．

2.6.4 薬物動態試験の概要文
エンコラフェニブ

CTD 記載箇所	試験系	投与経路／用量，又は添加濃度	試験目的
4.2.2.2-2	雄 Wistar Hannover 系ラット血漿，尿，糞及び胆汁	経口／50 mg/kg 静脈内／5 mg/kg	ラットにおける ^{14}C-encorafenib の代謝を検討する．
4.2.2.2-4	雄カニクイザル血漿，尿及び糞	経口／20 mg/kg 静脈内／3 mg/kg	サルにおける ^{14}C-encorafenib の代謝を検討する．
5.3.2.2-2	ヒト CYP 発現系ミクロソーム	1.73～278 μ mol/L	Encorafenib の酸化代謝に関与する各 CYP 分子種の寄与率を推定する．
5.3.2.2-3	ヒト肝ミクロソーム	0.5～100 μ mol/L	各 CYP 分子種に対する encorafenib の阻害作用を検討する．
5.3.2.2-4	ヒト肝ミクロソーム及びヒト UGT1A1 発現系ミクロソーム	0.5～100 μ mol/L	UGT1A1 に対する encorafenib の阻害作用を検討する．
5.3.2.2-5	DPX-2 細胞	0.5～50 μ mol/L	Encorafenib の PXR 活性化作用を検討する．
5.3.2.2-6	ヒト肝細胞	0.5～100 μ mol/L	CYP3A4 に対する encorafenib の誘導作用を検討する．
5.3.2.2-7	ヒト肝細胞	1～100 μ mol/L	CYP1A2，CYP2B6，CYP2C9 及び CYP3A4 に対する encorafenib の誘導作用を検討する．
排泄			
4.2.2.2-2	雄 Wistar Hannover 系ラット	経口／50 mg/kg 静脈内／5 mg/kg	ラットにおける ^{14}C-encorafenib の尿，糞及び胆汁中排泄を検討する．
4.2.2.2-4	雄カニクイザル	経口／20 mg/kg 静脈内／3 mg/kg	サルにおける ^{14}C-encorafenib の尿及び糞中排泄を検討する．
薬物相互作用			
5.3.2.2-8	Caco-2 細胞	4.8，25 μ mol/L	Encorafenib の膜透過性を検討する．Encorafenib が P-gp，BCRP 及び MRP2 の基質となるかを検討する．
5.3.2.2-9	ヒト肝細胞	28 μ mol/L	Encorafenib が OCT1，OATP1B1，OATP1B3 及び OATP2B1 の基質となるか検討する．
5.3.2.2-10	P-gp 発現細胞，BCRP 発現細胞及び MRP2 発現細胞	P-gp 及び BCRP：0.1～50 μ mol/L MRP2：5，50 μ mol/L	Encorafenib が P-gp，BCRP 及び MRP2 の阻害剤となるかを検討する．
5.3.2.2-11	OATP1B1 発現細胞及び OATP1B3 発現細胞	1～100 μ mol/L	Encorafenib が OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害剤となるかを検討する．

2.6.4 薬物動態試験の概要文
エンコラフェニブ

CTD 記載箇所	試験系	投与経路／用量，又は添加濃度	試験目的
5.3.2.2-12	OAT1 発現細胞，OAT3 発現細胞及び OCT2 発現細胞	OAT1：1～25 μ mol/L，OAT3 及び OCT2：1～50 μ mol/L	Encorafenib が OAT1，OAT3 の及び OCT2 の阻害剤となるかを検討する．
5.3.2.2-13	OCT1 発現細胞	1～100 μ mol/L	Encorafenib が OCT1 の阻害剤となるかを検討する．
その他			
4.2.2.7-1	ラット，サル及びヒト血漿	1，10 μ mol/L	平衡透析法を用いて，LHY746 のラット，サル及びヒトにおける *in vitro* 血漿蛋白結合を検討する．
5.3.2.2-14	ヒト CYP 発現系ミクロソーム	1 μ mol/L	LHY746 の酸化代謝に関与する各 CYP 分子種の寄与率を推定する．
5.3.2.2-15	ヒト肝ミクロソーム	0.1～50 μ mol/L	各 CYP 分子種に対する LHY746 の阻害作用を検討する．
5.3.2.2-16	P-gp 発現細胞，BCRP 発現細胞，OATP1B1 発現細胞，OATP1B3 発現細胞，OCT2 発現細胞，OAT1 発現細胞及び OAT3 発現細胞	0.3～100 μ mol/L	各トランスポーターに対する LHY746 の阻害作用を検討する．
4.2.2.7-2	雄カニクイザル	経口／60 mg/kg	サルにおける encorafenib の [redacted] の薬物動態を検討する．

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 被験物質

薬物動態試験では，^{14}C-encorafenib 及び非標識 encorafenib を使用した．^{14}C-encorafenib の構造式を図 2.6.4.2.1-1 に示した．

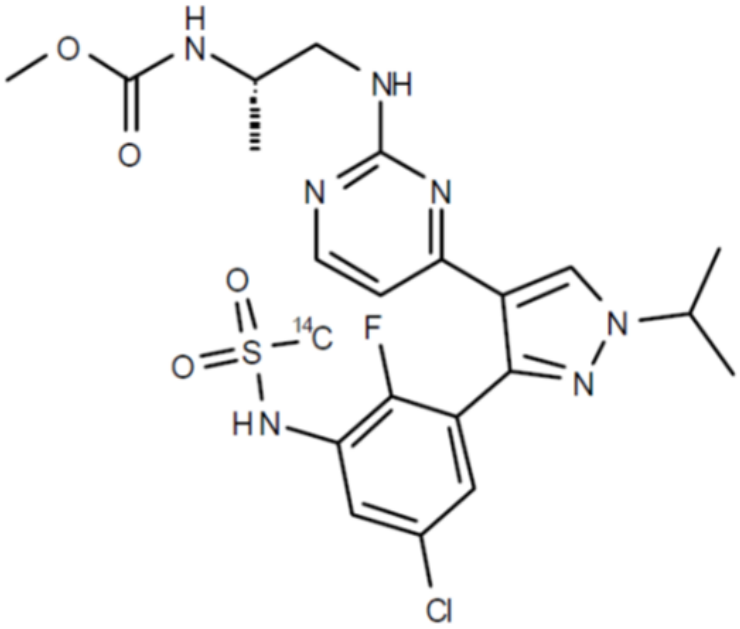


図 2.6.4.2.1-1 ^{14}C-encorafenib の構造式

2.6.4.2.2 標識化合物を用いた試験の分析法

生体試料中の放射能濃度は LSC，組織分布試験における放射能濃度は QWBA で分析した．代謝物の組成分析は radio-HPLC，構造推定は LC/MS 及び LC/MS/MS を用いた．

2.6.4.2.3 非標識化合物を用いた試験の分析法

［評価資料：4.2.2.1-1 及び 4.2.2.1-2］

Encorafenib 及びその代謝物の分析は LC/MS/MS を用いた．

バリデーションを実施した LC/MS/MS 法により，GLP 試験のラット及びサルの血漿中 encorafenib 濃度を分析した．内標準物質として安定同位体標識された encorafenib を用いた．本分析法による定量範囲は 5.00～5000 ng/mL であった．本分析法は，直線性，真度及び精度（分析単位内及び分析単位間），選択性，マトリックス効果，回収率，キャリーオーバー，希釈妥当性，安定性（標準原液，標準溶液，マトリックス中，前処理後試料中及び凍結融解）に関するすべてのバリデーション基準を満たした．

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 単回投与

2.6.4.3.1.1 マウス

［評価資料：4.2.2.2-1］

マウス（雄 3 例／群）に encorafenib を 10 mg/kg で経口及び 2 mg/kg で静脈内投与したときの薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.1.1-1 に示した.

経口投与時の Tmax は 0.5 時間であり，encorafenib は速やかに吸収された．T1/2 は 1.42 時間，BA は 42.6%であった．静脈内投与時の CL は 4.34 mL/min/kg，Vss は 0.10 L/kg であった.

表 2.6.4.3.1.1-1 マウスに encorafenib を 10 mg/kg で経口及び 2 mg/kg で静脈内投与したときの薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	経口投与	静脈内投与
	10 mg/kg	**2 mg/kg**
Cmax（ng/mL）	14271 ± 2346	NA
Tmax（h）	0.5 ± 0.0	NA
AUCinf（ng·h/mL）	16430 ± 2346	7715 ± 690
CL（mL/min/kg）	NA	4.34 ± 0.37
Vss（L/kg）	NA	0.10 ± 0.01
T1/2（h）	1.42 ± 0.06	0.86 ± 0.03
BA（%）	42.6 ± 6.1	NA

データは各群 3 例の平均値±標準偏差を示す.
NA，not applicable

2.6.4.3.1.2 ラット

［評価資料：4.2.2.2-2 及び 4.2.2.2-3］

ラット（雄 3 例／群）に ^{14}C-encorafenib を 50 mg/kg で経口及び 5 mg/kg で静脈内投与したときの血漿中 encorafenib 濃度推移を図 2.6.4.3.1.2-1 に，薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.1.2-1 に示した.

経口投与時の Tmax は 2.7 時間であった．放射能より算出した吸収率は 35%，BA は 42%であり，初回通過効果をほとんど受けないと考えられた．静脈内投与時の血漿中 encorafenib の濃度推移は 2 相性を示し，CL は 1.42 mL/min/kg，Vss は 0.31 L/kg であった．未変化体の T1/2 は経口投与時で 7.6 時間及び静脈内投与時で 62 時間であり，静脈内投与時に長い T1/2 を示したが原因は不明である．一方，ラット（雄 3 例／群）に encorafenib を 10 mg/kg で経口及び 3 mg/kg で静脈内投与したときの未変化体の T1/2 はそれぞれ 2.37 及び 2.31 時間であり，同程度であった.

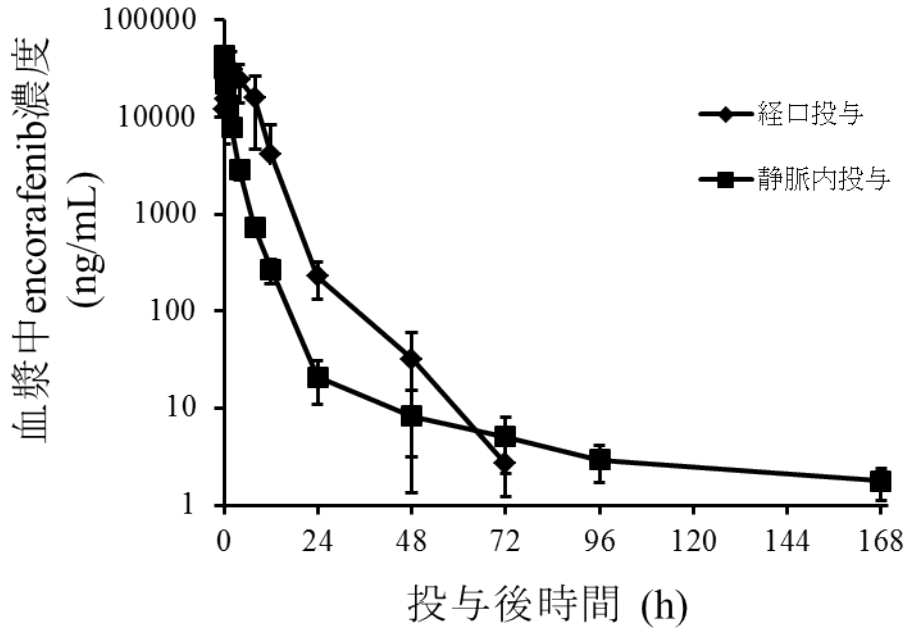


図 2.6.4.3.1.2-1　ラットに ^{14}C-encorafenib を 50 mg/kg で経口及び 5 mg/kg で静脈内投与したときの血漿中 encorafenib 濃度推移

データは 3 例の平均値±標準偏差を示す.

表 2.6.4.3.1.2-1　ラットに ^{14}C-encorafenib を 50 mg/kg で経口又は 5 mg/kg で静脈内投与したときの薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	経口投与		静脈内投与	
	50 mg/kg		5 mg/kg	
	血漿中放射能	血漿中 encorafenib	血漿中放射能	血漿中 encorafenib
Cmax（ng eq./mL 又は ng/mL）	40600 ± 13200	36400 ± 12900	59400 ± 306	43500 ± 3900
Tmax（h）	2.7 ± 1	2.7 ± 1.2	0.083 ± 0.000	0.083 ± 0.000
AUClast（ng eq.·h/mL 又は ng·h/mL）	287000 ± 100000	245000 ± 95600	82100 ± 2240	58700 ± 2900
AUCinf（ng·h/mL）	NA	245000 ± 95600	NA	58900 ± 2800
CL（mL/min/kg）	NA	NA	NA	1.42 ± 0.07
Vss（L/kg）	NA	NA	NA	0.31 ± 0.02
T1/2（h）	5.9 ± 5.6	7.6 ± 1.4	3.1 ± 0.44	62 ± 26
BA（%）	NA	42*	NA	NA
吸収率（%）	35*	NA	NA	NA

データは各群 3 例の平均値±標準偏差を示す.
*AUClast の平均値から算出した値を示す.
NA，not applicable

2.6.4.3.1.3 サル

［評価資料：4.2.2.2-4］

サル（経口投与：雄 3 例／群，静脈内投与：雄 2 例／群）に ^{14}C-encorafenib を 20 mg/kg で経口及び 3 mg/kg で静脈内投与したときの薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.1.3-1 に示した．

経口投与時の Tmax は 2 時間，T1/2 は 1.4 時間であった．放射能より算出した吸収率は 80%，BA は 22%であった．静脈内投与時の CL は 20.0 mL/min/kg，Vss は 1.0 L/kg であった．

表 2.6.4.3.1.3-1 サルに ^{14}C-encorafenib を 20 mg/kg で経口及び 3 mg/kg で静脈内投与したときの薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	経口投与		静脈内投与	
	20 mg/kg		3 mg/kg	
	血漿中放射能	血漿中 encorafenib	血漿中放射能	血漿中 encorafenib
Cmax（ng eq./mL 又は ng/mL）	5350 ± 1860	1010 ± 378	4440	3010
Tmax（h）	2 ± 0	2 ± 0	0.083	0.083
AUCinf（ng eq.·h/mL 又は ng·h/mL）	22400 ± 5590	2930 ± 644	5060	2420
CL（mL/min/kg）	NA	NA	NA	20.0
Vss（L/kg）	NA	NA	NA	1.0
T1/2（h）	3.9 ± 1.5	1.4 ± 0.27	0.64	1.1
BA（%）	NA	22	NA	NA
吸収率（%）	80	NA	NA	NA

経口投与群のデータは 3 例の平均値±標準偏差を示す．BA 及び吸収率は 3 例の平均値を示す．
静脈内投与群のデータは 2 例の平均値を示す．
NA，not applicable

2.6.4.3.2 反復投与

2.6.4.3.2.1 ラット

［評価資料：4.2.3.2-2］

ラットにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験［2.6.6.3.2］で，血漿中 encorafenib を分析した．ラット（雌雄各 2 例／時点）に encorafenib を 6，20 及び 60 mg/kg で 1 日 1 回反復経口投与したときの薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.1-1 に示した．Cmax 及び AUC は概ね投与量に比例して増加した．最終回投与後の Cmax 及び AUC は初回投与後と比較してやや高値を示したが，反復投与による明らかな蓄積は認められなかった．初回投与後と最終回投与後のいずれにおいても雌の AUC は雄の約 2 倍であり，性差が認められた．

表 2.6.4.3.2.1-1　ラットに encorafenib を 6，20 及び 60 mg/kg で 3 カ月間反復経口投与したときの薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	投与量（mg/kg）					
	6		20		60	
	1 日目	90 日目	1 日目	90 日目	1 日目	90 日目
雄						
Cmax（ng/mL）	9820	10400	27500	42100	57800	100000
Tmax（h）	1	1	1	1	0.5	1
AUC24h（ng·h/mL）	40900 ± 7130	45200 ± 2340	141000 ± 13800	178000 ± 20100	303000 ± 68400	614000 ± 73600
雌						
Cmax（ng/mL）	16800	18600	48300	54500	102000	150000
Tmax（h）	1	1	1	0.5	1	1
AUC24h（ng·h/mL）	96800 ± 6900	114000 ± 6730	288000 ± 89000	414000 ± 44700	879000 ± 184000	1110000 ± 73700

Cmax 及び Tmax は各群 2 例の平均値を示す.
AUC24h は各時点 2 例の血漿中濃度から算出した平均値±標準誤差を示す.

2.6.4.3.2.2　　サル

［評価資料：4.2.3.2-5］

サルにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験（2）［2.6.6.3.5］で，血漿中 encorafenib を分析した．サル（20 mg/kg 投与群：雌雄各 4 例，60 mg/kg 投与群：雌雄各 6 例）に encorafenib を 20 及び 60 mg/kg で 1 日 1 回反復経口投与したときの薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.2-1 に示した．血漿中 encorafenib 濃度に個体内及び個体間のばらつきが認められたが，Cmax 及び AUC は概ね投与量に比例して増加した．初回投与後と最終回投与後の Cmax 及び AUC は同程度で蓄積性は認められず，性差も認められなかった.

表 2.6.4.3.2.2-1　サルに encorafenib を 20 及び 60 mg/kg で 3 カ月間反復経口投与したときの薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	投与量（mg/kg）					
	20			60		
	1 日目	23 日目	86 日目	1 日目	23 日目	86 日目
雄						
Cmax（ng/mL）	3590	1740	1640	10400	12100	6790
Tmax（h）	1.00	0.875	0.875	0.917	0.917	1.67
AUC24h（ng·h/mL）	5830 ± 6390	2730 ± 2630	3120 ± 2450	24200 ± 17100	23500 ± 17800	20300 ± 19200
雌						
Cmax（ng/mL）	8270	3190	2930	12700	12800	7790
Tmax（h）	0.750	0.750	1.13	1.00	1.25	2.00
AUC24h（ng·h/mL）	11100 ± 3980	4940 ± 3390	4280 ± 4620	43000 ± 31000	31400 ± 20800	23900 ± 20400

Cmax 及び Tmax は 4 例又は 6 例の平均値を示す.
AUC24h は 4 例又は 6 例の平均値±標準偏差を示す.

2.6.4.4　分布

2.6.4.4.1　ラットにおける組織分布

［評価資料：4.2.2.3-1］

有色ラット（Long-Evans 系，雄 1 例／時点）に ^{14}C-encorafenib を 50 mg/kg で単回経口投与したときの組織中放射能の薬物動態パラメータを表 2.6.4.4.1-1 に示した.

吸収された放射能は組織に広く分布し，放射能濃度の Tmax はほとんどの組織で 0.25～2 時間であった．放射能の AUCinf に基づき算出した組織／血液中放射能濃度比は胆汁で 3.17，肝臓で 2.66 と比較的高値を示したが，それ以外の組織では 1.49 以下であった．脳及び脊髄の組織／血液中放射能濃度比は 0.0177 以下であり，脳及び脊髄への移行性は低かった．放射能の T1/2 は肝臓では 47.2 時間であり，他の組織と比較して長い T1/2 を示した．その他の組織では放射能の T1/2 は 10.4 時間以下であった．メラニン含有組織である有色皮膚及びぶどう膜の組織中放射能の T1/2 は，他の組織と比較して大きな差は認められず，放射能はメラニン含有組織に残留しなかった．投与後 168 時間では肝臓を除くすべての組織で放射能は検出限界未満であった．また，白色ラット（雄／1 例）に ^{14}C-encorafenib を 50 mg/kg で単回経口投与したとき，有色ラットと同様に投与後 168 時間は肝臓でのみ放射能が検出された.

表 2.6.4.4.1-1　有色ラットに ^{14}C-encorafenib を 50 mg/kg で単回経口投与したときの組織中放射能の薬物動態パラメータ

組織	Cmax (μg eq./g)	Tmax (h)	AUCinf (μg eq.·h/mL)	組織／血液中放射能濃度比	T1/2 (h)
血液	48.5	0.25	216	1	2.91
脳	0.916	0.25	3.82	0.0177	2.64
脊髄	0.708	1	3.3	0.0153	3.02
下垂体	16.5	0.25	72.8	0.337	3.56
眼	0.283	2	3.76	0.0174	7.71
ぶどう膜	30.9	2	133	0.616	5.61
ハーダー氏腺	14.5	2	70.7	0.327	5.36
唾液腺	14.1	0.25	64.2	0.297	2.68
甲状腺	14.8	0.25	58	0.269	2.36
胸腺	6.02	2	28.4	0.131	2.82
心臓	22.7	0.25	86.7	0.401	2.94
肺	42.0	0.25	189	0.875	3.32
肝臓	70.8	0.25	574	2.66	47.2
腎盂	57.6	0.25	322	1.49	2.86
腎皮質	39.0	2	233	1.08	3.46
腎髄質	39.5	2	258	1.19	10.4
副腎皮質	32.0	0.25	97.2	0.45	2.72
副腎髄質	35.7	0.25	115	0.532	3.01
脾臓	9.26	0.25	55.4	0.256	4.61
膵臓	13.6	0.25	101	0.468	3.87
胆汁	157	0.25	685	3.17	2.78
脂肪（褐色）	17.7	0.25	57.6	0.267	2.72
脂肪（白色）	2.25	2	2.25*	0.0365**	NA
筋肉	8.53	2	31.9	0.148	2.27
骨塩	2.46	2	10	0.0463	2.66
骨髄	13.5	2	47.7	0.221	1.92
有色皮膚	14.8	1	79.9	0.37	3.58
リンパ節	10.8	2	61	0.282	2.53
精巣	5.74	2	51.8	0.24	3.3
精嚢	1.29	7	4.65	0.0215	1.36
精巣上体	9.86	2	65.1	0.301	3.61
食道	27.8	1	102	0.472	2.57
胃	17.6	0.25	63.7	0.295	3.01
小腸	25.3	1	107	0.495	5.13
大腸	31.1	4	69.4*	1.18**	NA

データは各時点 1 例の組織中放射能濃度より算出した値を示す.
NA，not analyzed
*AUClast を示す.
**AUClast から算出した値を示す.

2.6.4.4.2 *In vitro* における血漿蛋白結合

［評価資料：4.2.2.3-2］

超遠心法により検討した ^{14}C-encorafenib（50～50000 ng/mL）の血漿蛋白結合率は，マウス，ラット，サル及びヒトでそれぞれ 98.6，98.1，74.6 及び 86.1%であり，いずれの動物種でも結合率は encorafenib 濃度によらず一定であった．

2.6.4.4.3 *In vitro* における血球移行

［評価資料：4.2.2.3-2］

^{14}C-encorafenib（50～50000 ng/mL）の Rb は，ラット，サル及びヒトでそれぞれ 0.61，0.76 及び 0.75 であった．いずれの動物種でも Rb は encorafenib 濃度によらず一定であった．

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 *In vitro* 代謝

2.6.4.5.1.1 肝細胞における *in vitro* 代謝

［評価資料：4.2.2.4-1］

ラット，サル及びヒトの肝細胞と ^{14}C-encorafenib（2.5 及び 12.5 μmol/L）を 24 時間までインキュベーションしたときの未変化体及び代謝物を radio-HPLC で分析した．未変化体の消失速度から算出した CLint はラット，サル，ヒトでそれぞれ 48.2～123，276～686 及び 35.4～54.2 μL/h/10^{6}cells であった．CLint から推定した肝抽出率は，ラット，サル及びヒトでそれぞれ 4.19～10.0，27.5～48.5 及び 6.77～10.0%であった．肝細胞中で検出された主な代謝物は，ラットで *N*-脱アルキル化体（M32.7 及び M23.8），サルで *N*-脱アルキル化体（M32.7，M23.8 及び LHY746）並びに水酸化体（M36.5）であった．ヒトでは M32.7 のグルクロン酸抱合体である M17.3 が最も多く，*N*-脱アルキル化体（LHY746，M32.7 及び M23.8）並びに水酸化体（M42.5B，M46.3 及び M36.5）も検出された．他の動物種と比較してヒトでは未変化体及び代謝物のグルクロン酸抱合体が多く検出された．M46.3，未変化体のグルクロン酸抱合体（M35 及び M39.4），代謝物のグルクロン酸抱合体（M12.8，M31A，M33.8 及び M38），グルコース抱合体（M31.8）及び代謝物のグルコース抱合体（M19.6）はヒト肝細胞でのみ検出された．

2.6.4.5.1.2 肝ミクロソームにおける *in vitro* 代謝

［評価資料：5.3.2.2-1］

ヒト肝ミクロソームと ^{14}C-encorafenib（38 μmol/L）を NADPH 及び UDPGA 存在下で 30 分間インキュベーションしたときの代謝物を radio-HPLC で分析した．*N*-脱アルキル化体及

び水酸化体を含む複数の酸化代謝物，並びに酸化代謝物のグルクロン酸抱合体が検出された．ヒト肝ミクロソームにおいて検出された代謝物のほとんどはヒト肝細胞でも検出された代謝物であった．

ヒト肝ミクロソームと ^{14}C-encorafenib を NADPH 存在下で 30 分間インキュベーションしたときの encorafenib の酸化代謝物の生成速度から算出した Km,u は 198 μmol/L，Vmax は 41.0 nmol/h/mg protein，CLint,u は 0.207 mL/h/mg protein であった．各酸化代謝物の生成速度から CLint,u を算出し比較した結果，encorafenib の主な酸化代謝物は *N*-脱アルキル化体（M32.7，LHY746）及び水酸化体（M42.5B）と考えられた．

2.6.4.5.2 *in vivo* 代謝

2.6.4.5.2.1 ラット

［評価資料：4.2.2.2-2］

ラット（雄 3 例／群）に ^{14}C-encorafenib を 50 mg/kg で経口及び 5 mg/kg で静脈内投与したときの血漿，尿及び糞中の未変化体及び代謝物を radio-HPLC で分析した．血漿及び糞はそれぞれ投与後 24 及び 48 時間，尿は投与後 48 又は 72 時間までの試料を分析した．血漿中総放射能（AUC24h）に占める未変化体の割合はいずれの投与経路でも 85%であった．いずれの投与経路でも血漿中の主な代謝物は *N*-脱アルキル化体（M23.8，M32.7 及び LHY746）であった．血漿中総放射能に占める M23.8，M32.7 及び LHY746 の割合はそれぞれ経口投与時が 3.8，2.3 及び 1.9%，静脈内投与時が 4.6，3.3 及び 1.7%であった．尿及び糞中の主な代謝物はそれぞれ M23.8 及び M32.7 であった．

胆管カニューレを施したラット（雄 2 例／群）に ^{14}C-encorafenib を 50 mg/kg で経口及び 5 mg/kg で静脈内投与したときの投与後 24 時間までの胆汁中の未変化体及び代謝物を radio-HPLC で分析した．いずれの投与経路でも胆汁中の主な薬物関連物質は *N*-脱アルキル化体（M23.8 及び M32.7）であった．胆汁中では 1 種の未変化体のグルクロン酸抱合体及び 3 種の代謝物のグルクロン酸抱合体がわずかに検出されたが，これらの代謝物は無処置のラットの糞中では検出されず，胆汁中で検出されたグルクロン酸抱合体が消化管で脱抱合を受ける可能性が考えられた．

以上より，ラットにおける主な代謝経路は *N*-脱アルキル化と考えられた．

2.6.4.5.2.2 サル

［評価資料：4.2.2.2-4］

サル（経口投与：雄 3 例，静脈内投与：雄 2 例）に ^{14}C-encorafenib を 20 mg/kg で経口及び 3 mg/kg で静脈内投与したときの血漿，尿及び糞中の未変化体及び代謝物を radio-HPLC

で分析した．血漿及び尿はそれぞれ投与後 24 及び 48 時間，糞は投与後 48 又は 72 時間までの試料を分析した．血漿中総放射能（AUC24h）に占める未変化体の割合は経口投与時が 10%，静脈内投与時が 40%であった．血漿中の主な代謝物は M22.5A 及び *N*-脱アルキル化体（M23.8，M32.7 及び LHY746）であった．未変化体から M22.5A への代謝には *in vitro* で推定された代謝経路（*N*-脱アルキル化，水酸化，加水分解及び酸化的脱アミノ化）が複合的に関与していた．血漿中総放射能に占める M22.5A，M23.8，M32.7 及び LHY746 の割合はそれぞれ経口投与時が 42，12，6.1 及び 4.9%，静脈内投与時が 23，7.8，7.7 及び 2.4%であった．尿中の主な代謝物は M23.8，M32.7 及び水酸化と *N*-脱アルキル化の両方を受けた代謝物（M28.3），糞中の主な代謝物は水酸化体（M36.5），M32.7 及び M36.5 の酸化体（M30.6）であった．以上より，サルにおける主な代謝経路は *N*-脱アルキル化及び水酸化と考えられた．

2.6.4.5.3 代謝酵素の推定

［評価資料：5.3.2.2-1 及び 5.3.2.2-2］

2.6.4.5.3.1 CYP

ヒト CYP 発現系ミクロソームと ^{14}C-encorafenib（38 μmol/L）を NADPH 存在下でインキュベーションしたときの未変化体及び代謝物を radio-HPLC で分析した．Encorafenib は CYP1A1，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A4 で代謝された．Encorafenib が代謝された CYP1A1，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A4 発現ミクロソームを用いて encorafenib の酸化代謝物の生成速度より Vmax/Km,u を算出したところ，それぞれ 75.3，15.4，2.36 及び 7.47 mL/h/nmol CYP であった．肝臓での発現量の多い CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A4 について，Vmax/Km,u をヒト肝ミクロソームにおける CLint,u にスケールアップしたところ，それぞれ 0.0582，0.00260 及び 0.304 mL/h/mg protein であり，encorafenib の酸化代謝における寄与率はそれぞれ 16.0，0.71 及び 83.3%と推定された．また，Vmax/Km,u は CYP1A1 が最も大きいものの CYP1A1 の肝臓での発現量は他の CYP 分子種と比較して少なく，encorafenib の代謝への寄与は小さいと考えられた．

ヒト肝ミクロソーム，^{14}C-encorafenib（64 μmol/L）及び CYP 分子種特異的阻害剤を NADPH 存在下でインキュベーションしたときの未変化体を radio-HPLC で分析し，CYP 分子種特異的阻害剤が encorafenib の代謝に及ぼす影響を検討した．Encorafenib の代謝に対する阻害率は，ケトコナゾール（CYP3A 阻害剤），アザムリン（CYP3A 阻害剤），キニジン（CYP2D6 阻害剤）及びチクロピジン（CYP2B6 及び CYP2C19 阻害剤）がそれぞれ 71.9，76.3，36.5 及び 10.4%であった．

以上より，encorafenib の代謝に主に関与する CYP 分子種は CYP3A4 であり，CYP2C19 及び CYP2D6 も一部関与することが示された．

2.6.4.5.3.2 UGT

［評価資料：5.3.2.2-1］

ヒト UGT 発現系ミクロソームと ^{14}C-encorafenib（38 μmol/L）を UDPGA 存在下でインキュベーションしたときの未変化体のグルクロン酸抱合体を LC/MS/MS で分析した．

UGT1A1，UGT1A3，UGT1A4，UGT1A8，UGT1A9 及び UGT2B7 で未変化体のグルクロン酸抱合体が検出され，これらの UGT 分子種が encorafenib の代謝に関与することが示された．

2.6.4.5.4 推定代謝経路

ラット，サル及びヒトの *in vivo* 試験から推定された encorafenib の主な代謝経路を図 2.6.4.5.4-1 に示した．非臨床において *in vitro* 及び *in vivo* 試験で検出された encorafenib の代謝物の多くはヒトにおいても検出された．Encorafenib は水酸化，*N*-脱アルキル化及び *N*-脱アルキル化後のグルクロン酸抱合を含む複数の代謝経路で代謝され，推定代謝経路はラット，サル及びヒトで類似していた．ラット，サル及びヒトに encorafenib を単回経口投与したときの血漿，尿及び糞中で検出された代謝物を比較したところ，*N*-脱アルキル化及び加水分解を受けた代謝物のグルクロン酸抱合体（M12.8）を含む 8 種のグルクロン酸抱合体，4 種のグルコース抱合体及び 4 種の非抱合体がヒト特異的であると考えられた．非抱合体のうち血漿中で検出されたものは水酸化体（M46.3）のみであり，血漿中総放射能の 4%以下とわずかであった［2.7.2.2.1.2］．

In vitro 試験より推定されたヒトにおける encorafenib の代謝経路を図 2.6.4.5.4-2 に示した．^{14}C-encorafenib をヒト肝細胞とインキュベーションしたときの主な代謝物は *N*-脱アルキル化体（M32.7）のグルクロン酸抱合体である M17.3 であり，*N*-脱アルキル化体（LHY746，M32.7 及び M23.8）並びに水酸化体（M42.5B，M46.3 及び M36.5）も検出された．また，ヒト肝細胞において未変化体のグルクロン酸抱合体はわずかにしか検出されなかった．以上より，ヒトにおける encorafenib の主代謝経路は CYP3A4 による水酸化及び *N*-脱アルキル化，並びに *N*-脱アルキル化後のグルクロン酸抱合であり，CYP2C19 及び CYP2D6 も一部関与すると考えられた．

2.6.4 薬物動態試験の概要文
エンコラフェニブ

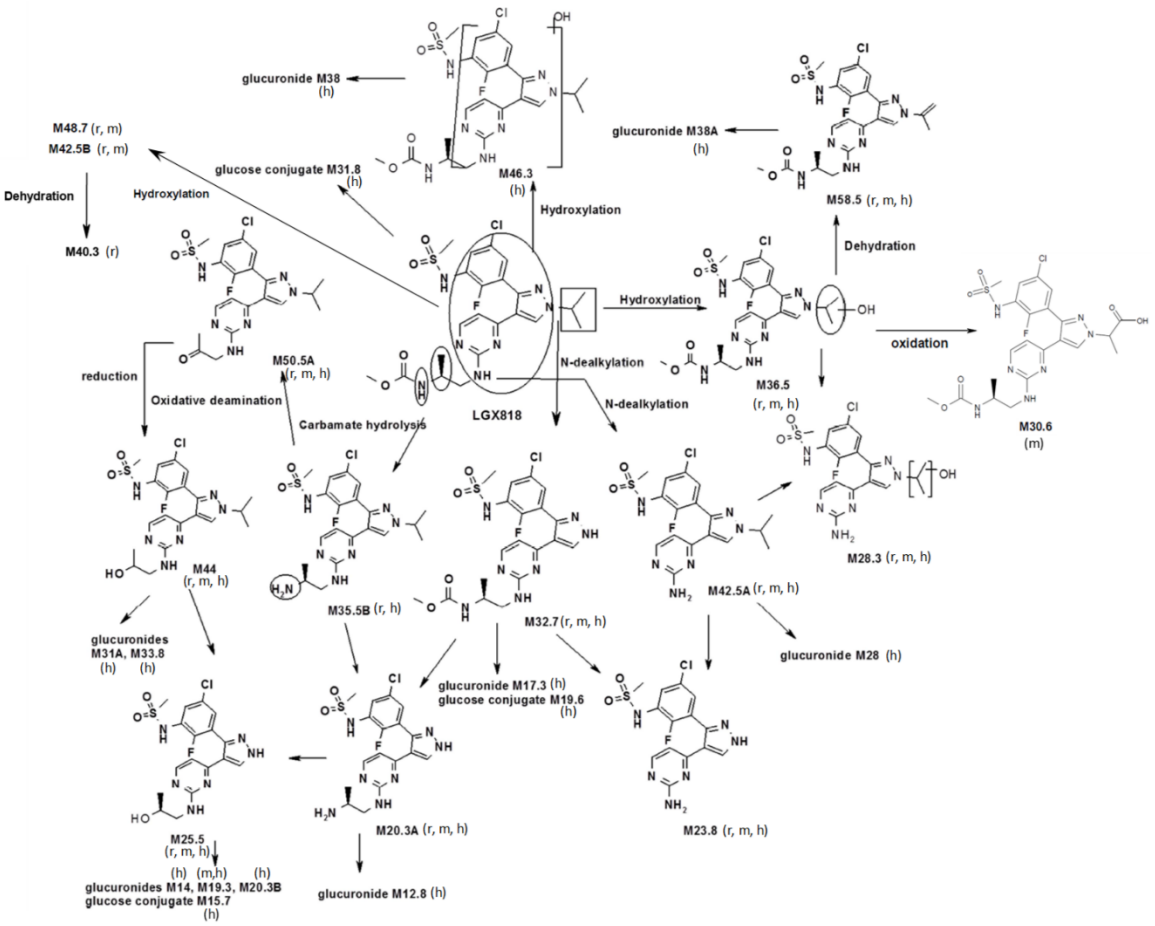


図 2.6.4.5.4-1　Encorafenib の主な推定代謝経路（*in vivo*）
r：ラット，m：サル，h：ヒト

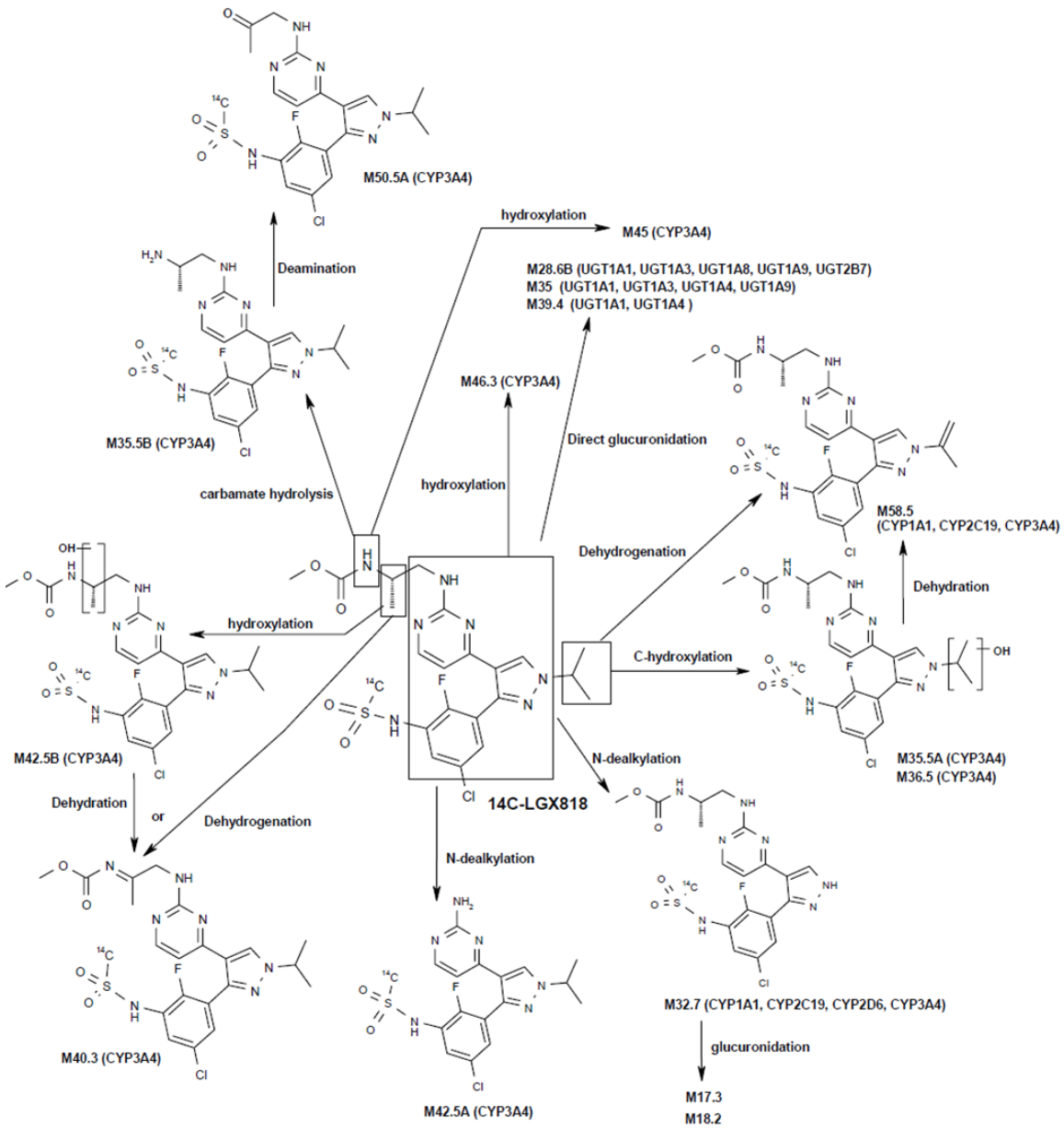


図 2.6.4.5.4-2　ヒトにおける encorafenib の推定代謝経路（*in vitro*）

2.6.4.5.5　　CYP 阻害作用

［評価資料：5.3.2.2-3］

ヒト肝ミクロソームを用いて CYP の酵素活性に対する encorafenib（0.5～100 μmol/L）の阻害作用を検討した．Encorafenib は CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A を可逆的に阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 22，1，20～30，5，50，25 及び 8～15 μmol/L であった．

Encorafenib は CYP3A を時間依存的に阻害し，K_I 値は 20.5 μmol/L，k_{inact} 値は 0.0527 min^{-1} であった．Encorafenib は CYP1A2，CYP2C9 及び CYP2D6 に対して時間依存的な阻害作用を示さなかった．

2.6.4.5.6 UGT 阻害作用

［評価資料：5.3.2.2-4］

ヒト肝ミクロソームを用いて UGT1A1 の酵素活性に対する encorafenib（0.5～100 μmol/L）の阻害作用を検討した．Encorafenib は UGT1A1 を介したエストラジオールのグルクロン酸抱合活性を阻害し，IC_{50} 値は 7 μmol/L であった．また encorafenib は UGT1A1 を介した binimetinib のグルクロン酸抱合活性を阻害し，IC_{50} 値は 1～4 μmol/L であった．

UGT1A1 発現系ミクロソームを用いて UGT1A1 の酵素活性に対する encorafenib の阻害作用を検討した．ヒト肝ミクロソームの結果と同様に，encorafenib は UGT1A1 を介したエストラジオールのグルクロン酸抱合活性を阻害し，IC_{50} 値は 4 μmol/L であった．また，encorafenib は UGT1A1 を介した binimetinib のグルクロン酸抱合活性を阻害し，IC_{50} 値は 3.5 μmol/L であった．

2.6.4.5.7 CYP 誘導作用

2.6.4.5.7.1 PXR

［評価資料：5.3.2.2-5］

ヒト PXR 及び CYP3A4 遺伝子プロモーターの PXR 応答領域を含むルシフェラーゼレポーター遺伝子を共導入した DPX-2 細胞を用いて encorafenib の PXR を介した転写活性能について検討した．Encorafenib（50 μmol/L）は PXR を介した転写活性能がリファンピシン（陽性対照）の 37.7%であり，PXR を介して CYP3A4 を誘導する可能性があると考えられた．

2.6.4.5.7.2 mRNA 及び酵素活性

［評価資料：5.3.2.2-6 及び 5.3.2.2-7］

ヒト肝細胞を encorafenib（CYP1A2，CYP2B6 及び CYP2C9：1～100 μmol/L，CYP3A4：0.5～100 μmol/L）存在下で 48 時間培養し，encorafenib の CYP1A2，CYP2B6，CYP2C9 及び CYP3A4 誘導作用を評価した．Encorafenib はすべての分子種の mRNA 及び酵素活性を 2 倍以上誘導した．Encorafenib の CYP3A4 mRNA の発現誘導に対する EC_{50} 値は 10.2 μmol/L，Emax 値は 169 倍であった．

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 尿及び糞中排泄

2.6.4.6.1.1 ラット

［評価資料：4.2.2.2-2］

ラット（雄 3 例）に ^{14}C-encorafenib を 50 mg/kg で経口投与したとき，投与後 168 時間までに尿及び糞中に投与放射能量の 12.2 及び 85.1%が排泄された．未変化体排泄率はそれぞれ 0.05 及び 45.7%であった．

ラット（雄 3 例）に ^{14}C-encorafenib を 5 mg/kg で静脈内投与したとき，投与後 168 時間までに尿及び糞中に投与放射能量の 24.3 及び 74.1%が排泄された．未変化体排泄率はそれぞれ 0.20 及び 9.96%であった．

いずれの投与経路でも尿中の主な代謝物は M23.8 であり，糞中の主な代謝物は M32.7 であった．尿及び糞中の *N*-脱アルキル化体（M23.8 及び M32.7）の総和が投与放射能量に占める割合は経口投与時が 35.1%，静脈内投与時が 61.3%であった．

経口及び静脈内投与後の放射能回収率は，168 時間までがそれぞれ 97.4 及び 99%，48 時間までがそれぞれ 95.9 及び 86.9%であり，投与放射能量の大部分は投与後 48 時間までに尿及び糞中へ排泄された．

2.6.4.6.1.2 サル

［評価資料：4.2.2.2-4］

サル（雄 3 例）に ^{14}C-encorafenib を 20 mg/kg で経口投与したとき，投与後 168 時間までに尿及び糞中に投与放射能量の 17.4 及び 59.7%が排泄された．未変化体排泄率はそれぞれ 0.16 及び 6.03%であった．

サル（雄 2 例）に ^{14}C-encorafenib を 3 mg/kg で静脈内投与したとき，投与後 168 時間までに尿及び糞中に投与放射能量の 14.4 及び 68.2%が排泄された．未変化体排泄率はそれぞれ 0.08 及び 2.43%であった．

いずれの投与経路でも尿中の主な代謝物は *N*-脱アルキル化体（M23.8 及び M32.7）並びに水酸化と *N*-脱アルキル化の両方を受けた代謝物（M28.3）であり，糞中の主な代謝物は水酸化体（M36.5），*N*-脱アルキル化体（M32.7）及び M36.5 の酸化体（M30.6）であった．尿及び糞中の 5 種の主な代謝物（M23.8，M32.7，M28.3，M36.5 及び M30.6）の総和が投与放射能量に占める割合は経口投与時が 44.3%，静脈内投与時が 50.1%であった．

経口及び静脈内投与後 168 時間までの放射能回収率はそれぞれ 90.6 及び 95.0%であった．

2.6.4.6.2 胆汁中排泄

［評価資料：4.2.2.2-2］

胆管カニューレ処置したラット（雄 2 例／群）に ^{14}C-encorafenib を 50 mg/kg で経口及び 5 mg/kg で静脈内投与したとき，投与後 48 時間までに胆汁中に投与放射能量の 28.2 及び 41.5%が排泄された．胆汁中の未変化体排泄率はそれぞれ 0.87 及び 1.33%であった．

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 輸送に関与するトランスポーター

［評価資料：5.3.2.2-8 及び 5.3.2.2-9］

Caco-2 細胞を用いた双方向性の経細胞輸送試験により，encorafenib の P-gp，BCRP 及び MRP2 に対する基質性を検討した．Caco-2 細胞における ^{14}C-encorafenib（4.8 及び 25 μmol/L）の透過係数比（透過係数比＝基底膜側から頂端膜側への透過係数／頂端膜側から基底膜側への透過係数）は 39.0 及び 22.3 であり，排出トランスポーターの関与が示唆された．Caco-2 細胞における ^{14}C-encorafenib（4.8 及び 25 μmol/L）の透過係数比は LY335979（P-gp 阻害剤）の存在下で 1.67 及び 1.20 に低下し，encorafenib は P-gp の基質であると考えられた．Ko143（BCRP 阻害剤）及び MK571（MRP2 阻害剤）は Caco-2 細胞における ^{14}C-encorafenib（4.8 μmol/L）の透過係数に大きな影響を及ぼさず，encorafenib は BCRP 及び MRP2 の基質ではないと考えられた．

Caco-2 細胞における ^{14}C-encorafenib（4.8 及び 25 μmol/L）の頂端膜側から基底膜側への透過係数は LY335979 存在下で 67.4×10^{-5}～76.0×10^{-5} cm/min であり，膜透過性の高いプロプラノロール（79.2×10^{-5} cm/min）と同程度であることから，encorafenib の受動的膜透過性は高いことが示された．

^{14}C-encorafenib（28 μmol/L）の肝取り込みにおける OCT1，OATP1B1，OATP1B3 及び OATP2B1 の関与について，ヒト肝細胞及び各トランスポーターの阻害剤カクテル（OCT1：decynium 22，OATP1B1，OATP1B3，OATP2B1：rifamycin SV，アトルバスタチン，MK571）を用いて検討した．^{14}C-encorafenib の肝細胞への取り込みは阻害剤カクテルの影響を受けず，encorafenib は OCT1，OATP1B1，OATP1B3 及び OATP2B1 の基質ではないと考えられた．

2.6.4.7.2 トランスポーター阻害作用

［評価資料：5.3.2.2-10，5.3.2.2-11，5.3.2.2-12 及び 5.3.2.2-13］

ヒト P-gp，BCRP，MRP2，OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OCT2，OAT1 及び OAT3 に対する encorafenib の阻害作用をトランスポーター発現細胞を用いて検討した．

P-gp 発現細胞において，encorafenib は検討した最高濃度（50 μmol/L）まで P-gp を介した Rhodamine 123 の輸送を阻害しなかった．

BCRP 発現細胞において，encorafenib は BCRP を介した bodipy FL prazosin の輸送を阻害し，IC_{50} 値は 10～25 μmol/L であった．

MRP2 発現細胞において，encorafenib は検討した最高濃度（50 μmol/L）まで MRP2 を介した ^{14}C-バルサルタンの輸送を阻害しなかった．

OATP1B1 発現細胞及び OATP1B3 発現細胞において，encorafenib は OATP1B1 及び OATP1B3 を介した ^{3}H-estradiol 17β-glucuronide の輸送を阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 5.35 及び 6.16 μmol/L であった．

OCT1 発現細胞において，encorafenib は OCT1 を介した ^{3}H-methyl-4-phenylpyridinium の輸送を阻害し，IC_{50} 値は 12.7 μmol/L であった．

OCT2 発現細胞において，encorafenib は OCT2 を介した ^{14}C-メトホルミンの輸送を阻害し，IC_{50} 値は 2.05 μmol/L であった．

OAT1 発現細胞において，encorafenib は OAT1 を介した ^{3}H-パラアミノ馬尿酸の輸送を阻害し，IC_{50} 値は 4.20 μmol/L であった．

OAT3 発現細胞において encorafenib は OAT3 を介した ^{3}H-estrone-3-sulfate の輸送を阻害し，IC_{50} 値は 0.92 μmol/L であった．

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1 LHY746

ヒトに ^{14}C-encorafenib を経口投与したとき，LHY746 はヒト血漿中総放射能（AUC24h）の 15.5%であった［2.7.2.2.1.2］．LHY746 は RAF 阻害活性を有するため，*in vitro* において血漿蛋白結合率を評価した．また，LHY746 の代謝経路並びに LHY746 の CYP 及びトランスポーター阻害作用を検討した．

2.6.4.8.1.1 *In vitro* における蛋白結合率

［評価資料：4.2.2.7-1］

平衡透析法により検討した LHY746（1 及び 10 μmol/L）の血漿蛋白結合率はラット，サル及びヒトでそれぞれ 95.8～97.1，89.6～89.7，及び 88.6～89.4%であった．

2.6.4.8.1.2 代謝酵素の推定

［評価資料：5.3.2.2-14］

ヒト CYP 発現系ミクロソームと LHY746（1 μmol/L）を NADPH 存在下でインキュベーションしたときの未変化体を LC/MS/MS で分析した．LHY746 は CYP2C9，CYP2C19 及び CYP3A4 で代謝された．LHY746 を CYP 発現系ミクロソームとインキュベーションしたときの消失速度から CLint を算出し，ヒト肝ミクロソームにおける CLint にスケールアップしたところ，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP3A4 はそれぞれ 1.33，4.48 及び 0.58 μL/min/mg protein であり，LHY746 の代謝における寄与率はそれぞれ 20.8，70.1 及び 9.1%と推定された．

2.6.4.8.1.3 CYP 阻害作用

［評価資料：5.3.2.2-15］

ヒト肝ミクロソームを用いて CYP の酵素活性に対する LHY746（0.1～50 μmol/L）の阻害作用を検討した．LHY746 は CYP2C8 及び CYP2C9 を阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 9.5 及び 8.3 μmol/L であった．LHY746 は CYP1A2，CYP2B6，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A を阻害しなかった．

2.6.4.8.1.4 トランスポーター阻害作用

［評価資料：5.3.2.2-16］

LHY746（0.3～100 μmol/L）のヒト P-gp，BCRP，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 及び OAT3 に対する阻害作用をトランスポーター発現細胞を用いて検討した．

P-gp 発現細胞において，LHY746 は P-gp を介した ^{3}H-キニジンの輸送を阻害し，IC_{50} 値は 69.4 μmol/L であった．

BCRP 発現細胞において，LHY746 は BCRP を介した ^{3}H-プラゾシンの輸送を阻害し，IC_{50} 値は 22.6 μmol/L であった．

OATP1B1 発現細胞において，LHY746 は OATP1B1 を介した ^{3}H-estradiol 17β-glucuronide の輸送を阻害し，IC_{50} 値は 46.6 μmol/L であった．

OATP1B3 発現細胞において，LHY746 の OATP1B3 を介した ^{3}H-CCK-8 の細胞内への取り込みに対する阻害率は検討した最高濃度（100 μmol/L）で 36.3%であった．

OCT2 発現細胞において，LHY746 は OCT2 を介した ^{14}C-メトホルミンの輸送を阻害し，IC_{50} 値は 66.3 μmol/L であった．

OAT1 発現細胞において，LHY746 は検討した最高濃度（100 μmol/L）まで OAT1 を介した ^{3}H-パラアミノ馬尿酸の輸送を阻害しなかった．

OAT3 発現細胞において，LHY746 は OAT3 を介した ^{3}H-パラアミノ馬尿酸の輸送を阻害し，IC_{50} 値は 9.44 μmol/L であった．

2.6.4.8.2 サルにおける [redacted] の吸収

［参考資料：4.2.2.7-2］

サル（雄 3 例／群）に 60 mg/kg で encorafenib の [redacted] を単回経口投与したときの薬物動態パラメータを表 2.6.4.8.2-1 に示した．投与液は調製後 8 日の投与液及び用時調製した投与液を使用した．調製後 8 日と比較して，用時調製したときに Cmax 及び AUC は高値を示した．

表 2.6.4.8.2-1 サルに encorafenib の [redacted] を 60 mg/kg で単回経口投与したときの薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	第 1 群		第 2 群	
	調製後 8 日	用時調製	調製後 8 日	用時調製
Cmax（ng/mL）	6530 ± 6170	8980 ± 13900	4280 ± 3850	15500 ± 2970
Tmax（h）	2.33	1.50	3.00	3.00
AUC24h（ng·h/mL）	21700 ± 15500	28500 ± 40500	19500 ± 18800	66600 ± 17000

データは各群 3 例の平均値±標準偏差を示す．Tmax は 3 例の平均値を示す．

2.6.4.9 考察及び結論

マウス，ラット及びサルに encorafenib 又は ^{14}C-encorafenib を単回経口及び静脈内投与したとき，CL，Vss 及び BA に種差が認められた．CL 及び Vss はサルと比較してマウスで及びラットで小さかった．^{14}C-encorafenib を肝細胞とインキュベーションしたときの CLint はサルと比較してラットで小さく，CL の種差は肝 CLint の種差に起因すると考えられた．また，encorafenib の血漿蛋白結合率はマウス，ラット及びサルでそれぞれ 98.6，98.1 及び 74.6%であり，マウス及びラットで高かったことから，Vss の種差は血漿蛋白結合率の種差に起因すると考えられた．BA はマウス，ラット及びサルでそれぞれ 42.6，42 及び 22%であり，サルで低かった．サルに ^{14}C-encorafenib を投与したときの放射能から算出した吸収率は 80%，肝細胞を用いた代謝試験にて算出された肝抽出率は 27.5～48.5%であったことから，CYP3A 基質である encorafenib が消化管において初回通過効果を受けることがサルで BA が低い理由のひとつと考えられた．ヒトと比較してサルにおいて CYP3A 基質の BA が一般的に低く，その原因として消化管における初回通過効果がサルで大きいことが報告されている [1) 2)] こと，並びに encorafenib はサル肝細胞と比較してヒト肝細胞中でより安定であることから，encorafenib がヒトにおいて顕著な初回通過効果を受ける可能性は低いと考えられた．

有色ラットに ^{14}C-encorafenib を経口投与したとき，放射能は組織に幅広く分布したが脳及び脊髄にはほとんど移行しなかった．Encorafenib が P-gp の基質であることが，脳及び脊髄への移行性が低い理由と考えられた．

In vivo におけるラットの主代謝経路は *N*-脱アルキル化，サルの主代謝経路は水酸化及び *N*-脱アルキル化であり，*in vitro* の結果と類似していた．ラット及びサルにおいて encorafenib は尿及び糞中へ主に代謝物として排泄され，encorafenib は主に代謝により消失すると考えられた．ヒトに ^{14}C-encorafenib を経口投与したときに検出された代謝物の多くは，ヒト試料を用いた *in vitro* 試験並びにラット及びサルの *in vivo* 試験において検出された．Encorafenib の推定代謝経路はラット，サル及びヒトで概ね類似しており，主な代謝経路は水酸化，*N*-脱アルキル化及び *N*-脱アルキル化後のグルクロン酸抱合であった．*In vitro* と *in vivo* のいずれにおいてもヒトでは他の動物種と比較してグルクロン酸抱合体が多く検出された．^{14}C-encorafenib を経口投与したとき，RAF 阻害活性を有する代謝物である LHY746 はヒト血漿中総放射能の 15.5%を占め［2.7.2.2.1.2］，ラット及びサルではそれぞれ血漿中総放射能の 1.9 及び 4.9%であった．

In vitro において encorafenib の主代謝酵素は CYP3A4 であり，臨床において CYP3A 阻害剤及び誘導剤を併用したときに encorafenib の血漿中曝露量が影響を受ける可能性があると考えられた．臨床薬物相互作用試験において，encorafenib の AUCinf は encorafenib 単剤投与時と比較して，強い CYP3A 阻害剤であるポサコナゾール併用投与時は 283.41%，中程度の CYP3A 阻害剤であるジルチアゼム併用投与時は 183.01%であった［2.7.2.2.1.2］．また，CYP3A 誘導剤との臨床薬物相互作用試験は実施していないものの，CYP3A 阻害剤との併用が encorafenib の血漿中曝露量に影響を及ぼしたことから，CYP3A 誘導剤との併用は encorafenib の血漿中曝露量を低下させる可能性があると考えられた．

In vitro において，encorafenib のヒト血漿中の主な代謝物である LHY746 は主に CYP2C19 によって代謝されたものの，CYP2C9 及び CYP3A4 によっても代謝されること，ヒトの血漿中には LHY746 のグルクロン酸抱合体も存在し，LHY746 はグルクロン酸抱合も受けると考えられること，並びに LHY746 は一部が代謝を受けずに糞及び尿中に排泄されることから，CYP2C19 阻害剤との併用及び CYP2C19 の遺伝子多型により，ヒトで LHY746 の血漿中曝露量が大きく上昇する可能性は低いと考えられた．また，LHY746 は，ヒト血漿中の AUC24h が単回投与時は未変化体の約 2 分の 1［2.7.2.2.1.2］及び 15 日間反復投与時は未変化体と同程度［2.7.2.2.1.1］であったが，腫瘍増殖抑制作用の IC_{50} 値は encorafenib と比較して 30 倍以上大きい［2.6.2.2.1.8］ため，本代謝物が有効性及び安全性に影響を与える可能性は低いと考えられた．

Encorafenib は *in vitro* で CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A を可逆的に阻害し，CYP3A を時間依存的に阻害した．また，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C9 及び CYP3A4 を誘導した．薬物相互作用ガイドライン [3) 4) 5)] に従い，IC_{50} 値及びヒトに encorafenib を 450 mg で経口投与したときの Cmax（6.65 μg/mL，12.3 μmol/L）を用いて算出した R 値は 1.1 以上であったことから，臨床で encorafenib が各 CYP 分子種の基質の血漿中曝露量に影響を及ぼす可能性があると考えられた．しかし，生理学的薬物速度論モデルを用いて予測した結果，encorafenib は CYP1A2，CYP2B6，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 を介した重大な薬物相互作用を引き起こさないと予測された［2.7.2.3.1.3］．一方，encorafenib は CYP3A 基質の Cmax 及び AUC をそれぞれ最大で 1.72 倍及び 1.79 倍に増加させると予測され［2.7.2.3.1.3］，encorafenib は臨床で CYP3A 基質の血漿中曝露量に影響を及ぼす可能性があると考えられた．

Encorafenib は *in vitro* で UGT1A1 を阻害した．薬物相互作用ガイドライン [3) 4) 5)] に従い，IC_{50} 値及びヒトに encorafenib を 450 mg で経口投与したときの Cmax（12.3 μmol/L）を用いて算出した R 値は 1.1 以上であったことから，臨床で encorafenib が UGT1A1 基質の血漿中曝露量に影響を及ぼす可能性があると考えられた．生理学的薬物速度論モデルを用いて予測した結果，encorafenib は UGT1A1 基質の Cmax 及び AUC をそれぞれ約 1.5 倍に増加させると予測され［2.7.2.3.1.3］，encorafenib は臨床で UGT1A1 基質の血漿中曝露量に影響を及ぼす可能性があると考えられた．なお，encorafenib は *in vitro* で UGT1A1 を介した binimetinib のグルクロン酸抱合活性を阻害したが，臨床試験において binimetinib の血漿中曝露量に大きな影響を及ぼさなかった［2.7.2.2.3.2］．

Encorafenib は P-gp の基質であるが，受動的膜透過性が高く，ヒトにおける吸収率は 86%以上である［2.7.2.2.1.2］ことから，P-gp 阻害剤との併用により encorafenib の血漿中曝露量が大きな影響を受ける可能性は低いと考えられた．

Encorafenib は *in vitro* で BCRP，OCT1，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 及び OAT3 を阻害した．薬物相互作用ガイドライン [3) 4) 5)] に従い，IC_{50} 値及びヒトに encorafenib を 450 mg で経口投与したときの Cmax（12.3 μmol/L）を用いて検討した結果，臨床においても encorafenib がこれらトランスポーターを阻害する可能性を否定できなかった．

Encorafenib の主な代謝物である LHY746 は CYP2C8，CYP2C9，P-gp，BCRP，OATP1B1，OCT2 及び OAT3 を阻害した．ヒトに ^{14}C-encorafenib（100 mg）を単回経口投与したときの LHY746 の Cmax は最も高い被験者で 330 ng eq./mL（0.61 μmol/L）であり［2.7.2.3.1.3］，臨床用量（450 mg の 1 日 1 回投与）においても LHY746 の Cmax は各 CYP 及びトランスポーターに対する IC_{50} 値よりも小さいと考えられ，臨床において LHY746 が CYP 及びトランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた．

2.6.4.10 図表

図表は本文中に記載した.

2.6.4.11 参考文献

1） Komura H, Iwaki M. Species differences in *in vitro* and *in vivo* small intestinal metabolism of CYP3A substrates. J Pharm Sci. 2008 May;97(5):1775-800.

2） Komura H, Iwaki M *In vitro* and *in vivo* small intestinal metabolism of CYP3A and UGT substrates in preclinical animals species and humans: species differences. Drug Metab Rev. 2011 Nov;43(4):476-98.

3） Guideline on the Investigation of Drug Interactions (Final). European Medicines Agency, 2012

4） Guidance for Industry (DRAFT GUIDANCE): Drug Interaction Studies-Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Clinical Pharmacology, February 2012

5） 医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン（最終案）, 厚生労働省, 2014 年 7 月

2.6.5 薬物動態試験の概要表

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.5 薬物動態試験の概要表 3
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 5
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 8
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 9
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 13
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 15
2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合 17
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 18
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 19
2.6.5.9 薬物動態試験：*In vitro* における代謝 20
2.6.5.10 薬物動態試験：*In vivo* における代謝 27
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 39
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 44
2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄 52
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 54
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 55
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 58

2.6.5 薬物動態試験の概要表

本項で使用した用語及び略号を表 2.6.5-1 に，関連化合物の名称を表 2.6.5-2 に示す.

表 2.6.5-1 用語及び略号一覧

用語又は略号	内容又は日本語名称
^{14}C-	^{14}C 標識
^{3}H-	^{3}H 標識
AUC	血漿又は組織中濃度－時間曲線下面積
AUC24h	投与後 24 時間までの AUC
AUCinf	投与後無限大時間までの AUC
AUClast	最終定量時点までの AUC
BA	生物学的利用率
BCRP	Breast cancer resistance protein
CL	クリアランス
CLint	固有クリアランス
Cmax	最高血漿中濃度又は最高組織中濃度
CMC	カルボキシメチルセルロース
CYP	シトクロム P450
EC_{50}	50%有効濃度
Emax	最大効果
Encorafenib	エンコラフェニブ
FMO	フラビンモノオキシゲナーゼ
fu,mic	ミクロソーム反応液中の非結合型分率
IC_{50}	50%阻害濃度
IV	静脈内投与
K_I	最大不活性化速度の 1/2 の不活性化をもたらす濃度
k_{inact}	最大不活性化速度定数
Km	ミカエリス定数
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー／タンデムマススペクトロメトリー
LSC	液体シンチレーションカウンター
MC	メチルセルロース
MEK162	ビニメチニブ
mRNA	メッセンジャーリボ核酸
MRP	Multidrug resistance-associated protein
MRT	平均滞留時間
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（還元型）
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
PEG	ポリエチレングリコール
P-gp	P-糖蛋白質
PXR	Pregnane X receptor
PO	経口投与
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー
Radio-HPLC	放射能検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー
SD	標準偏差

表 2.6.5-1　用語及び略号一覧（続き）

用語又は略号	内容又は日本語名称
SE	標準誤差
T1/2	消失半減期
Tlast	最終定量時点
Tmax	最高血漿中濃度到達時間または最高組織中濃度到達時間
TPGS	α-トコフェリルポリエチレングリコール 1000 コハク酸エステル
UDPGA	ウリジン-5'-二リン酸-グルクロン酸
UGT	ウリジン-5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素
Vmax	最大速度
Vss	定常状態での分布容積

表 2.6.5-2　関連化合物の一覧

名称	その他の名称
Encorafenib	LGX818，NVP-LGX818
LHY746	M42.5A，AR00492720

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

Test Article: Encorafenib

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study/Report No.	Location in CTD
Absorption					
Pharmacokinetics (single dose)	Mouse, Balb/c	PO, IV	Genomics Institute of the Novartis Research Foundation	RD-20[redacted]-50077	4.2.2.2-1
Phrmacokinetics (single dose); ^{14}C-LGX818	Rat, Wistar Hannover	PO, IV	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00227	4.2.2.2-2
Pharmacokinetics (single dose)	Rat, Wistar	PO, IV	Genomics Institute of the Novartis Research Foundation	RD-20[redacted]-50078	4.2.2.2-3
Pharmacokinetics (single dose); ^{14}C-LGX818	Monkey, Cynomolgus	PO, IV	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00268	4.2.2.2-4
Toxicokinetics (repeat dose)	Rat, Wistar Hannover	PO	[redacted]	8000058	4.2.3.2-2
Toxicokinetics (repeat dose)	Monkey, Cynomolgus	PO	Novartis Pharmaceuticals	[redacted]70471	4.2.3.2-5
Distribution					
Distribution (QWBA)	Rat, Long-Evans and Wistar Hannover	*In vivo*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00588	4.2.2.3-1
Distribution (plasma protein binding); ^{14}C-LGX818	Mouse, Rat, Monkey, Human plasma	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00210	4.2.2.3-2
Distribution (blood-to-plasma partitioning); ^{14}C-LGX818	Rat, Monkey, Human blood	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00210	4.2.2.3-2
Metabolism					
Metabolism (staibility and metabolite ID); ^{14}C-LGX818	Hepatocytes	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00081	4.2.2.4-1
Metabolism (staibility and metabolite ID); ^{14}C-LGX818	Liver microsomes, Recombinant CYPs, FMOs, and UGTs	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00135	5.3.2.2-1

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Encorafenib

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study/Report No.	Location in CTD
Metabolism (metabolite ID); ^{14}C-LGX818	Rat, Wistar Hannover; Monkey, Cynomolgus; Human	PO, IV	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00227 DMPK R[redacted]00268 CLGX818A2101	4.2.2.2-2 4.2.2.2-4 5.3.3.1-4
Metabolism (relative contribution of CYPs); ^{14}C-LGX818	Recombinant CYPs	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00629	5.3.2.2-2
Metabolism (reaction phenotyping); ^{14}C-LGX818	Human liver microsomes	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00135	5.3.2.2-1
Metabolism (CYP inhibition)	Human liver microsomes	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00039	5.3.2.2-3
Metabolism (UGT inhibition)	Human liver microsomes, recombinant UGT1A1	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00758	5.3.2.2-4
Metabolism (PXR activation)	DPX-2 cell-line	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00728	5.3.2.2-5
Metabolism (CYP induction)	Cryopreserved human hepatocytes	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00254 DMPK R[redacted]00539	5.3.2.2-6 5.3.2.2-7
Excretion					
Excretion in urine, feces, and bile (single dose); ^{14}C-LGX818	Rat, Wistar Hannover	PO, IV	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00227	4.2.2.2-2
Excretion in urine and feces (single dose); ^{14}C-LGX818	Monkey, Cynomolgus	PO, IV	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00268	4.2.2.2-4
Drug-drug interactions					
Bidirectional permeability and potential interaction with P-gp, BCRP and MRP.	Caco-2 cells	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00085	5.3.2.2-8
^{14}C-LGX818 uptake	Cryopreserved human hepatocytes	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00034	5.3.2.2-9

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Encorafenib

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study/Report No.	Location in CTD
Transporter inhibition	Transporter-expressing cells	*In vitro*	Novartis Pharmaceuticals	DMPK R[redacted]00216 DMPK R[redacted]00433 DMPK R[redacted]00096 DMPK R[redacted]00641	5.3.2.2-10 5.3.2.2-11 5.3.2.2-12 5.3.2.2-13
Other					
Distribution (plasma protein binding); LHY746	Rat, Monkey, Human plasma	*In vitro*	Array BioPharma Inc.	DM[redacted]-001	4.2.2.7-1
Metabolism (relative contribution of CYPs); LHY746	Recombinant CYPs	*In vitro*	Array BioPharma Inc.	DM[redacted]-020	5.3.2.2-14
Metabolism (CYP inhibition); LHY746	Human liver microsomes	*In vitro*	Array BioPharma Inc.	DM[redacted]-016	5.3.2.2-15
Transporter inhibition; LHY746	Transporter-expressing cells	*In vitro*	[redacted]	[redacted]-094	5.3.2.2-16
Pharmacokinetics (formulation)	Monkey, Cynomolgus	PO	Novartis Pharmaceuticals	[redacted]70448	4.2.2.7-2

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

Species	Rat	Monkey
Location in CTD	4.2.2.1-1	4.2.2.1-2
Report No.	DMPK R[redacted]00595	DMPK R[redacted]00595b
Testing Facility	Novartis Pharmaceuticals	Novartis Pharmaceuticals
Matrix	Plasma	Plasma
Anticoagulant	EDTA	EDTA
Sample preparation	Protein precipitation	Protein precipitation
Method Type	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Analyte	LGX818	LGX818
Internal Standard	LGX818[M+6]	LGX818[M+6]
Matrix Sample Size	50 μL	50 μL
Calibration curve range, ng/mL	5.00 to 5000	5.00 to 5000
Validation dilution method	20-fold dilution	NA
Matrix Stability, room temperature	22 h	20 h
Matrix Stability, stored at temperature	76 days, ≤−60°C	103 days, ≤−60°C
Extract Stability, stored at autosampler temperature	7 days, 4°C	96 h, 4°C
Matrix Freeze/Thaw Stability, temperature	3 cycles, ≤−60°C	3 cycles, ≤−60°C

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3.1 マウス

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-1
Report No.: RD-20[redacted]-50077

Species	Balb/c mice	
Gender, Number of animals	Male, n=3	Male, n=3
Feeding Condition	Fed	Fed
Vehicle/Formulation	Solution using 20% PEG300 and 30% TPGS (10% solution) in water	Solution using 20% PEG300 and 30% TPGS (10% solution) in water
Method of Administration	PO	IV
Dose (mg/kg)	10	2
Sample	Plasma	Plasma
Analyte	NVP-LGX818	NVP-LGX818
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters (Mean ± SD)		
AUCinf (ng·h/mL)	16430 ± 2346 30426 ± 4344[$]	7715 ± 690 14287 ± 1277[$]
Cmax (ng/mL)	14271 ± 2346 26427 ± 4293[$$]	-
Tmax(h)	0.5 ± 0.0	-
CL (mL/min/kg)	-	4.34 ± 0.37
Vss (L/kg)	-	0.10 ± 0.01
T1/2 (h)	1.42 ± 0.06	0.86 ± 0.03
MRT (h)	-	0.38 ± 0.06
BA (%)	42.6 ± 6.1	-

$: expressed in nmol·h/L; $$: expressed in nmol/L
-: not applicable

2.6.5.3.2 ラット（放射性標識体）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2
Report No.: DMPK R[redacted]00227

Species	Wistar Hannover rats			
Gender, Number of animals	Male, n = 3		Male, n = 3	
Feeding Condition	Fed		Fed	
Vehicle/Formulation	Suspension of ^{14}C-LGX818 (6.16 µCi/mg) in water containing 0.5% MC and 0.5% Tween 80		Solution of ^{14}C-LGX818 (21.8 µCi/mg) in 20% propylene glycol/3% solutol HS-15/45 mmol/L citrate buffer (pH 4)	
Method of Administration	PO		IV	
Dose (mg/kg)	50		5	
Radionuclide	^{14}C		^{14}C	
Sample	Plasma		Plasma	
Analyte	Radioactivity, LGX818		Radioactivity, LGX818	
Assay	LSC, LC/MS/MS		LSC, LC/MS/MS	
Pharmacokinetic Parameters (Mean ± SD)				
	Based on radioactivity in plasma	Based on parent drug in plasma	Based on radioactivity in plasma	Based on parent drug in plasma
Cmax (ng eq./mL or ng/mL)	40600 ± 13200	36400 ± 12900	59400 ± 306	43500 ± 3900
Tmax (h)	2.7 ± 1	2.7 ± 1.2	0.083 ± 0.000[a]	0.083 ± 0.000[a]
AUClast (ng eq.·h/mL or ng·h/mL)	287000 ± 100000	245000 ± 95600	82100 ± 2240	58700 ± 2900
Tlast (h)	32 ± 14	72 ± 0	20 ± 6.9	168 ± 0
AUCinf (ng·h/mL)	-	245000 ± 95600	-	58900 ± 2800
CL (mL/min/kg)	-	-	-	1.42 ± 0.07
Vss (L/kg)	-	-	-	0.31 ± 0.02
T1/2 (h)	5.9 ± 5.6	7.6 ± 1.4	3.1 ± 0.44	62 ± 26
Fraction absorbed (%)[b]	35	-	-	-
BA (%)[b]	-	42	-	-

[a]First timepont
[b]Calculated from a comparison of AUClast values. The SD was not reported.
-: not applicable

2.6.5.3.3 ラット（非標識体）

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-3
Report No.: RD-20[redacted]-50078

Species	Wistar rats	
Gender, Number of animals	Male, n = 3	Male, n = 3
Feeding Condition	Fed	Fed
Vehicle/Formulation	Solution using 20% PEG300 and 30% TPGS (10% solution) in water	Solution using 20% PEG300 and 30% TPGS (10% solution) in water
Method of Administration	PO	IV
Dose (mg/kg)	10	3
Sample	Plasma	Plasma
Analyte	NVP-LGX818	NVP-LGX818
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS
Pharmacokinetic Parameters (Mean ± SD)		
AUCinf (ng·h/mL)	77594 ± 18790 143693 ± 34797$	47320 ± 5243 87629 ± 9710$
Cmax (ng/mL)	26125 ± 2087 48380 ± 3865$$	-
Tmax(h)	0.5 ± 0.0	-
CL (mL/min/kg)	-	1.06 ± 0.11
Vss (L/kg)	-	0.13 ± 0.01
T1/2 (h)	2.37 ± 0.17	2.31 ± 0.05
MRT (h)	-	2.07 ± 0.20
BA (%)	49.2 ± 11.9	-

$: expressed in nmol·h/L; $$: expressed in nmol/L.
-: not applicable

2.6.5.3.4 サル

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-4
Report No. DMPK R[redacted]00268

Species	Cynomolgus monkeys			
Gender, Number of animals	Male, n = 3		Male, n = 2	
Feeding Condition	Fed		Fed	
Vehicle/Formulation	Suspension of ^{14}C-LGX818 (2.58 µCi/mg) in vehicle prepared for the human oral clinical ADME study		Solution of ^{14}C-LGX818 (10.93 µCi/mg) in 20% propylene glycol / 3% solutol HS-15 / 45 mmol/L citrate buffer (pH 4)	
Method of Administration	PO		IV	
Dose (mg/kg)	20		3	
Radionuclide	^{14}C		^{14}C	
Sample	Plasma		Plasma	
Analyte	Radioactivity, LGX818		Radioactivity, LGX818	
Assay	LSC, LC/MS/MS		LSC, LC/MS/MS	
Pharmacokinetic Parameters (Mean or Mean ± SD)				
	Based on radioactivity in plasma	Based on parent drug in plasma	Based on radioactivity in plasma	Based on parent drug in plasma
Cmax (ng eq./mL or ng/mL)	5350 ± 1860	1010 ± 378	4440	3010
Tmax (h)	2 ± 0	2 ± 0	0.083[a]	0.083[a]
AUClast (ng eq.·h/mL or ng·h/mL)	21600 ± 5440	2900 ± 634	4980	2420
AUCinf (ng eq.·h/mL or ng·h/mL)	22400 ± 5590	2930 ± 644	5060	2420
CL (mL/min/kg)	-	-	-	20.0
Vss (L/kg)	-	-	-	1.0
T1/2 (h)	3.9 ± 1.5	1.4 ± 0.27	0.64	1.1
Fraction absorbed (%)	80	-	-	-
BA (%)	-	22	-	-

[a]first timepoint.
-: not applicable

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

2.6.5.4.1 ラット

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 4.2.3.2-2
Study No.: 8000058

Species	Wistar Hannover rats					
Gender, Number of animals	Male/Female, n = 10/group for 6, 20 and 60 mg/kg dose levels					
Feeding condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Suspension using 0.5% CMC and 0.5% Tween 80 in water					
Duration	13 weeks					
Dose (mg/kg)	6, 20, 60					
Sample	Plasma					
Method of Administration	PO					
Analyte	LGX818					
Assay	LC/MS/MS					
Pharmacokinetic parameters (Composite data (Male/Female)[a]) Mean or Mean ± SE[b]						
Dose (mg/kg/day)	6		20		60	
Samping time	Day 1	Day 90	Day 1	Day 90	Day 1	Day 90
Cmax (ng/mL)	9820/16800	10400/18600	27500/48300	42100/54500	57800/102000	100000/150000
Cmax/Dose ([ng/mL]/[mg/kg/day])	1640/2800	1730/3100	1380/2420	2110/2730	963/1700	1670/2500
Tmax(h)	1.00/1.00	1.00/1.00	1.00/1.00	1.00/0.50	0.50/1.00	1.00/1.00
AUC24h (ng·h/mL)	40900 ± 7130/ 96800 ± 6900	45200 ± 2340/ 114000 ± 6730	141000 ± 13800/ 288000 ± 89000	178000 ± 20100/ 414000 ± 44700	303000 ± 68400/ 879000 ± 184000	614000 ± 73600/ 1110000 ± 73700
AUC24h/Dose ([ng·h/mL]/[mg/kg/day])	6820/16100	7540/19000	7040/14400	8890/20700	5060/14600	10200/18500

[a]PK data were treated as composite; there were 2 samples per sex at each time point for each group.
[b]SE was only reported for AUC24h values.

2.6.5.4.2 サル

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 4.2.3.2-5
Study No.: [redacted]70471

Species	Cynomolgus monkeys					
Gender, Number of animals	Male/Female, n = 4/group/sex for 20 and 60 mg/kg dose levels, with 2 extra recovery monkeys in the high dose group					
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	[redacted]LGX818[redacted] in purified water					
Duration	13 weeks					
Dose (mg/kg)	20, 60					
Sample	Plasma					
Method of Administration	PO					
Analyte	LGX818					
Assay	LC/MS/MS					
Pharmacokinetic parameters (Composite data (Male/Female)[a]) Mean or Mean ± SD[a]						
Dose (mg/kg/day)	20			60		
Sampling time	Day 1	Day 23	Day 86	Day 1	Day 23	Day 86
Cmax (ng/mL)	3590/8270	1740/3190	1640/2930	10400/12700	12100/12800	6790/7790
Cmax/Dose ([ng/mL]/[mg/kg/day])	180/414	87.0/160	82.0/147	173/211	202/214	113/130
Tmax (h)	1.00/0.750	0.875/0.750	0.875/1.13	0.917/1.00	0.917/1.25	1.67/2.00
AUC24h (ng·h/mL)	5830 ± 6390/ 11100 ± 3980	2730 ± 2630/ 4940 ± 3390	3120 ± 2450/ 4280 ± 4620	24200 ± 17100/ 43000 ± 31000	23500 ± 17800/ 31400 ± 20800	20300 ± 19200/ 23900 ± 20400
AUC24h/Dose ([ng·h/mL]/[mg/kg/day])	291 ± 320/ 558 ± 200	137 ± 131/ 247 ± 169	156 ± 123/ 214 ± 232	404 ± 285/ 717 ± 519	392 ± 297/ 523 ± 346	339 ± 321/ 399 ± 340

[a]SD was only reported for AUC24h values. For each sex, n = 4 for the 20 mg/kg dose groups and 6 for the 60 mg/kg dose groups.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.3-1
Report No.: DMPK R[redacted]00588

Species	Wistar Hannover rats	Long-Evans rats
Gender, Number of animals	Male, n = 1 (Last timepoint: 168h)	Male, n = 8 (1/timepoint)
Sampling time	168 h	0.25, 1, 2, 4, 7, 24, 72, 168 h
Feeding Condition	Fed	Fed
Vehicle/Formulation	Suspension of ^{14}C-LGX818 (6.16 µCi/mg) in water containing 0.5% MC and 0.5% Tween 80	Suspension of ^{14}C-LGX818 (6.16 µCi/mg) in water containing 0.5% MC and 0.5% Tween 80
Method of Administration	PO	PO
Dose (mg/kg)	50	50
Radionuclide	^{14}C	^{14}C
Assay	QWBA	QWBA

Pharmacokinetic parameters of radioactivity in tissues following a single 50 mg/kg oral dose of ^{14}C-LGX818 in the Long-Evans rat[a]

Tissue/Organs	Cmax (µg eq./g)	Tmax (h)	AUCinf (µg eq.·h/g)	Apparent T1/2 (h)	Tissue-to-blood ratio, Cmax	Tissue-to-blood ratio, AUCinf
Adrenal cortex	32	0.25	97.2	2.72	0.660	0.450
Adrenal medulla	35.7	0.25	115	3.01	0.736	0.532
Bile	157	0.25	685	2.78	3.24	3.17
Blood	48.5	0.25	216	2.91	1	1
Bone marrow	13.5	2	47.7	1.92	0.278	0.221
Bone mineral	2.46	2	10	2.66	0.0507	0.0463
Brain	0.916	0.25	3.82	2.64	0.0189	0.0177
Colon wall	31.1	4	69.4**	NA	0.641	1.18*
Epididymis	9.86	2	65.1	3.61	0.203	0.301
Esophagus	27.8	1	102	2.57	0.573	0.472
Eye	0.283	2	3.76	7.71	0.00584	0.0174
Fat (brown)	17.7	0.25	57.6	2.72	0.365	0.267
Fat (white)	2.25	2	2.25**	NA	0.0464	0.0365*
Harderian gland	14.5	2	70.7	5.36	0.299	0.327
Heart	22.7	0.25	86.7	2.94	0.468	0.401

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.3-1
Report No.: DMPK R[redacted]00588

Pharmacokinetic parameters of radioactivity in tissues following a single 50 mg/kg oral dose of ^{14}C-LGX818 in the Long-Evans rat[a]

Tissue/Organs	Cmax (µg eq./g)	Tmax (h)	AUCinf (µg eq.·h/g)	Apparent T1/2 (h)	Tissue-to-blood ratio, Cmax	Tissue-to-blood ratio, AUCinf
Kidney pelvis	57.6	0.25	322	2.86	1.19	1.49
Kidney cortex	39	2	233	3.46	0.804	1.08
Kidney medulla	39.5	2	258	10.4	0.814	1.19
Liver	70.8	0.25	574	47.2	1.46	2.66
Lung	42	0.25	189	3.32	0.866	0.875
Lymph node	10.8	2	61	2.53	0.223	0.282
Muscle	8.53	2	31.9	2.27	0.176	0.148
Pancreas	13.6	0.25	101	3.87	0.280	0.468
Pituitary gland	16.5	0.25	72.8	3.56	0.340	0.337
Salivary gland	14.1	0.25	64.2	2.68	0.291	0.297
Seminal vesicles	1.29	7	4.65	1.36	0.0266	0.0215
Skin	14.8	1	79.9	3.58	0.305	0.370
Small intestine wall	25.3	1	107	5.13	0.522	0.495
Spinal cord	0.708	1	3.3	3.02	0.0146	0.0153
Spleen	9.26	0.25	55.4	4.61	0.191	0.256
Stomach glandular	17.6	0.25	63.7	3.01	0.363	0.295
Testis	5.74	2	51.8	3.3	0.118	0.240
Thymus	6.02	2	28.4	2.82	0.124	0.131
Thyroid gland	14.8	0.25	58	2.36	0.305	0.269
Uveal tract	30.9	2	133	5.61	0.637	0.616

NA = not analyzed

[a]These data are from Long-Evans (pigmented) rats. There was also data for a 168-h time point in a single Wistar Hannover (albino) rat, but as for the Long-Evans rats at 168 h, all tissue radioactivity values were not distinguishable from background, with one exception for both, the liver (235 ng eq./g for pigmented rat, 143 ng eq./g for albino rat).

* Tissue-to-blood ratios of AUC were calculated with AUClast, due to indiscernible terminal phase. Therefore, the actual AUC ratio may be higher than the calculated value.

** Value was AUClast. Not able to calculate AUCinf due to indiscernible terminal phase.

2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.3-2
Report No.: DMPK R[redacted]00210

Study System	*In vitro*	
Test system, method	Plasma from whole blood, ultracentrifugation	
Radionuclide	^{14}C	
Analyte	Radioactivity	
Assay	LSC	
Species	^{14}C-LGX818 concentrations (ng/mL)	Plasma protein binding (% Bound ± SD)[c]
Mouse[a]	50, 500, 5000, 50000	98.6 ± 0.4
Rat[a]	50, 500, 5000, 50000	98.1 ± 1.7
Monkey[a]	50, 500, 5000, 50000	74.6 ± 8.5
Human[b]	50, 500, 5000, 50000	86.1 ± 4.9

[a]Pooled blood ($n \geq 3$), data was obtained from triplicate analyses.
[b]Mean data were obtained from the three individual subjects.
[c]Values reported are averages over the range of concentrations because there was no evidence of concentration dependence.

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

実施せず.

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8.1 血球移行

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.3-2
Report No.: DMPK R[redacted]00210

Study System	*In vitro*	
Test system and method	Whole blood was incubated with ^{14}C-LGX818 at 37°C for 30 min.	
Radionuclide	^{14}C	
Analyte	Radioactivity	
Assay	LSC	
Species	^{14}C-LGX818 concentrations (ng/mL)	Mean Blood/Plasma Ratio ± SD[c]
Rat[a]	50, 500, 5000, 50000	0.61 ± 0.12
Monkey[a]	50, 500, 5000, 50000	0.76 ± 0.05
Human[b]	50, 500, 5000, 50000	0.75 ± 0.21

[a]Pooled blood ($n \geq 3$) with data obtained from triplicate analyses except for the 50 ng/mL concentration, for which n = 1 or 2.
[b]Mean data were obtained from the 3 individual subjects except for the 50 ng/mL concentration, for which n = 2.
[c]Values reported are averages over the range of concentrations because there was no evidence of concentration dependence.

2.6.5.9 薬物動態試験：*In vitro* における代謝

2.6.5.9.1 肝細胞中での安定性

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.4-1
Report No.: DMPK R[redacted]00081

Study system	*In vitro*					
Test system	Sprague Dawley rat, cynomolgus monkey or human hepatocytes (from a single donor or cryopreserved, pooled hepatocytes).					
Method	^{14}C- LGX818 (2.5 and 12.5 µmol/L) was incubated with hepatocytes at 37°C up to 24 h.					
Analyte/assay	Radioactivity/radio-HPLC					
	2.5 µmol/L ^{14}C-LGX818			12.5 µmol/L ^{14}C-LGX818		
Species	CLint (µL/h/10^6 cells)	CLh (mL/h/kg)[a]	ER (%)[b]	CLint (µL/h/10^6 cells)	CLh (mL/h/kg)[a]	ER (%)[b]
Rat	123	482	10.0	48.2	201	4.19
Monkey	686	1270	48.5	276	720	27.5
Human (Caucasian)	54.2	124	10.0	35.4	84.1	6.77
Human (Cryopreserved)	-[c]	-[c]	-[c]	38.3	90.4	7.28

[a]CLh = predicted in vivo hepatic blood clearance calculated using the well-stirred model without accounting for binding in the incubation and blood since these values were unavailable.
[b]ER = predicted hepatic extraction ratio estimated as CLh/hapatic blood flow (QL), where the QL is 80, 43.6, and 20.7 mL/min/kg for rat, monkey, and human, respectively.
[c]A value for cryopreserved human hepatocytes was only reported for the 12.5 µmol/L ^{14}C-LGX818 incubation concentration.

2.6.5.9.2 肝細胞中での代謝物組成

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.4-1
Report No.: DMPK R[redacted]00081

Study system	*In vitro*
Test system	Sprague Dawley rat, cynomolgus monkey or human hepatocytes (from a single donor or cryopreserved, pooled hepatocytes)
Method	^{14}C-LGX818 (12.5 µmol/L) was incubated with hepatocytes at 37°C for 24 h.
Assay	Radio-HPLC

Metabolite	Observed mass MH^+ (m/z)[a]	Rat	Monkey	Human
LGX818	542.1619	++	+	++
M2 (sulfonamide cleavage)	NA	++	++	++
M12.8 (glucuronide of M20.3A)	618.1417	--	--	++
M13.5 (indirect glucuronide conjugate)	692.1435	--	++	--
M14 (glucuronide of M25.5)	619.1276	--	++	--
M14.4 (glucuronide of M23.8)	561.0842	--	++	--
M15.3 (glucuronide of M21)	577.0820	+	++	--
M16	401.0465	+	++	--
M16.8	458.1047	--	++	--
M17.3 (glucuronide of M32.7)	676.1475	+	+	++
M19.3 (glucuronide of M25.5)	619.1254	--	++	--
M19.6 (glucose conjugate of M32.7)	662.1672	--	--	++
M19.7	401.0462	--	++	--
M20.3A	442.1103	++	++	--
M20.3B (glucuronide of M25.5)	619.1248	--	++	++
M21	401.0478	++	++	--
M22.5A	457.0736	--	++	--
M22.5B	516.1102	++	--	--
M23.8 (N-dealkylated metabolite formed from M32.7 and M42.5A)	385.0524	++	++	++
M24.2	692.1433	--	+	--
M24.5	515.1158	--	++	--
M24.8	677.1675	--	+	--
M25	516.1107	++	++	--

2.6.5.9.2 肝細胞中での代謝物組成（続き）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.4-1
Report No.: DMPK R[redacted]00081

Metabolite	Observed mass MH^+ (m/z)[a]	Rat	Monkey	Human
M25.5 (N-dealkylation, carbamate hydrolysis, oxidative deamination and then reduction)	443.0938	++	++	++
M28.3 (formed from M36.5 and M42.5A)	443.0939	++	++	++
M28.6A	516.1107	++	++	--
M28.6B (direct glucuronide conjugate)	718.1923	--	+	++
M30	501.1364	--	++	++
M30.6 (carboxylic acid)	572.1377	--	++	--
M31A (glucuronide of M44)	661.1721	--	--	++
M31B	516.1087	++	--	--
M31C	441.0774	++	++	--
M31.8 (glucose conjugate)	704.2154	--	--	++
M32.7 (N-desisopropyl LGX818)	500.1160	++	++	++
M33	574.1533	--	++	--
M33.8 (glucuronide of M44)	661.1735	--	--	++
M34.8	499.1190	++	++	--
M35 (direct glucuronide conjugate)	718.1942	--	--	++
M35.5A	558.1571	++	--	++
M35.5B (carbamate hydrolysis)	484.1566	++	--	++
M35.5C (glucuronide of M44)	661.1721	--	++	++
M36.5 (hydroxylation)	558.1569	++	++	++
M38 (glucuronide of M46.3)	734.1902	--	--	++
M39.4(direct glucuronide conjugate)	718.1932	--	--	++
M40.3 (dehydration of M42.5B)	540.1476	++	++	++
M41.3	482.1418	++	--	--
M42.5A (LHY746, N-dealkylation)	427.0988	++	++	++
M42.5B (hydroxylation)	558.1596	++	--	++
M44 (reduction of M50.5A)	485.1434	++	+	++
M45 (N-hydroxylation)	558.1574	++	++	++

2.6.5.9.2 肝細胞中での代謝物組成（続き）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.4-1
Report No.: DMPK R[redacted]00081

Metabolite	Observed mass MH^+ (m/z)[a]	Rat	Monkey	Human
M46.3 (hydroxylation)	558.1579	--	--	++
M49	462.1816	++	+	++
M50.5A (deaminated M35.5B)	483.1252	++	++	++
M57.5	481.1093	++	++	++
M58.5 (dehydrogenated LGX818)	540.1480	++	++	++

-- indicates not detected, + indicates trace amount, and ++ indicates more than a trace amount.
[a]The predicted mass-to-charge ratio (m/z) of the analyte; reflects radiolabel.

2.6.5.9.3 ヒト肝細胞中での安定性及び代謝物組成

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.4-1
Report No.: DMPK R[redacted]000081

Study system	*In vitro*														
Test system	Human hepatocytes (from a single donor)														
Method	^{14}C-LGX818 (2.5 and 12.5 µmol/L) was incubated with human hepatocytes at 37°C up to 24 h.														
Assay	Radio-HPLC														
	% radioactivity in sample[a]														
	2.5 µmol/L ^{14}C-LGX818								12.5 µmol/L ^{14}C-LGX818						
Time (h)	0.25[b]	0.5	1	2	4	8	18	24	0.5	1	2	4	8	18	24
M2 (sulfonamide cleavage)	1.66	1.18	0.86	1.32	1.31	1.70	1.44	1.45	1.20	1.02	0.60	0.94	0.87	0.66	1.06
M12.8 (glucuronide of M20.3A)	--[c]	--	--	--	--	--	2.83	3.39	--	--	--	--	0.29	0.63	0.75
M17.3 (glucuronide of M32.7)	--	--	--	1.54	2.56	9.95	17.2	18.9	--	0.22	0.62	1.97	6.24	12.5	18.1
M32.7 (N-desisopropyl LGX818)	NR[d]	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	--	0.20	0.23	0.36	0.49	0.45	0.41
M36.5 (hydroxylation)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	--	--	trace	0.12	0.45	1.04	1.27
M38 (glucuronide of M46.3)	--	--	--	--	1.47	4.38	5.85	7.44	--	--	--	0.53	1.67	3.33	6.34
M42.5A/42.5B (LHY746, N-dealkylation/hydroxylation)	--	--	--	1.16	2.64	5.02	6.17	7.64	0.37	0.47	1.14	1.71	3.08	3.71	4.12
M44 (reduction of M50.5A)	--	--	--	--	--	4.14	7.14	7.39	--	--	--	0.43	2.11	4.80	5.79
M45 (N-hydroxylation)	--	--	--	--	--	1.19	1.55	1.45	--	0.12	0.23	0.28	0.61	0.86	1.03
M46.3 (hydroxylation)	--	--	--	1.59	2.42	3.18	2.02	2.03	--	0.44	1.82	3.11	4.71	4.83	5.18
M50.5A (deaminated M35.5B)	--	--	--	1.41	1.99	4.83	3.28	2.57	--	--	1.51	2.18	3.04	2.76	2.59
M58.5 (dehydrogenated LGX818)	--	--	--	--	0.68	1.59	1.78	1.04	--	--	0.26	0.47	1.21	1.70	1.53
LGX818	97.5	98.2	97.6	93.0	86.9	60.8	38.1	28.0	96.9	95.9	93.2	87.3	72.2	54.9	41.5

[a]Results, i.e., formation of prominent metabolites or metabolites that were observed in more than 3 incubation time points, are expressed as % of radioactivity in sample.
[b]The 0.25 h sample was available only for the 2.5 µmol/L incubation concentration.
[c]Not detected
[d]NR = not reported

2.6.5.9.4 ヒト肝ミクロソーム中での代謝物組成

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-1
Report No.: DMPK R[redacted]00135

Study system	*In vitro*
Test system	Human liver microsomes supplemented with NADPH and/or UDPGA
Method	^{14}C-LGX818 (38 µmol/L) was incubated with human liver microsomes supplemented with NADPH and/or UDPGA at 37°C for 30 min.
Assay	Radio-HPLC

LGX818-Derived Analyte/Metabolite	Control Incubation (no cofactor supplement)	Oxidative Metabolism (+ NAPDH)	Conjugative Metabolism (+ UDPGA)	Oxidative and Conjugative Metabolism (+ NADPH + UDPGA)
M17.3 (glucuronide of M32.7)	-	-	-	+
M18.2 (glucuronide of M32.7)	-	-	-	+
M32.7 (N-desisopropyl LGX818)	-	+	-	+
M35 (direct glucuronide conjugate)	-	-	+	-
M35.5A/M35.5B (carbamate hydrolysis)	-	+	-	+
M36.5 (hydroxylation)	-	+	-	+
M40.3 (dehydration of M42.5B)	-	+	-	+
M42.5A/M42.5B (LHY746, N-dealkylation/hydroxylation)	-	+	-	+
M45 (N-hydroxylation)	-	+	-	+
M46.3 (hydroxylation)	-	+	-	+
M50.5A (deaminated M35.5B)	-	+	-	+
M58.5 (dehydrogenated LGX818)	-	+	-	+

(+): detected in radiochromatograms; (-): not-detected in radiochromatograms

2.6.5.9.5 ヒト肝ミクロソーム中での代謝安定性

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-1
Report No.: DMPK R[redacted]00135

Study system	*In vitro*
Test system	Human liver microsomes
Method	^{14}C-LGX818 was incubated with human liver microsomes in the presence of NADPH.
Assay	Radio-HPLC

	Kinetic parameters for ^{14}C-LGX818 metabolism by human liver microsome			
	Km (Km,u)[a] (µmol/L)	Vmax (nmol/h/mg protein)	Vmax/ Km, CLint (mL/h/mg protein)	CLint,u[b] (mL/h/mg protein)
Total metabolism[c]	346 ± 51 (198 ± 29)	41.0 ± 4.2	0.118	0.207
M32.7 (N-desisopropyl LGX818)	115 ± 18 (65.9 ± 10)	4.15 ± 0.31	0.0361	0.0629
M35.5A/M35.5B (carbamate hydrolysis)	206 ± 33 (118 ± 19)	1.19 ± 0.11	0.00578	0.0101
M36.5 (hydroxylation)	45.5 ± 6.3 (26.1 ± 3.6)	0.160 ± 0.0079	0.00352	0.00614
M40.3 (dehydration of M42.5B)	2834 ± 2456 (1624 ± 1407)	22.2 ± 18	0.00783	0.0137
M42.5A/M42.5B (LHY746, N-dealkylation/hydroxylation)	194 ± 33 (111 ± 19)	6.53 ± 0.64	0.0337	0.0587
M45 (N-hydroxylation)	2690 ± 2287 (1541 ± 1310)	35.7 ± 29	0.0133	0.0232
M46.3 (hydroxylation)	>112	ND	ND	ND
M50.5A (deaminated M35.5B)	1355 ± 417 (776 ± 239)	26.5 ± 7.2	0.0196	0.0341
M58.5 (dehydrogenated LGX818)	85.2 ± 7.9 (48.8 ± 4.5)	0.595 ± 0.024	0.00698	0.0122

[a]Values in parentheses are the unbound Km (Km×fu,mic); fu,mic for LGX818 was determined to be 0.573 for an incubation of 1.0 mg protein/mL.
[b]Unbound CLint (CLint/fu,mic)
[c]Total metabolism includes the formation of M32.7, M35.5A/M35.5B, M36.5, M40.3, M42.5A/M42.5B, M45, M46.3, M50.5A, and M58.5.
ND = not determined

2.6.5.10 薬物動態試験：*In vivo* における代謝

2.6.5.10.1 ラット血漿

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2
Study No.: DMPK R[redacted]00227

Species		Wistar Hannover rats			
Gender, Number of animals		Male, n = 3		Male, n = 3	
Feeding Condition		Fed		Fed	
Vehicle/Formulation		Suspension of ^{14}C-LGX818 (6.16 µCi/mg) in water containing 0.5% MC and 0.5% Tween 80		Solution of ^{14}C-LGX818 (21.8 µCi/mg) in 20% propylene glycol/3% solutol HS-15/ 45 mmol/L citrate buffer (pH 4)	
Method of Administration		PO		IV	
Dose (mg/kg)		50		5	
Radionuclide		^{14}C		^{14}C	
Sample		Plasma		Plasma	
Analyte		Radioactivity		Radioactivity	
Assay		Radio-HPLC		Radio-HPLC	
Analyte/Metabolite	**Observed mass MH^+ (m/z)**	**AUC24h (ng eq.·h/mL)**	**Percent of total radioactivity**	**AUC24h (ng eq.·h/mL)**	**Percent of total radioactivity**
M23.8 (N-dealkylated metabolite formed from M32.7 and M42.5A)	383.0486	13600	3.8	5200	4.6
M25.5 (N-dealkylation, carbamate hydrolysis, oxidative deamination and then reduction)	441.0916	546	0.2	147	0.1
M31C	439.0767	2860	0.8	752	0.7
M32.7 (N-desisopropyl LGX818)	498.1123	8300	2.3	3780	3.3
M40.3 (dehydration of M42.5B)	538.1442	3190	0.9	863	0.8
M42.5A (LHY746, N-dealkylation)	425.0968	6910	1.9	1960	1.7
M50.5A (deaminated M35.5B)	481.1240	7370	2.0	1870	1.7
M57.5	479.1077	989	0.3	206	0.2
M58.5 (dehydrogenated LGX818)	538.1437	6430	1.8	1450	1.3
LGX818	540.1599	308000	85	95900	85
Total	--	364000	100	113000	100

2.6.5.10.2 ラット糞尿

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2
Report No.: DMPK R[redacted]00227

Species		Wistar Hannover rats					
Gender, Number of animals		Male, n = 3			Male, n = 3		
Feeding Condition		Fed			Fed		
Vehicle/Formulation		Suspension of ^{14}C-LGX818 (6.16 µCi/mg) in water containing 0.5% MC and 0.5% Tween 80			Solution of ^{14}C-LGX818 (21.8 µCi/mg) in 20% propylene glycol/3% solutol HS-15/45 mmol/L citrate buffer (pH 4)		
Method of Administration		PO			IV		
Dose (mg/kg)		50			5		
Radionuclide		^{14}C			^{14}C		
Sample		Urine, feces			Urine, feces		
Analyte		Radioactivity			Radioactivity		
Assay		Radio-HPLC			Radio-HPLC		
		% of dose[a]			**% of dose[a]**		
Excretion (Collection) Period (h)		**0-48**	**0-48**		**0-72**	**0-48**	
Analyte/Metabolite	**Observed mass MH^+ (m/z)**	**Urine**	**Feces**	**Total Excreta**	**Urine**	**Feces**	**Total Excreta**
M16.1	457.0871	ND	0.18	0.18	ND	0.34	0.34
M20.3A	440.1077	ND	0.94	0.94	ND	1.34	1.34
M21	399.0451	0.13	ND	0.13	0.24	ND	0.24
M22.5B	514.1078	0.15	0.92	1.07	0.24	1.39	1.63
M23.8 (N-dealkylated metabolite formed from M32.7 and M42.5A)	383.0486	6.70	3.18	9.88	13.6	6.32	19.9
M25	514.1079	0.08	0.52	0.60	0.14	1.02	1.16
M25.5 (N-dealkylation, carbamate hydrolysis, oxidative deamination and then reduction)	441.0916	0.20	2.30	2.50	0.46	3.98	4.44
M28.3 (formed from M36.5 and M42.5A)	441.0919	0.11	0.24	0.35	0.21	0.43	0.64
M31B/M31C[b]	514.1082 /439.0767	1.02	2.04	3.06	1.84	3.68	5.52

2.6.5.10.2　　ラット糞尿（続き）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2
Report No.: DMPK R[redacted]00227

		% of dose[a]			% of dose[a]		
Excretion (Collection) Period (h)		**0-48**	**0-48**	**Total Excreta**	**0-72**	**0-48**	**Total Excreta**
Analyte/Metabolite	**Observed mass MH^+ (m/z)**	**Urine**	**Feces**		**Urine**	**Feces**	
M32.7 (N-desisopropyl LGX818)	498.1123	2.40	22.8	25.2	5.23	36.1	41.3
M35.5B (carbamate hydrolysis of LGX818)	482.1545	ND	0.77	0.77	ND	1.21	1.21
M36.5 (hydroxylation)	556.1543	0.03	1.03	1.06	0.08	1.77	1.85
M42.5A/M42.5B[c] (LHY746, N-dealkylation/hydroxylation)	425.0968/ 556.1535	0.02	0.50	0.52	0.07	0.73	0.80
M44 (reduction of M50.5A)	483.1396	ND	0.42	0.42	ND	0.70	0.70
M48.7 (hydroxylation)	556.1550	ND	0.31	0.31	ND	0.66	0.66
M50.5A (deaminated M35.5B)	481.1240	0.05	0.56	0.61	0.09	0.31	0.40
M58.5 (dehydrogenated LGX818)	538.1437	ND	0.33	0.33	ND	0.33	0.33
LGX818	540.1599	0.05	45.7	45.8	0.20	9.96	10.2
Total	--	11.8	84.1	95.9	23.9	72.7	96.6

ND, not detected
[a]All values are percent of administered dose based on metabolite profiles from pooled excreta samples.
[b]M31B and M31C were not chromatographically resolved.
[c]M42.5A and M42.5B were not chromatographically well resolved.

2.6.5.10.3 ラット胆汁

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2
Report No.: DMPK R[redacted]00227

Species		Wistar Hannover rats (bile duct-cannulated rats)	
Gender, Number of animals		Male, n=2	Male, n=2
Feeding Condition		Fed	Fed
Vehicle/Formulation		Suspension of ^{14}C-LGX818 (4.04 µCi/mg) in water containing 0.5% MC and 0.5% Tween 80	Solution of ^{14}C-LGX818 (20.3 µCi/mg) in 20% propylene glycol/3% solutol HS-15/45 mmol/L citrate buffer (pH 4)
Method of Administration		PO	IV
Dose (mg/kg)		50	5
Radionuclide		^{14}C	^{14}C
Sample		Bile	Bile
Analyte		Radioactivity	Radioactivity
Assay		Radio-HPLC	Radio-HPLC
		% of dose[a]	**% of dose[a]**
Excretion (Collection) Period (h)		**0-24**	**0-24**
Analyte/Metabolite	**Observed mass MH^+ (m/z)**	**Bile**	**Bile**
M13.5 (indirect glucuronide conjugate)	690.1403	0.30	0.37
M20 (indirect glucuronide conjugate)	690.1392	0.30	0.76
M20.3A	440.1077	0.80	0.15
M21	399.0451	ND	0.86
M22.5B	514.1078	0.67	0.36
M23.4 (glutathione conjugate)	861.2220	0.32	0.30
M23.8 (N-dealkylated metabolite formed from M32.7 and M42.5A)	383.0486	3.86	6.18
M25	514.1079	0.39	0.68

2.6.5.10.3 ラット胆汁（続き）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2
Report No.: DMPK R[redacted]00227

		% of dose[a]	% of dose[a]
Excretion (Collection) Period (h)		**0-24**	**0-24**
Analyte/Metabolite	**Observed mass MH^+ (m/z)**	**Bile**	**Bile**
M25.5 (N-dealkylation, carbamate hydrolysis, oxidative deamination and then reduction)	441.0916	0.20	0.24
M28.3 (formed from M36.5 and M42.5A)	441.0919	0.14	0.15
M28.6A	514.1081	1.41	1.03
M31B/M31C[b]	514.1082 /439.0767	1.68	2.18
M32.7 (N-desisopropyl LGX818)	498.1123	11.1	20.6
M35 (direct glucuronide conjugate)	716.1929	0.21	0.31
M35.2 (indirect glucuronide conjugate)	732.1873	0.37	0.60
M35.5B (carbamate hydrolysis of LGX818)	482.1545	0.41	ND
M36.5 (hydroxylation)	556.1543	0.56	0.95
M42.5A/M42.5B[c] (LHY746, N-dealkylation/hydroxylation)	425.0968 /556.1535	0.37	0.59
M45 (N-hydroxylation)	556.1537	0.34	0.42
M50.5A (deaminated M35.5B)	481.1240	0.33	0.50
M58.5 (dehydrogenated LGX818)	538.1437	0.07	0.17
LGX818	540.1599	0.87	1.33
Total	--	26.1	40.9

ND, not detected
[a]All values are percent of administered dose based on metabolite profiles from pooled excreta or bile samples.
[b]M31B and M31C were not chromatographically resolved, but only M31C was found in urine and bile duct-cannulated rats.
[c]M42.5A and M42.5B were not chromatographically well resolved.

2.6.5.10.4　　サル血漿

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-4
Study No.: DMPK R[redacted]00268

Species		Cynomolgus monkeys			
Gender, Number of animals		Male, n=3		Male, n=2	
Feeding Condition		Fed		Fed	
Vehicle/Formulation		Suspension of ^{14}C-LGX818 (2.58 µCi/mg) in vehicle prepared for the human oral clinical ADME study		Solution of ^{14}C-LGX818 (10.93 µCi/mg) in 20% propylene glycol/3% solutol HS-15/45 mmol/L citrate buffer (pH 4)	
Method of Administration		PO		IV	
Dose (mg/kg)		20		3	
Radionuclide		^{14}C		^{14}C	
Sample		Plasma		Plasma	
Analyte		Radioactivity		Radioactivity	
Assay		Radio-HPLC		Radio-HPLC	
Analyte/Metabolite	**Observed mass MH$^+$ (m/z)**	**AUClast (ng eq.·h/mL)**	**Percent of total radioactivity**	**AUClast (ng eq.·h/mL)**	**Percent of total radioactivity**
M2 (sulfonamide cleavage)	Not obtained due to small amount formed	1360	4.8	270	3.8
M13.5 (indirect glucuronide conjugate)	690.1403	235	0.8	50.8	0.7
M19.3 (glucuronide of M25.5)	617.1217	180	0.6	58.9	0.8
M20.3A	440.1074	242	0.9	57.9	0.8
M22.5A	455.0707	11600	42	1630	23
M23.8 (N-dealkylated metabolite formed from M32.7 and M42.5A)	383.0484	3250	12	554	7.8
M24.5	513.1115	144	0.5	26.8	0.4
M25.5 (N-dealkylation, carbamate hydrolysis, oxidative deamination and then reduction)	441.0933	672	2.4	114	1.6

2.6.5.10.4 サル血漿（続き）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-4
Study No.: DMPK R[redacted]00268

Analyte/Metabolite	Observed mass MH^+ (m/z)	AUClast (ng eq.·h/mL)	Percent of total radioactivity	AUClast (ng eq.·h/mL)	Percent of total radioactivity
M28.3 (formed from M36.5 and M42.5A)	441.0903	1580	5.6	206	2.9
M30/M30.6 (carboxylic acid)	499.1331/ 570.1351	245	0.9	31.1	0.4
M31C	439.0758	281	1.0	46.6	0.7
M32.7 (N-desisopropyl LGX818)	498.1124	1720	6.1	547	7.7
M36.5 (hydroxylation)	556.1555	217	0.8	132	1.8
M37.9	441.0901	114	0.4	23.4	0.3
M42.5A (LHY746, N-dealkylation)	425.0974	1370	4.9	173	2.4
M44 (reduction of M50.5A)	483.1376	318	1.1	41.8	0.6
M50.5A (deaminated M35.5B)	481.1230	588	2.1	56.6	0.8
M57.5	479.1077	32.9	0.1	17.6	0.3
M58.5 (dehydrogenated LGX818)	538.1442	786	2.8	178	2.5
LGX818	540.1595	2920	10	2870	40
Total	--	28200	--	7140	--

2.6.5.10.5 サル糞尿

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-4
Report No.: DMPK R[redacted]00268

Species		Cynomolgus monkeys					
Gender, Number of animals		Male, n=3			Male, n=2		
Feeding Condition		Fed			Fed		
Vehicle/Formulation		Suspension of ^{14}C-LGX818 (2.58 µCi/mg) in vehicle prepared for the human oral clinical ADME study			Solution of ^{14}C-LGX818 (10.93 µCi/mg) in 20% propylene glycol/3% solutol HS-15/45 mmol/L citrate buffer (pH 4)		
Method of Administration		PO			IV		
Dose (mg/kg)		20			3		
Radionuclide		^{14}C			^{14}C		
Sample		Urine, feces			Urine, feces		
Analyte		Radioactivity			Radioactivity		
Assay		Radio-HPLC			Radio-HPLC		
		% of dose[a]			**% of dose[a]**		
Excretion (Collection) Period (h)		**0-48**	**0-72**	**Total Excreta**	**0-48**	**0-48**	**Total Excreta**
Analyte/Metabolite	**Observed mass MH^+ (m/z)**	**Urine**	**Feces**		**Urine**	**Feces**	
M2 (Sulfonamide cleavage)	Not obtained due to small amount formed	0.43	ND	0.43	0.31	ND	0.31
M16.1	457.0870	ND	0.45	0.45	ND	0.42	0.42
M19.3 (glucuronide of M25.5)	617.1217	0.15	ND	0.15	0.26	ND	0.26
M20.3A	440.1074	0.23	0.52	0.75	0.21	0.59	0.80
M22.5A	455.0707	1.59	3.44	5.02	1.13	2.96	4.09
M22.5B	514.1078	ND	1.28	1.28	ND	1.42	1.42
M23.8 (N-dealkylated metabolite formed from M32.7 and M42.5A)	383.0484	4.74	2.33	7.07	3.98	2.41	6.39
M24.5	513.1115	ND	3.64	3.64	ND	3.25	3.25
M25	514.1079	0.15	ND	0.15	0.15	ND	0.15

2.6.5.10.5　　サル糞尿（続き）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-4
Report No.: DMPK R[redacted]00268

		% of dose[a]			% of dose[a]		
Excretion (Collection) Period (h)		**0-48**	**0-72**		**0-48**	**0-48**	
Analyte/Metabolite	**Observed mass MH^+ (m/z)**	**Urine**	**Feces**	**Total Excreta**	**Urine**	**Feces**	**Total Excreta**
M25.5 (N-dealkylation, carbamate hydrolysis, oxidative deamination and then reduction)	441.0933	1.64	1.96	3.60	1.03	4.22	5.25
M28.3 (formed from M36.5 and M42.5A)	441.0903	2.84	4.14	6.98	1.50	3.52	5.02
M30	499.1331	0.20	3.15	3.36	0.16	2.14	2.30
M30.6 (carboxylic acid)	570.1351	0.56	4.00	4.55	0.24	8.17	8.41
M31C	439.0758	0.20	1.05	1.26	ND	2.10	2.10
M32.7 (N-desisopropyl LGX818)	498.1124	1.86	8.69	10.6	2.96	10.3	13.2
M34.8	497.1166	ND	0.38	0.38	ND	0.39	0.39
M36.5 (hydroxylation)	556.1555	0.62	14.5	15.1	0.73	16.3	17.0
M37.9	441.0901	0.13	ND	0.13	0.06	ND	0.06
M42.5A (LHY746, N-dealkylation)	425.0974	0.12	0.36	0.48	0.10	ND	0.10
M44 (reduction of M50.5A)	483.1376	ND	0.44	0.44	ND	ND	ND
M48.7 (hydroxylation)	556.1549	ND	ND	ND	ND	0.23	0.23
M50.5A (deaminated M35.5B)	481.1230	0.04	ND	0.04	ND	ND	ND
LGX818	540.1595	0.16	6.03	6.19	0.08	2.43	2.51
Total	--	16.0	57.6	73.6	13.6	65.3	78.9

[a] Relative proportions of metabolites were based on metabolite profiles from pooled excreta samples (0-48 h or 0-72 h post dose). These time intervals represented >95% of the total radioactivity excretion. All values have been rounded to three significant figures or to the nearest 0.01 percent.
ND, not detected in radio-chromatograms

2.6.5.10.6 *In vivo* における代謝の種間比較

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2, 4.2.2.2-4, 5.3.3.1-4
Report No.: DMPK R[redacted]0022, DMPK R[redacted]00268, CLGX818A2101

Metabolite	Putative Structural Description	Plasma			Urine			Feces			Bile
		Rat	Monkey	Human	Rat	Monkey	Human	Rat	Monkey	Human	Rat
M2	Sulfonamide cleavage	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
M12.8	Glucuronide of M20.3A	-	-	++	-	-	++	-	-	+	-
M13.5	Indirect glucuronide conjugate	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
M14	Glucuronide of M25.5	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
M15.7	Glucose conjugate of M25.5	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
M16.1		-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
M17.3	Glucuronide of M32.7	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
M18.5	Glucose conjugate of M31C	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
M19.3	Glucuronide of M25.5	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-
M19.6	Glucose conjugate of M32.7	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
M20	Indirect glucuronide conjugate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
M20.3A		-	+	-	+ BDC[b]	+	-	+	+	+	+
M20.3 B	Glucuronide of M25.5	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
M21		-	-	-	+	-	-	-	-	-	+ IV
M22.5A		-	++	-	-	+	+	-	+	+	-
M22.5B		-	-	-	+	-	-	+	+	-	+
M23.4	glutathione conjugate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
M23.8	N-dealkylated metabolite formed from M32.7 and M42.5A	+	+ IV ++ PO	+	++ IV + PO	+	++	+	+	+	+
M24.5		-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
M25		-	-	-	+	+	-	+	-	-	+

2.6.5.10.6 *In vivo* における代謝の種間比較（続き）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2, 4.2.2.2-4, 5.3.3.1-4
Report No.: DMPK R[redacted]0022, DMPK R[redacted]00268, CLGX818A2101

Metabolite	Putative Structural Description	Plasma			Urine			Feces			Bile
		Rat	Monkey	Human	Rat	Monkey	Human	Rat	Monkey	Human	Rat
M25.5	N-dealkylation, carbamate hydrolysis, oxidative deamination and then reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M28	Glucuronide of M42.5A	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
M28.3	Formed from both M36.5 and M42.5A	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M28.6A		-	-	-	+ BDC[b]	-	-	-	-	-	+
M29.3		-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
M30		-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
M30.6	Carboxylic acid	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
M31A	Glucuronide of M44	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
M31B		-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
M31C		+	+	-	+	- IV + PO	+	+	+	-	+
M31.8	Glucose conjugate	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
M32.7	N-desisopropyl LGX818	+	+	+	+	+	-	++	++ IV + PO	++	++
M33.8	Glucuronide of M44	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
M34.8		-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
M35	Direct glucuronide conjugate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
M35.2	Indirect glucuronide conjugate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
M35.5B	Carbamate hydrolysis	-	-	+	+ BDC[b]	-	+	+	-	+	- IV + PO
M36.5	Hydroxylation	-	+	-	+	+	-	+	++	+	+

2.6.5.10.6 *In vivo* における代謝の種間比較（続き）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2, 4.2.2.2-4, 5.3.3.1-4
Report No.: DMPK R[redacted]0022, DMPK R[redacted]00268, CLGX818A2101

Metabolite	Putative Structural Description	Plasma			Urine			Feces			Bile
		Rat	Monkey	Human	Rat	Monkey	Human	Rat	Monkey	Human	Rat
M37.9		-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
M38	Glucuronide of M46.3	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
M38A		-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
M40.3	Dehydration of M42.5B	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M40.7		-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
M42.5A	LHY746, N-dealkylation	+	+	++	+	+	+	+	- IV + PO	+	+
M42.5B	Hydroxylation	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+
M44	Reduction of M50.5A	-	+	+	-	-	+	+	- IV + PO	+	-
M45	N-hydroxylation	-	-	-	+ BDC[b]	-	-	-	-	-	+
M46.3	Hydroxylation	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
M48.7	Hydroxylation	-	-	-	-	-	-	+	+ IV - PO	-	-
M50.5A	Deaminated M35.5B	+	+	+	+	- IV + PO	+	+	-	-	+
M57.5		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
M58.5	Dehydrogenated LGX818	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
LGX818		++	++	++	+	+	+	++	+	+	+

-indicates metabolite not detected in radiochromatograms; +, indicates metabolite detected in radiochromatograms; ++ indicates metabolite detected at >10% of radioactive dose of ^{14}C-LGX818 (urine, feces, bile) or percent of total radioactivity AUC (plasma).
[a]Not obtained due to small amount formed
[b]Only in bile duct-cannulated rats

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

2.6.5.11.1 代謝に関与する分子種

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-1
Report No.: DMPK R[redacted]00135

Study system	*In vitro*
Test system	Human recombinant CYP, FMO, and UGT enzymes CYPs: CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9 (Arg_{144}, Ile_{359}), CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP2J2, CYP3A4, CYP3A5, CYP4A11, CYP4F2, CYP4F3A, CYP4F3B, CYP4F12 FMOs: FMO1, FMO3, FMO5 UGTs: UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9, UGT1A10, UGT2B4, UGT2B7, UGT2B15, UGT2B17
Method	^{14}C-LGX818 (38 µmol/L) was incubated with human recombinant CYP, FMO, and UGT enzymes at 37ºC for 30 min.
Assay	Radio-HPLC, LC/MS/MS

	Oxidative				Conjugative					
Enzymes mediating ^{14}C-LGX818 metabolism[a]	CYP1A1	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4	UGT1A1	UGT1A3	UGT1A4	UGT1A8	UGT1A9	UGT2B7
M28.6B (direct glucuronide conjugate)	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
M31B	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M32.7 (N-desisopropyl LGX818)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M35 (direct glucuronide conjugate)	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-
M35.5A/M35.5B (carbamate hydrolysis)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
M36.5 (hydroxylation)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
M39.4 (direct glucuronide conjugate)	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
M40.3 (dehydration of M42.5B)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
M42.5A/M42.5B (LHY746, N-dealkylation/hydroxylation)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
M45 (N-hydroxylation)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
M46.3 (hydroxylation)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
M50.5A (deaminated M35.5B)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
M58.5 (dehydrogenated LGX818)	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-

[a]Only activity recombinant enzymes with detectable metabolism of ^{14}C-LGX818 are summarized in the table; all other enzymes were negative. Values are noted as detected (+) or not-detected (-) in the radio-chromatograms (CYPs) or by LC/MS/MS analysis (UGTs).

2.6.5.11.2 代謝に関与する CYP 分子種

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-2
Report No.: DMPK R[redacted]00629

Study system	*In vitro*
Test system	Human recombinant CYP enzymes
Method	Varied concentrations of ^{14}C-LGX818 was incubated with CYP1A1, CYP2D6, CYP2C19 and CYP3A4 at 37°C for 30 min. Relative activity factors (RAFs) and the intersystem extrapolation factor (ISEF) approach were used to interpret data with quantitative scaling.
Assay	Radio-HPLC

	Kinetic Parameters for ^{14}C-LGX818 Metabolism			Prediction of Contribution to Human Liver Microsomal Metabolism of ^{14}C-LGX818		
	Km (µmol/L) (Km,u, µmol/L)[a]	Vmax (nmol/h/nmol P450)[b] (nmol/h/mg protein)[c]	Vmax/Km,u, (mL/h/nmol P450)	Vmax/RAF[d], (nmol/h/mg protein)	CLint,u[e] (mL/h/mg protein)	% of Total CYP Contribution[f] (%)
Total metabolism by CYP1A1[g]	4.79 ± 0.67 (4.38 ± 0.61)	330 ± 2.9 (23.6 ± 0.21)	75.3	NA	NA	NA
Total metabolism by CYP2C19[g]	14.7 ± 1.2 (13.9 ± 1.1)	214 ± 4.4 (61.1 ± 1.3)	15.4	0.809	0.0582	16.0
Total metabolism by CYP2D6[g]	69.8 ± 5.3 (45.7 ± 3.5)	108 ± 3.2 (14.0 ± 0.42)	2.36	0.119	0.00260	0.71
Total metabolism by CYP3A4[h]	44.8 ± 2.1 (39.6 ± 1.9)	296 ± 5.0 (68.7 ± 1.2)	7.47	12.1	0.304	83.3

NA, not applecable
[a]Unbound Km, Km,u, was calculated as Km × fu,mic; fu,mic for LGX818 was calculated to be 0.914 for a microsomal protein concentration of 0.14 mg protein/mL (CYP1A1), 0.943 for 0.070 mg protein/mL (CYP2C19), 0.655 for 0.77 mg protein/mL (CYP2D6) or 0.883 for 0.215 mg protein/mL (CYP3A4).
[b]Vmax for CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4; Vmax,eff for CYP1A1
[c]Vmax was converted to nmol/h/mg protein based on the P450 content for each CYP.
[d]Relative Activity Factor (RAF); for CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4 was calculated to be 75.5, 118 and 5.7, respectively.
[e]Unbound intrinsic clearance (CLint,u) in human liver microsomes, calculated as [Vmax/RAF]/ Km,u
[f]% contribution calculated as total CYP CLint,u/∑ CLint,u CYP *100
[g]Total metabolism for CYP1A1, CYP2C19 and CYP2D6 included formation of M32.7 and M58.5.
[h]Total metabolism for CYP3A4 included formation of an uncharacterized metabolite, M32.7, M35.5A/B, M40.3, M42.5A/B, M45, M46.3 and M50.5A.

2.6.5.11.3 代謝に関与する CYP 分子種（代表的なヒト CYP 阻害剤を用いた検討）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-1
Report No.: DMPK R[redacted]00135

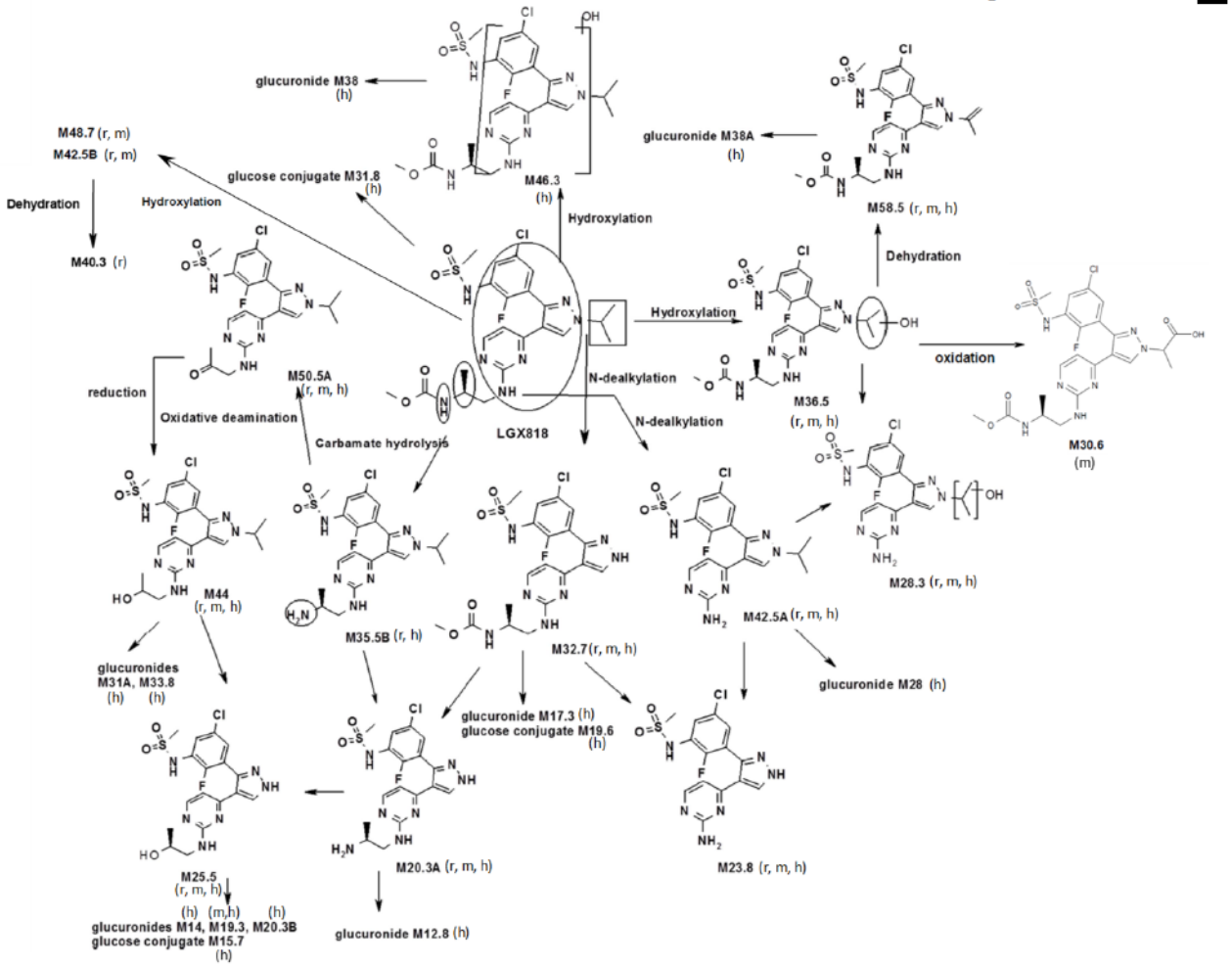
Study system:	*In vitro*
Test system	Human liver microsomes
Method	^{14}C-LGX818 (64 µmol/L) was incubated with human liver microsomes and a CYP inhibitor at 37°C for 30 min.
Assay	Radio-HPLC

Substrate/Inhibitor	CYP Isoform Inhibited	Concentration Range Used (µmol/L)	Median Reported K_i or IC_{50} value (µmol/L)	IC_{50} value (µmol/L)	%Maximal Inhibition[a]
Ketoconazole	CYP3A	0-1	0.100	~0.19	71.9
Azamulin	CYP3A	0-5	0.150	~0.98	76.3
Ticlopidine	CYP2B6/CYP2C19	0-10	1.70	>10	10.4
Montelukast	CYP2C8	0-2	0.14 (0.18-0.71)[b]	>2	10.6
Furafylline	CYP1A2	0-10	2.00	>10	5.09
Quinidine	CYP2D6	0-2	0.0605	>2	36.5
Sulfaphenazole	CYP2C9	0-5	0.510	>5	8.21

[a]Percent maximal inhibition of total ^{14}C-LGX818 metabolism at the concentrations of inhibitor examined
[b]The value in parenthesis is the range of IC_{50}s for CYP2C8 inhibition using a human liver microsomal concentration of 0.3-1.0 mg/mL (Walsky et al 2005). Due to the non-specific microsomal protein binding of montelukast, the IC_{50} value varies with protein concentration. The microsomal protein concentration used in this study was 1.0 mg/mL.

2.6.5.11.4 Encorafenib の推定代謝経路（*in vivo*）

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2, 4.2.2.2-4, 5.3.3.1-4
Report No.: DMPK R[redacted]00227, DMPK R[redacted]00268, CLGX818A2101



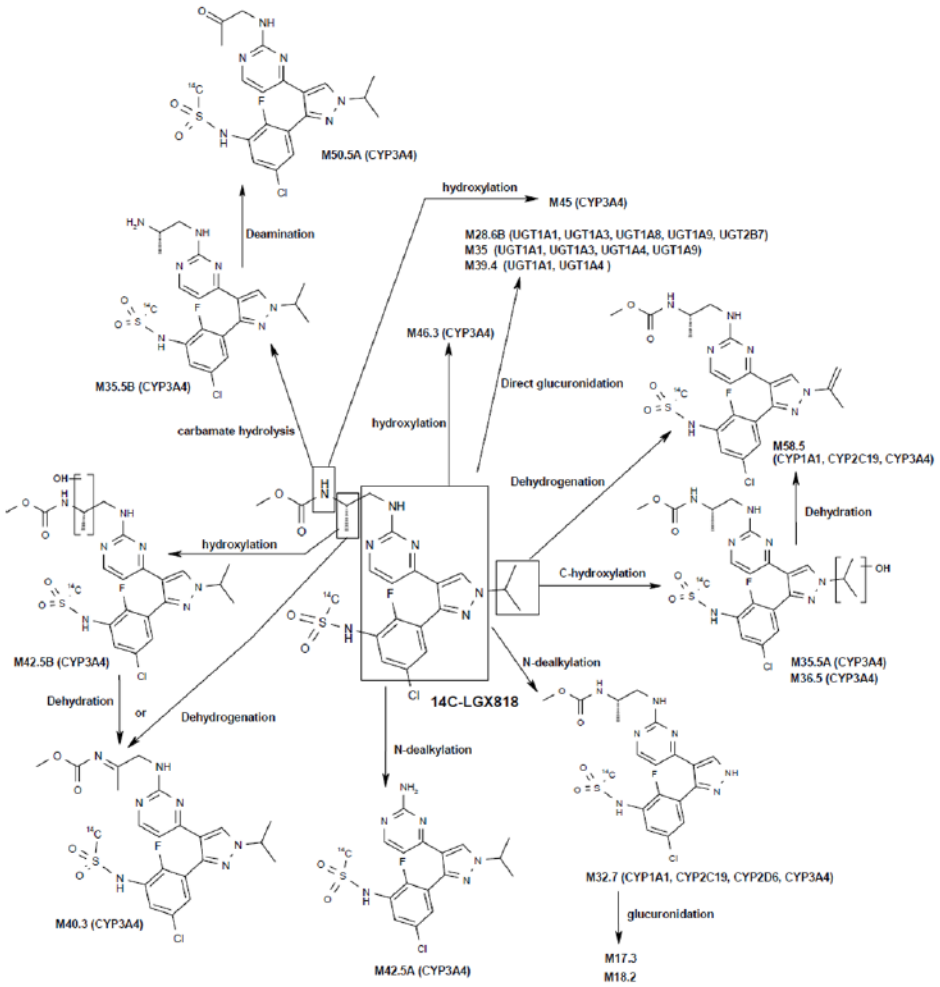
r: rat

m: monkey

h: human

2.6.5.11.5 ヒトにおける encorafenib の推定代謝経路（*in vitro*）

Test Article: ^{14}C-Encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-1
Report No.: DMPK R[redacted]00135



2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12.1 ヒト CYP に対する直接阻害

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-3
Report No.: DMPK R[redacted]00039

Study system	*In vitro*	
Test system	Human liver microsomes	
Method	LGX818 (0.5 to 100 µmol/L) was incubated with human liver microsomes and probe substrates at 37°C for 10 or 20 min (n = 3).	
Assay	LC/MS/MS	
CYP isoform	Probe Reaction	IC_{50} (µmol/L)[a] (unbound)[b]
CYP1A2	phenacetin O-deethylation	~ 22 (16.5)
CYP2A6	coumarin 7-hydroxylation	> 100 (97.1)
CYP2B6	bupropion hydroxylation	~ 1 (0.943)
CYP2C8	paclitaxel 6α-hydroxylation	~ 30 (22.5)
CYP2C8	amodiaquine N-deethylation	~ 20 (19.4)
CYP2C9	diclofenac 4′-hydroxylation	~ 5 (4.86)
CYP2C19	S-mephenytoin 4′-hydroxylation	~ 50 (37.6)
CYP2D6	bufuralol 1′-hydroxylation	~ 25 (23.6)
CYP2E1	chlorzoxazone 6-hydroxylation	> 100 (94.3)
CYP3A	midazolam 1′-hydroxylation	~8 (7.77)
CYP3A	testosterone 6β-hydroxylation	~15 (14.6)

[a]LGX818 concentration estimated to inhibit probe substrate reaction by 50% were estimated by visual inspection.
[b]The unbound IC_{50} was calculated as the fu,mic × IC_{50}. fu,mic were 0.971, 0.943, and 0.751 for 0.025, 0.05, and 0.5 mg/microsomal protein, respectively.

2.6.5.12.2 ヒト CYP に対する時間依存的阻害

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-3
Report No.: DMPK R[redacted]00039

Study system	*In vitro*
Test system	Human liver microsomes
Method	LGX818 (1 to 50 µmol/L) was preincubated with human liver microsomes at 37°C. The preincubation mixture was diluted 20-fold and incubated with probe substrates at 37°C for 6 min.
Assay	LC/MS/MS

CYP isoform	Probe Reaction[c]	K_I value (µmol/L)	k_{inact} (min^{-1})
CYP1A2	phenacetin *O*-deethylation	-	-
CYP2C9	diclofenac 4'-hydroxylation	-	-
CYP2D6	bufuralol 1'-hydroxylation	-	-
CYP3A	midazolam 1'-hydroxylation	20.5 ± 4.70	0.0527 ± 0.00529

Furafylline, tienilic acid, paroxetine and troleandomycin were used as positive controls for CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, and CYP3A, respectively.
-, no time-dependent inhibition observed

2.6.5.12.3 ヒト UGT1A1 に対する阻害（ヒト肝ミクロソームを用いた検討）

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-4
Report No.: DMPK R[redacted]00758

Study system	*In vitro*
Test system	Human liver microsomes
Method	LGX818 (0.5 to 100 µmol/L) was incubated with human liver microsomes and probe substrates at 37°C for 10 or 15 min (n =2).
Assay	LC/MS/MS

UGT isoform	Probe Substrate (µmol/L)	IC_{50} (µmol/L)[a]
UGT1A1	Estradiol (10)	~7
UGT1A1	MEK162 (1)	~1
UGT1A1	MEK162 (5)	~4
UGT1A1	MEK162 (25)	~4

[a]LGX818 concentration estimated to inhibition probe substrate reaction by 50% were estimated by visual inspection. Positive control UGT1A1 inhibitor genistein was used in the assay.

2.6.5.12.4 ヒト UGT1A1 に対する阻害（UGT1A1 発現系ミクロソームを用いた検討）

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-4
Report No.: DMPK R[redacted]00758

Study system	*In vitro*
Test system	Recombinant human UGT1A1
Method	LGX818 (0.5 to 100 µmol/L) was incubated with recombinant human UGT1A1 and probe substrates at 37°C for 10 or 15 min (n = 2).
Assay	LC/MS/MS

UGT isoform	Probe Substrate (µmol/L)	IC_{50} (µmol/L)[a]
UGT1A1	Estradiol (10)	~4
UGT1A1	MEK162 (1)	~3.5
UGT1A1	MEK162 (5)	~3.5
UGT1A1	MEK162 (25)	~3.5

[a]LGX818 concentration estimated to inhibition probe substrate reaction by 50% estimated by visual inspection. Positive control UGT1A1 inhibitor genistein was used in the assay.

2.6.5.12.5 PXR 活性化

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-5
Report No.: DMPK R[redacted]00728

Study system	*In vitro*
Test system	DPX-2 cell-line
Method	DPX-2 cells was incubated with LGX818 (0.5 to 50 µmol/L) at 37°C for 24 h (n = 6). Luciferase substrate was added to the cells before assessing the level of luciferase expression and hence PXR activation by luminescence counting.
Assay	Luminescence counter

PXR activation		
Compound (concentration range)	Percent of maximum activation Mean ± SD (%)	EC_{50} (µmol/L) [95% confidence interval]
Rifampin (0.1 to 50 µmol/L)	100 (by definition)	1.74 [1.3 - 2.4]
LGX818 (0.5 to 50 µmol/L)	37.7 ± 1.1	9.72 [5.5 - 17]

2.6.5.12.6 CYP 誘導（CYP3A4 に対する誘導パラメータ）

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-6
Report No.: DMPK R[redacted]00254

Study system	*In vitro*			
Test system	Cryopreserved human hepatocyte cultures from 1 donor			
Method	Hepatocytes were treated with LGX818 at 37°C for 48 h. After treatment, mRNA expression level was measured by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) method. In addition, activity of CYP3A4 were determined. Amount of the metabolite was measured by LC/MS/MS.			
	LGX818 (0.5 – 100 µmol/L)		Rifampicin (0.1 – 50 µmol/L)	
	EC_{50} (µmol/L)[a]	Emax (Fold Induction)[a]	EC_{50} (µmol/L)[a]	Emax (Fold Induction)[a]
CYP3A4 mRNA	10.2	169	0.419	41.2
CYP3A4 activity	-[b]	-[b]	0.559	5.34

[a]Values are reported from hepatocyte cultures (i.e., separate incubations, n = 4 from a single human donor).
[b]Values not reported because magnitude of the induction was likely underestimated by the confounding time-dependent inactivation of CYP3A activity by LGX818.

2.6.5.12.7 CYP 誘導

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-7
Report No.: DMPK R[redacted]00539

Study system	*In vitro*
Test system	Cryopreserved primary human hepatocyte (3 donors)
Method	Hepatocytes were treated with LGX818 at 37°C for 48 h. After treatment, mRNA expression level was measured by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR)method. In addition, activity of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9 amd CYP3A4 were determined. Amount of the metabolites was measured by LC/MS/MS.

	mRNA[a]	Activity[a, b]	
Treatment (Concentration, µmol/L)	Range of Fold Induction	Range of Fold Induction	Range of Percent of Positive Control
CYP3A4			
LGX818 (1)	2.66 - 11.3	1.18 - 3.32	7.18 - 22.4
LGX818 (10)	18.8 - 103	2.21 - 4.97	35.0 - 73.7
LGX818 (50)	24.9 - 167	1.69 - 2.15	9.94 - 26.9
LGX818 (100)	19.5 - 142	1.07 - 1.16	1.31 - 5.44
Rifampicin (10)[c]	18.8 - 45.5	2.48 - 7.30	57.8 - 87.3
Phenobarbital (1000)[c]	23.7 - 67.5	3.56 - 11.4	100
CYP2C9			
LGX818 (1)	1.15 - 1.63	1.25 - 1.94	30.6 - 42.7
LGX818 (10)	2.80 - 3.40	1.67 - 2.61	50.7 - 87.6
LGX818 (50)	1.71 - 5.41	1.18 - 1.54	19.6 - 23.0
LGX818 (100)	1.46 - 4.52	1.09 - 1.54	7.40 - 22.4
Rifampicin (10)[c]	1.56 - 1.92	1.76 - 3.40	75.0 - 100
Phenobarbital (1000)[c]	1.92 - 2.04	1.60 - 3.21	44.1 - 100
CYP2B6			
LGX818 (1)	1.47 - 2.31	1.34 - 1.53	14.0 - 22.2
LGX818 (10)	7.96 - 9.32	1.73 - 2.26	33.1 - 51.9
LGX818 (50)	5.56 - 9.44	0.941 - 1.97	<1 - 56.5
LGX818 (100)	2.45 - 4.00	0.757 - 1.13	<1 - 5.95
Rifampicin (10)[c]	5.28 - 6.98	2.72 - 4.80	100
Phenobarbital (1000)[c]	5.52 - 10.3	2.05 - 4.15	49.7 - 96.3

2.6.5.12.7 CYP 誘導（続き）

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-7
Report No.: DMPK R[redacted]00539

	mRNA[a]	Activity[a, b]	
Treatment (Concentration, µmol/L)	Range of Fold Induction	Range of Fold Induction	Range of Percent of Positive Control
CYP1A2			
LGX818 (1)	0.933 - 1.33	1.25 - 1.65	< 1 - 6.45
LGX818 (10)	1.90 - 3.20	1.84 - 1.86	2.15 - 8.58
LGX818 (50)	13.0 - 22.5	2.05 - 3.01	4.48 - 14.0
LGX818 (100)	5.48 - 39.2	2.12 - 3.76	7.11 - 13.9
Omeprazole (50)[c]	21.9 - 52.6	11.1 - 39.9	100

[a]Values are reported as the range across 3 hepatocyte cultures (i.e., separate incubations, n = 3, from each individual human donor; values are taken from mean values from quadruplicate for each donor).
[b]Selective CYP marker activities were tracked by the formation of metabolites from appropriate probes including 1'-hydroxymidazolam from midazolam for CYP3A, 4'-hydroxydiclofenac from diclofenac for CYP2C9, hydroxybupropion from buproprion for CYP2B6, or acetaminophen from phenacetin for CYP1A2.
[c]Selective positive controls included rifampicin for CYP3A4 and CYP2C9, phenobarbital for CYP2B6, or omeprazole for CYP1A2. For CYP3A4, phenobarbital resulted in more induction than rifampicin; for CYP2C9, in some cases phenobarbital resurlted in more induction than rifampicin; and for CYP2B6, rifampicin resulted in a bigger effect on activity than phenobarbital. The control that resulted in the most induction was used as the positive control for activity for each donor.

2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄

2.6.5.13.1 ラット

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2
Report No.: DMPK R[redacted]00227

Species	Wistar Hannover rats (Intact rats)			
Gender, Number of animals	Male, n = 3		Male, n = 3	
Feeding Condition	Fed		Fed	
Vehicle/Formulation	Suspension of ^{14}C-LGX818 (6.16 µCi/mg) in water containing 0.5% MC and 0.5% Tween 80		Solution of ^{14}C-LGX818 (21.8 µCi/mg) in 20% propylene glycol/3% solutol HS-15/45 mmol/L citrate buffer (pH 4)	
Method of Administration	PO		IV	
Dose (mg/kg)	50		5	
Radionuclide	^{14}C		^{14}C	
Sample	Urine, feces		Urine, feces	
Analyte	Radioactivity		Radioactivity	
Assay	LSC		LSC	
Time (h)	**% of dose excreted (Mean ± SD, n = 3)**		**% of dose excreted (Mean ± SD, n = 3)**	
	Urine	**Feces**	**Urine**	**Feces**
0-24	11.4 ± 3.52	70.4 ± 9.37	12 ± 11.1	65.6 ± 11.7
24-48	0.396 ± 0.218	13.7 ± 9.27	2.23 ± 2.43	7.07 ± 1.51
48-72	0.14 ± 0.145	0.797 ± 1.13	9.7 ± 15.8	0.497 ± 0.192
72-96	0.0813 ± 0.0687	0.0926 ± 0.0877	0.121 ± 0.108	0.404 ± 0.293
96-168	0.163 ± 0.221	0.0775 ± 0.024	0.246 ± 0.0467	0.565 ± 0.157
Subtotal	12.2 ± 3.31	85.1 ± 1.7	24.3 ± 5.52	74.1 ± 12.3
Cage Wash	0.128 ± 0.179		0.573 ± 0.261	
Total	97.4 ± 4.56		99 ± 14.3	

2.6.5.13.2 サル

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-4
Report No.: DMPK R[redacted]00268

Species	Cynomolgus monkeys			
Gender, Number of animals	Male, n = 3		Male, n = 2	
Feeding Condition	Fed		Fed	
Vehicle/Formulation	Suspension of ^{14}C-LGX818 (2.58 µCi/mg) in vehicle prepared for the human oral clinical ADME study		Solution of ^{14}C-LGX818 (10.93 µCi/mg) in 20% propylene glycol/3% solutol HS-15/45 mmol/L citrate buffer (pH 4)	
Method of Administration	PO		IV	
Dose (mg/kg)	20		3	
Radionuclide	^{14}C		^{14}C	
Sample	Urine, feces		Urine, feces	
Analyte	Radioactivity		Radioactivity	
Assay	LSC		LSC	
Time (h)	**% of dose excreted (Mean ± SD, n = 3)**		**% of dose excreted (Mean, n = 2)**	
	Urine	**Feces**	**Urine**	**Feces**
0-24	13.3 ± 4.85	31.0 ± 23.8	5.54	40.7
0-168	17.4 ± 5.77	59.7 ± 4.02	14.4	68.2
	Total + Cage Wash		Total + Cage Wash	
0-168	90.6 ± 7.15		95.0	

2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.2-2
Report No.: DMPK R[redacted]00227

Species	Wistar Hannover rats (Bile duct-dahnnulated rats)	
Gender, Number of animals	Male, n=2	Male, n=2
Feeding condition	Fed	Fed
Vehicle/Formulation	Suspension of ^{14}C-LGX818 (4.04 µCi/mg) in water containing 0.5% MC and 0.5% Tween 80	Solution of ^{14}C-LGX818 (20.3 µCi/mg) in 20% propylene glycol/3% solutol HS-15/45 mmol/L citrate buffer (pH 4)
Method of Administration	PO	IV
Dose (mg/kg)	50	5
Radionuclide	^{14}C	^{14}C
Sample	Bile	Bile
Analyte	Radioactivity	Radioactivity
Assay	LSC	LSC
Time (h)	**% of dose excreted (Mean ± SD, n=2)**	**% of dose excreted (Mean ± SD, n=2)**
	Bile	**Bile**
0-2	3.24 ± 1.42	13.4 ± 2.78
2-4	6.33 ± 2.91	11.5 ± 0.315
4-8	5.55 ± 1.74	9.52 ± 0.888
8-24	11 ± 3.19	6.49 ± 0.325
24-48	2.1 ± 0.723	0.618 ± 0.734
Subtotal	28.2 ± 9.98	41.5 ± 3.26

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1 P-gp，BCRP 及び MRP による輸送

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-8
Report No.: DMPK R[redacted]00085

Study system	*In vitro*
Test system	Caco-2 cells
Method	LGX818 was incubated for 2 h with Caco-2 cells. The apparent permeability coefficient (Papp) of LGX818 in the direction from apical to basolateral (A to B) and basolateral to apical (B to A) were determined.

LGX818 Cell Permeability and Efflux (Mean ± SD)[a]

Test article/Inhibitor (Concentration, µmol/L)	Papp (A to B) ($\times 10^{-5}$ cm/min)	Papp (B to A) ($\times 10^{-5}$ cm/min)	Ratio (B to A/A to B)[b]	Permeability[c]
^{14}C-LGX818 (4.8)/None	5.48 ± 0.68	213 ± 8.3	39.0 ± 5.1	NA
^{14}C-LGX818 (4.8)/LY335979 (1.0)[d]	67.4 ± 8.3	112 ± 2.4	1.67 ± 0.21	High
^{14}C-LGX818 (4.8)/MK571 (10)[d]	11.1 ± 1.8	185 ± 8.4	16.7 ± 2.8	NA
^{14}C-LGX818 (4.8)/Ko143 (1.0)[d]	11.6 ± 3.6	220 ± 2.7	18.9 ± 5.9	NA
^{14}C-LGX818 (25)/None	8.30 ± 1.0	185 ± 8.3	22.3 ± 3.0	NA
^{14}C-LGX818 (25)/LY335979 (1.0)[d]	76.0 ± 4.4	91.4 ± 3.9	1.20 ± 0.09	High

[a]The values shown are the result of one experiment conducted in quadruplicate.
[b]Ratios > 2.0 are indicative of compounds considered to be efflux substrates (e.g., P-gp substrates).
[c]Based on the Papp value (A to B) of the high permeability control compound propranolol, Papp = 79.2×10^{-5} cm/min.
[d]LY335979 is an inhibitor of P-gp, Ko143 is an inhibitor of BCRP, and MK571 is an inhibitor of MRP.
NA = not applicable

2.6.5.15.2 OCT1，OATP1B1，OATP1B3 及び OATP2B1 による輸送

Test Article: ^{14}C-encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-9
Report No.: DMPK R[redacted]00034

Study system	*In vitro*		
Test system	Suspensions of cryopreserved human hepatocytes		
Method	Hepatocytes were incubated with ^{14}C-LGX818 at 37°C for 3 min.		
Test article (µmol/L)	Cellular Uptake (pmol·mg protein^{-1})		Fold Stimulation in Uptake Caused by Active Transport[c]
	Control[a] (Mean ± SD of six replicates)	With Inhibitor Cocktail[b] (Mean ± SD of six replicates)	
^{14}C-LGX818 (28)	1653 ± 240	1789 ± 271	0.92
^{3}H-estradiol 17β-D-glucuronide (1.5)[d]	46.5 ± 5.4	15.2 ± 1.4[f]	3.0
^{14}C-tetraethylammonium (29.7)[e]	154 ± 14	89 ± 7.0[f]	1.7

[a]Control refers to uptake in the absence of transport protein inhibitors.
[b]Cocktail consisted of inhibitors of the major hepatic uptake transporters OCT1, OATP1B1, OATP1B3 and OATP2B1; rifamycin SV, atorvastatin, decynium 22 and MK571. The final concentration of each inhibitor was 10 µmol/L.
[c]Fold stimulation in uptake caused by active transport was calculated by dividing uptake in the absence of transport protein inhibitors (control) by uptake in the presence of transport protein inhibitors (with inhibitor cocktail).
[d]Substrate for OATP transport
[e]Substrate for OCT transport
[f]Significantly different from control, P<0.05, two-tailed *t*-test

2.6.5.15.3 トランスポーターに対する阻害

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 5.3.2.2-10, 5.3.2.2-11, 5.3.2.2-12, 5.3.2.2-13
Report No.: DMPK R[redacted]00216, DMPK R[redacted]00433, DMPK R[redacted]00096, DMPK R[redacted]00641

Study system	*In vitro*		
Test system	Human transporter-expressing cells		
Method	Inhibitory effects of LGX818 on transporter activity were assessed by incubation of cells with LGX818 and a substrate at 37°C.		
Transporter	Substrate (µmol/L)	Incubation time (min)	IC_{50} (µmol/L)
BCRP	Bodipy FL prazosin (0.05)	60	~10-25[a]
P-gp	Rhodamine 123 (0.1)	90	> 50[b]
MRP2	^{14}C-Valsartan (10)	40	> 50[c]
OATP1B1	^{3}H- estradiol 17β-glucuronide (1.4)	2.5	5.35[d]
OATP1B3	^{3}H- estradiol 17β-glucuronide (1.4)	2.5	6.16[d]
OAT1	^{3}H-*para*-aminohippurate (0.29)	5	4.20[d]
OAT3	^{3}H-estrone-3-sulfate (0.028)	5	0.92[d]
OCT1	^{3}H-methyl-4-phenylpyridinium (0.0088)	5	12.7[d]
OCT2	^{14}C-metformin (6.6)	5	2.05[d]

[a]Reported to be estimated by visual inspection of data. The values shown are the result of n =1 for each concentration of LGX818.
[b]The values shown are the result of n =1 for each concentration of LGX818.
[c]The values shown are the result of one experiment conducted in quadruplicate.
[d]The values shown are the result of one experiment conducted in triplicate and estimated by non linear regression analysis.

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

2.6.5.16.1 LHY746

2.6.5.16.1.1 血漿蛋白結合

Test Article: LHY746
Location in CTD: 4.2.2.7-1
Study No.: DM[redacted]-001

Study system	*In vitro*		
Test system, method	Plasma from whole blood, equilibrium dialysis		
Analyte	LHY746		
Assay	LC/MS/MS		
Matrix	Species	Concentration (µmol/L)	Plasma protein binding (% Bound ± SD)[a]
Plasma	Rat	1	97.1 ± 0.1
		10	95.8 ± 0.3
	Monkey	1	89.7 ± 0.1
		10	89.6 ± 0.3
	Human	1	89.4 ± 0.8
		10	88.6 ± 0.2

[a]Values represent the average of triplicate determinations ± SD.

2.6.5.16.1.2 代謝に関与する CYP 分子種

Test Article: LHY746
Location in CTD: 5.3.2.2-14
Report No.: DM[redacted]-020

Study system	*In vitro*
Test system	Human recombinant CYP enzymes
Method	LHY746 (1 µmol/L) was incubated with CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 CYP2D6, and CYP3A4 at 37°C up to 90 min. The intersystem extrapolation factor (ISEF) approach were used to interpret data with quantitative scaling.
Assay	LC/MS/MS

	Kinetic Parameters and Prediction of Contribution to Metabolism for LHY746 Metabolism		
CYP isoform	CLint Calculated[a] (µL/min/mg)	CLint450x[b] (µL/min/mg)	% Contribution[c] (%)
CYP1A2	0.02	NC	NC
CYP2C8	0.00	NC	NC
CYP2C9	0.02	1.33	20.8
CYP2C19	1.11	4.48	70.1
CYP2D6	0.00	NC	NC
CYP3A4	0.03	0.58	9.1

[a]Intrinsic clearance, CLint, based on the decrease of LHY746 incubation concentrations.
[b]Intrinsic clearance due to each CYP, CLint450x, determined using ISEF scaling factors measured in-house for each recombinat CYP.
[c]Percent contribution of each CYP to overall hepatic oxidative metabolism.
NC = Not Calculated; no significant loss of parent compound observed at any time point assessed.

2.6.5.16.1.3 ヒト CYP に対する直接阻害

Test Article: LHY746
Location in CTD: 5.3.2.2-15
Study No.: DM[redacted]-016

Study system	*In vitro*		
Test system	Human liver microsomes		
Method	LHY746 (0.1 to 50 µmol/L) was incubated with human liver microsomes and probe substrates at 37°C for 10 min (n = 6).		
Assay	LC/MS/MS		
CYP isoform		Probe Reaction	IC_{50} (µmol/L)
CYP1A2		phenacetin to acetaminophen	> 50
CYP2B6		bupropion to hydroxybupropion	> 50
CYP2C8		amodiaquine to desethylamodiaquine	9.5
CYP2C9		tolbutamide to 4-hydroxytolbutamide	8.3
CYP2C19		S-mephenytoin to 4′-hydroxymephenytoin	> 50
CYP2D6		dextromethorphan to dextrorphan	> 50
CYP3A		midazolam to 1′-hydroxymidazolam	> 50

2.6.5.16.1.4 トランスポーターに対する阻害

Test Article: LHY746
Location in CTD: 5.3.2.2-16
Report No.: [redacted]-20[redacted]-094

Study system	*In vitro*			
Test system	Human transporter-expressing cells			
Method	Inhibitory effects of LGX818 on transporter activity were assessed by incubation of cells with AR00492720 and a substrate at 37°C (n =3).			
Transporter		Probe substrate (µmol/L)	Incubation time (min)	IC_{50} (µmol/L)
BCRP		^{3}H-prazosin (2)	90	22.6
P-gp		^{3}H-quinidine (0.1)	90	69.4
OATP1B1		^{3}H-estradiol 17β-glucuronide (2)	5	46.6
OATP1B3		^{3}H-CCK-8 (2)	5	> 100
OAT1		^{3}H-*para*-aminohippurate (2)	5	> 100
OAT3		^{3}H-*para*-aminohippurate (10)	5	9.44
OCT2		^{14}C-metformin (10)	5	66.3

2.6.5.16.2 サルにおける [redacted] の吸収

Test Article: Encorafenib
Location in CTD: 4.2.2.7-2
Study No.: [redacted]70448

Species	Cynomolgus monkeys			
Gender, Number of animals	Male, n = 3/group			
Feeding Condition:	Fed			
Vehicle/Formulation	LGX818 [redacted] in water prepared two different ways; "Aged" formulations were prepared 8 days in advance to the dosing event and "Fresh" formulations were prepared on the day of dosing.			
Method of administration	PO			
Dose (mg/kg)	60			
Sample	Plasma			
Analyte	LGX818			
Assay	LC/MS/MS			
Pharmacokinetic Parameters (Mean ± SD)[b]				
Group	1		2	
Day	1	8	1	8
Formulation[a]	Aged	Fresh	Fresh	Aged
Cmax (ng/mL)	6530 ± 6170	8980 ± 13900	15500 ± 2970	4280 ± 3850
Cmax/Dose ([ng/mL]/[mg/kg/day])	109 ± 103	150 ± 231	259 ± 49.6	71.4 ± 64.0
Tmax (h)	2.33	1.50	3.00	3.00
AUC24h (ng·h/mL)	21700 ± 15500	28500 ± 40500	66600 ± 17000	19500 ± 18800
AUC24h/Dose ([ng·h/mL]/[mg/kg/day])	362 ± 259	477 ± 679	1110 ± 282	325 ± 314

[a]Aged formulation was prepared 8 days before dosing. Fresh formulation was prepared on the day of dosing.
[b]The SD was not reported for the Tmax.