ビバンセカプセル 20mg, 同 30mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.4 薬物動態試験の概要文

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 5
2.6.4 薬物動態の概要文 7
2.6.4.1 まとめ 7
2.6.4.2 分析法 9
2.6.4.2.1 化合物 9
2.6.4.2.1.1 非標識化合物 9
2.6.4.2.1.2 標識化合物 9
2.6.4.2.2 定量法 9
2.6.4.2.2.1 ラット及びイヌ血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度測定法 9
2.6.4.2.2.2 放射能の測定法 10
2.6.4.3 吸収 11
2.6.4.3.1 *In vitro* 吸収 11
2.6.4.3.1.1 リスデキサンフェタミンの Caco-2 細胞を用いた PEPT1 基質評価 11
2.6.4.3.2 *In vivo* 吸収 11
2.6.4.3.2.1 ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回経口投与後の血漿中リスデキサンフェタミン，*d*-アンフェタミン及び放射能濃度 11
2.6.4.3.2.2 ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回静脈内投与後の血漿中リスデキサンフェタミン，*d*-アンフェタミン及び放射能濃度 12
2.6.4.3.2.3 ラットにおける本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与後の用量相関性 13
2.6.4.3.2.4 ラットにおける本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩単回静脈内投与後の血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度 15
2.6.4.3.2.5 ラットにおける本薬の *in situ* 消化管透過性 16
2.6.4.3.2.6 ラットにおける本薬単回経口投与後の門脈及び循環血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度 17
2.6.4.3.2.7 イヌにおける本薬単回経口及び静脈内投与後の血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度 17
2.6.4.4 分布 19
2.6.4.4.1 *In vitro* 試験 19
2.6.4.4.1.1 タンパク結合 19
2.6.4.4.2 *In vivo* 試験 19
2.6.4.4.2.1 ラットにおける本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与後の脳移行性 19
2.6.4.4.2.2 妊娠マウスにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回静脈内投与後の組織分布 19
2.6.4.5 代謝 21
2.6.4.5.1 *In vitro* 代謝物検索 21

2.6.4.5.1.1 リスデキサンフェタミンのヒト肝ミクロソーム並びに新鮮ヒト及びラット肝細胞を用いた *in vitro* 代謝 21
2.6.4.5.1.2 *d*-アンフェタミンの肝細胞を用いた *in vitro* 代謝 21
2.6.4.5.2 *In vivo* 代謝物検索 22
2.6.4.5.2.1 ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回経口投与後の代謝 22
2.6.4.5.2.2 ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回静脈内投与後の代謝 23
2.6.4.5.2.3 ウサギにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与後及びイヌにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回腹腔内投与後の代謝 23
2.6.4.5.3 推定代謝経路 25
2.6.4.5.4 リスデキサンフェタミンの加水分解 25
2.6.4.5.4.1 ラット及びヒトにおける血液，血漿並びに組織ホモジネート中安定性評価 25
2.6.4.5.4.2 加水分解酵素を用いた安定性評価 26
2.6.4.5.4.3 消化管内安定性評価 27
2.6.4.5.4.4 各種ヒト血液画分におけるリスデキサンフェタミンの加水分解活性評価 27
2.6.4.5.4.5 ヒト赤血球におけるリスデキサンフェタミンの加水分解活性評価 28
2.6.4.5.4.6 リスデキサンフェタミンの加水分解におけるアミノペプチダーゼ B の影響評価 29
2.6.4.5.5 *d*-アンフェタミンの酸化的代謝における責任代謝酵素 29
2.6.4.6 排泄 30
2.6.4.6.1 ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回経口及び静脈内投与後の尿糞胆汁中排泄 30
2.6.4.6.2 ウサギにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与及びイヌにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回腹腔内投与後の尿糞中排泄 31
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 32
2.6.4.7.1 ヒト肝薬物代謝酵素に対する阻害作用 32
2.6.4.7.1.1 リスデキサンフェタミンの CYP 阻害作用 32
2.6.4.7.1.2 *d*-アンフェタミンの CYP 阻害作用 32
2.6.4.7.2 ヒト CYP 酵素に対する誘導作用 33
2.6.4.7.2.1 リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの CYP 誘導作用 33
2.6.4.7.3 P-gp を介した相互作用 (基質及び阻害評価) 33
2.6.4.7.3.1 リスデキサンフェタミンの P-gp を介した相互作用 (基質及び阻害評価) 33
2.6.4.7.3.2 *d*-アンフェタミンの P-gp を介した相互作用 (基質及び阻害評価) 33
2.6.4.7.4 その他のヒトトランスポーターを介した相互作用 (基質及び阻害評価) 34
2.6.4.7.4.1 リスデキサンフェタミンのヒトトランスポーターを介した輸送に対する阻害作用 34
2.6.4.7.4.2 *d*-アンフェタミンの OCT2，OAT1，OAT3，MATE1 及び MATE2-K 基質評価 34
2.6.4.7.4.3 *d*-アンフェタミンの BCRP，OCT2，OAT1，OAT3，MATE1 及び MATE2-K を介した輸送に対する阻害作用 35
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 35

2.6.4.9 考察及び結論 36
2.6.4.9.1 体内動態 36
2.6.4.9.2 代謝 37
2.6.4.9.3 薬物相互作用 37
2.6.4.10 図表 39
2.6.4.11 参考文献 40

2.6.4 略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
ADHD	attention-deficit/hyperactivity disorder	注意欠陥／多動性障害
AEBSF	4-(2-aminoethyl)benzene sulfonyl fluoride	
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度–時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}inf}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinity	時間0から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}last}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the last time point of measurable concentration	時間0から濃度測定可能最終時点までの血漿中濃度–時間曲線下面積
BA	bioavailability	バイオアベイラビリティ
BCRP	breast cancer resistance protein	乳がん耐性タンパク質
CL_{tot}	total clearance	全身クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DAT	dopamine transporter	ドパミントランスポーター
fu	unbound fraction in plasma	血漿中非結合率
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
K_i	inhibition constant	阻害定数
LC/MS/MS	high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法
LSC	liquid scintilation counter	液体シンチレーションカウンター
MATE	multidrug and toxin extrusion	
NET	noradrenaline transporter	ノルアドレナリントランスポーター
NTCP	sodium/taurocholate cotransporting polypeptide	ナトリウム/タウロコール酸共輸送ポリペプチド
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオントランスポーターポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P_{app}	apparent permeability	見かけの膜透過係数
PEPT	peptide transporter	ペプチドトランスポーター
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク質
PK	pharmacokinetic	薬物動態学的

略号	英語	日本語
Radio-HPLC	high performance liquid chromatography with radiodetector	放射能検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー
T_{max}	time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
Vd_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態分布容積

2.6.4 薬物動態の概要文

2.6.4.1 まとめ

ビバンセカプセルは，注意欠陥/多動性障害 (ADHD) 患者が 1 日 1 回服用する治療薬として Shire AG (以下，Shire 社) によって開発され (開発コード：SPD-489 又は NPR-104)，20[redacted] 年，塩野義製薬株式会社は，国内における ADHD 治療薬としての開発の権利を取得し，開発を開始した (開発コード：S-877489).

ビバンセカプセルの新有効成分は, リスデキサンフェタミンメシル酸塩 (以下, 本薬) であり，リスデキサンフェタミンは，活性体である *d*-アンフェタミンとアミノ酸である L-リジンがアミド結合で共有結合したプロドラッグである (ビバンセカプセル 20 mg 及び同 30 mg は，それぞれ 20 及び 30 mg の本薬を含んでおり，*d*-アンフェタミン換算ではそれぞれ約 5.9 及び 8.9 mg である). 本薬の経口又は静脈内投与後，リスデキサンフェタミンは，*d*-アンフェタミンと L-リジンに加水分解される．*d*-アンフェタミンは，脳内に移行して，ノルアドレナリントランスポーター (NET) 及びドパミントランスポーター (DAT) の阻害作用並びに脳内におけるノルアドレナリンやドパミンの放出促進により，シナプス間隙のノルアドレナリン及びドパミン濃度を増加させると考えられている [1,2]．リスデキサンフェタミン自身は，NET 及び DAT の阻害作用を示さず，薬理学的に不活性である.

薬理試験及び毒性試験の両者あるいはそのどちらかで用いた種であるラット及びイヌにおける全身曝露，吸収機構，プロドラッグの代謝安定性及び ADHD 患者集団における薬物相互作用発現のリスクを評価するために，本薬の薬物動態試験を実施した．なお，薬物動態の概要文では, 特に明記しない限り, 本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩の投与量は, 投与した本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩量で示した.

ラット及びイヌにおいて，本薬を単回経口投与した後のリスデキサンフェタミンの最高血漿中濃度到達時間 (T_{max}) は 0.25～1.5 時間 (毒性試験用量を除く)，消失半減期 ($t_{1/2}$) は約 1 時間であり，リスデキサンフェタミンは，速やかに経口吸収され，血漿中からの消失も速やかであった．また，本薬を単回経口投与した後の *d*-アンフェタミンの T_{max} は 1～3 時間 (毒性試験用量を除く)，$t_{1/2}$ は 2～4 時間であった.

ラットに本薬を薬効用量付近の投与量で単回経口投与し，脳移行性を評価した試験において，リスデキサンフェタミンは脳へ移行しなかったが，*d*-アンフェタミンは薬効標的部位である脳へ移行した.

ラットに ^{14}C 標識した本薬 ([^{14}C]-リスデキサンフェタミンメシル酸塩) を単回経口投与した試験において，尿中への排泄が主たる排泄経路 (投与量の 77.3%～86.9%) であり，胆汁及び糞への排泄量はそれぞれ投与量の 7.24%～18.3%及び 3.96%～10.9%であった.

Caco-2 細胞を用いた *in vitro* 試験及びラットにおける *in situ* 消化管透過性試験により本薬の消化管における吸収機構を検討した結果，本薬の経口吸収にペプチドトランスポーター (PEPT) 1 が関与することが示唆された．リスデキサンフェタミンの加水分解について検討した結果，血液では加水分解されるが，血漿，肝ミクロソームや肝細胞，各組織 (肝臓，腎臓，小腸上部，小腸下部，大腸及び膵臓) ホモジネート，人工胃液及び腸液並びに種々の加水分解酵素では加水分解されないことが判明した．さらに，ヒト血液でのリスデキサンフェタミンの加水分解に

関与する酵素について精査した結果，赤血球の可溶性画分に存在するアミノペプチダーゼが関与することが示唆された．

ラット *in vivo* 代謝試験において，^{14}C 標識した本薬を単回経口投与した後の主要な血漿中代謝物として，4-ヒドロキシアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定) 及び *d*-アンフェタミンが検出され，これら代謝物の血漿中濃度−時間曲線下面積 (AUC) 比 [放射能検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー (Radio-HPLC) で検出されたリスデキサンフェタミン及びその代謝物の AUC の和に対する各代謝物の AUC の割合] の和は 85%以上であった．また，リスデキサンフェタミンの AUC 比は 2%未満であった．主たる排泄経路である尿においても，4-ヒドロキシアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定) 及び *d*-アンフェタミンが主に検出された．

In vitro 試験において，主要なヒトチトクローム P450 (CYP) 分子種に対するリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの阻害能並びに誘導能は低く，臨床における最大投与量 (70 mg/日) の本薬をこれらの CYP 分子種により代謝される医薬品と併用した場合に，併用薬の体内動態に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる．また，リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンは P 糖タンパク質 (P-gp) の基質ではないことから，臨床において本薬を P-gp の阻害薬又は誘導薬と併用した場合にも，リスデキサンフェタミンの経口吸収性及び *d*-アンフェタミンの中枢移行性が変動する可能性は低いと考えられる．さらに，リスデキサンフェタミンの P-gp, PEPT1, PEPT2, 有機アニオントランスポーターポリペプチド (OATP) 1B1, OATP1B3, OATP2B1, 有機カチオントランスポーター (OCT) 1，OCT2，有機アニオントランスポーター (OAT) 1, OAT3 及びナトリウム/タウロコール酸共輸送ポリペプチド (NTCP) による輸送に対する阻害能は低いあるいは認められず，*d*-アンフェタミンの P-gp，乳がん耐性タンパク質 (BCRP) 及び OCT2 による輸送に対する阻害能も低いあるいは認められなかった．したがって，臨床における最大投与量 (70 mg/日) の本薬をこれらのトランスポーターの基質となる医薬品と併用した場合にも，併用薬の体内動態に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる．

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 化合物

2.6.4.2.1.1 非標識化合物

本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩の供給源を表 2.6.4.2-1 に示す.

表 2.6.4.2-1　本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩の供給源

名称	供給源
本薬	Shire 社, [redacted], [redacted], [redacted] 又は [redacted]
d-アンフェタミン硫酸塩	[redacted], [redacted], [redacted], [redacted], 又は [redacted]

2.6.4.2.1.2 標識化合物

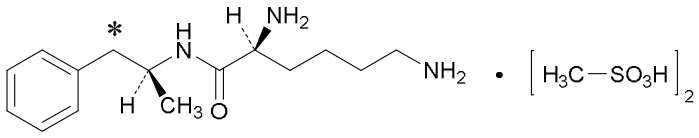
概要表 2.6.5.2.1

^{14}C 標識した本薬は, [redacted] において合成された. ^{14}C 標識した本薬のロット番号, 比放射能, 放射化学的純度及び供給源を表 2.6.4.2-2 に, 化学構造を図 2.6.4.2-1 に, それぞれ示す.

表 2.6.4.2-2　^{14}C 標識した本薬のロット番号, 比放射能, 放射化学的純度及び供給源

ロット番号	比放射能	放射化学的純度	供給源
040219	50 mCi/mmol	99.0% (Radio-HPLC)	[redacted]

図 2.6.4.2-1　^{14}C 標識した本薬の化学構造



*：標識位置

2.6.4.2.2 定量法

2.6.4.2.2.1 ラット及びイヌ血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度測定法

添付資料 4.2.2.1-01, 4.2.2.1-02
概要表 2.6.5.2.2, 2.6.5.2.3

ラット及びイヌ血漿試料を除タンパク前処理し, リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンを液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) で定量した [ラット血漿 : 添付資料 4.2.2.1-01, イヌ血漿 : 添付資料 4.2.2.1-02]. LC/MS/MS 分析用内標準物質として *d*-アンフェタミン-d_3 を使用し, 定量下限を共に 1.00 ng/mL と設定した. ラット血漿中濃度測定法バリデーション試験における分析単位内・分析単位間の精度及び真度は, 定量下限濃度でそれぞれ 20%以下及び ±20%以内であり, それ以外では, それぞれ 15%以下及び ±15%以内であることを確認した. イヌ血漿中濃度測定法バリデーション試験における分析単位内の精度及び真度は,

定量下限濃度でそれぞれ 20%以下及び ±20%以内であり，それ以外では，それぞれ 15%以下及び ±15%以内であることを確認した．血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度の測定は，安定性が担保された保管期間内に実施した．

2.6.4.2.2.2 放射能の測定法

生体試料中の放射能は液体シンチレーションカウンターを用いて測定し，放射能濃度はリスデキサンフェタミンに換算して表示した．

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 *In vitro* 吸収

2.6.4.3.1.1 リスデキサンフェタミンの Caco-2 細胞を用いた PEPT1 基質評価

参考資料 5.3.2.3-01，5.3.2.3-02
概要表 2.6.5.16.1.1，2.6.5.16.1.2

主に小腸に存在するプロトン共輸送型のトランスポーターである PEPT1 は，ジペプチド及びトリペプチドだけでなく，分子内にペプチド構造を有する化合物の経口吸収に関与している [3]. リスデキサンフェタミンは分子内にペプチド構造を持つため，リスデキサンフェタミンが PEPT1 の基質であるか否かを，Caco-2 細胞を用いた経細胞輸送試験により検討した．Caco-2 細胞存在下において本薬 (濃度：10 μmol/L) を 37°C で 2 時間インキュベートし，刷子縁膜側 (管腔側) から基底側 (血管側) への見かけの膜透過係数 (P_{app}) を評価した [参考資料 5.3.2.3-01]. 透過したリスデキサンフェタミンの約半分が *d*-アンフェタミンに変換されており，リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの P_{app} の和をリスデキサンフェタミン関連輸送とした．リスデキサンフェタミン関連輸送 (0.67×10^{-6} cm/sec) は，PEPT1 の典型的基質であるセファレキシンの P_{app} (0.64×10^{-6} cm/sec) と同程度であった．また，PEPT1 の典型的基質であるグリシルザルコシンを本薬と共存させた結果，セファレキシンの場合と同様に，輸送が阻害され，リスデキサンフェタミン関連輸送が低下する (0.30×10^{-6} cm/sec) ことが判明した. さらに, 本薬 (濃度：10，100 及び 1000 μmol/L) の輸送を評価した結果，濃度の増加に伴いリスデキサンフェタミン関連輸送は，それぞれ 0.75，0.58 及び 0.48×10^{-6} cm/sec と低下し，リスデキサンフェタミンの輸送における飽和が確認された.

別試験として，グリシルザルコシンの前処置により PEPT1 を過剰発現させた Caco-2 細胞を用いて，本薬 (濃度：10 μmol/L) を 37°C で 2 時間インキュベートし，刷子縁膜側から基底側への P_{app} を評価した [参考資料 5.3.2.3-02]. リスデキサンフェタミン関連輸送は，Caco-2 細胞 (0.39×10^{-6} cm/sec) に比べて PEPT1 を過剰発現させた Caco-2 細胞において，1.3 倍増加した (0.51×10^{-6} cm/sec). また，PEPT1 を過剰発現させた Caco-2 細胞において，グリシルザルコシンを本薬と共存させた結果，輸送が阻害され，リスデキサンフェタミン関連輸送は低下する (0.31×10^{-6} cm/sec) ことが判明した.

以上の結果より，リスデキサンフェタミンは PEPT1 の基質であると結論した．また，本薬の経口吸収に PEPT1 が関与することが示唆された.

2.6.4.3.2 *In vivo* 吸収

2.6.4.3.2.1 ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回経口投与後の血漿中リスデキサンフェタミン，*d*-アンフェタミン及び放射能濃度

参考資料 4.2.2.2-01
概要表 2.6.5.3.1

絶食下の雄性及び雌性 Sprague-Dawley 系ラット (雌雄各時点 n=2～6，計各 n=12) に，^{14}C 標識した本薬の水溶液を 10 mg/kg の用量で単回経口投与した．投与後 48 時間まで経時的に採血し，血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS で，血漿中放射能

を液体シンチレーションカウンター (LSC) で，それぞれ測定した．血漿中リスデキサンフェタミン，*d*-アンフェタミン及び放射能の薬物動態学的 (PK) パラメータを表 2.6.4.3-1 に示す．

リスデキサンフェタミンの T_{max} は雌雄共に 0.5 時間と速やかに吸収され，最高血漿中濃度 (C_{max}) は雄で 126 ng/mL，雌で 243 ng/mL であった．その後，雄で 1.2 時間，雌で 0.9 時間の $t_{1/2}$ で速やかに血漿から消失した．一方，*d*-アンフェタミンの T_{max} は雌雄共に 1 時間であり，C_{max} は雄で 66.4 ng/mL，雌で 145 ng/mL，$t_{1/2}$ は雄で 2.0 時間，雌で 4.1 時間であった．血漿中 *d*-アンフェタミン濃度は，その上昇がリスデキサンフェタミンに比べて緩徐であり，持続性のある推移を示した．

放射能の T_{max} は雄で 3 時間，雌で 1 時間であり，C_{max} (リスデキサンフェタミン換算濃度で表示，以下同様) は雄で 989 ng/mL，雌で 1320 ng/mL であった．血漿中放射能の消失はリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの消失より遅いものの，投与後 48 時間の血漿中放射能濃度は検出限界未満であり，血漿中に放射能は残留しなかった．

^{14}C 標識した本薬を単回静脈内投与した後のリスデキサンフェタミンの時間 0 から濃度測定可能最終時点までの血漿中濃度–時間曲線下面積 ($AUC_{0\text{-last}}$：表 2.6.4.3-2) を用いて算出したリスデキサンフェタミンのバイオアベイラビリティ (BA) は雄で 18%，雌で 23%と計算された．

表 2.6.4.3-1　ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回経口投与後の血漿中リスデキサンフェタミン，*d*-アンフェタミン及び放射能の PK パラメータ

対象	性別	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-last}}$ (ng·hr/mL)
リスデキサンフェタミン	雄	126	0.5	1.2	129
	雌	243	0.5	0.9	208
d-アンフェタミン	雄	66.4	1.0	2.0	226
	雌	145	1.0	4.1	632
放射能 [a]	雄	989	3.0	–	–
	雌	1320	1.0	–	–

投与量：10 mg/kg．PK パラメータは濃度の平均値 (各時点 n=2～6) を用いて算出．–：適用せず．
a：リスデキサンフェタミン換算濃度で表示．

2.6.4.3.2.2 ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回静脈内投与後の血漿中リスデキサンフェタミン，*d*-アンフェタミン及び放射能濃度

参考資料 4.2.2.2-01
概要表 2.6.5.3.2

絶食下の雄性及び雌性 Sprague-Dawley 系ラット (雌雄各 n=3) に ^{14}C 標識した本薬の水溶液を 3 mg/kg の用量で単回静脈内投与した．投与後 48 時間まで経時的に採血し，血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS で，血漿中放射能を LSC で，それぞれ測定した．血漿中リスデキサンフェタミン，*d*-アンフェタミン及び放射能の PK パラメータを表 2.6.4.3-2 に示す．

血漿中リスデキサンフェタミンは，雌雄共に速やかに消失し，個体差はあるものの，投与後 1 時間以降で定量下限未満となった．得られた血漿中濃度では消失相を評価できないと判断し

たため，$t_{1/2}$ は算出しなかった．一方，*d*-アンフェタミンの T_{max} は雌雄共に 1 時間であり，雄では 1.6 時間，雌では 4.5 時間の $t_{1/2}$ で血漿から消失した．

血漿中放射能の消失はリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの消失より遅いものの，投与後 48 時間の血漿中放射能濃度は検出限界未満であり，血漿中に放射能は残留しなかった．

表 2.6.4.3-2　ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回静脈内投与後の血漿中リスデキサンフェタミン，*d*-アンフェタミン及び放射能の PK パラメータ

対象	性別	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0\text{-last}}$ (ng·hr/mL)
リスデキサンフェタミン	雄	394 ± 43	0.083 ± 0.000	–	210 ± 14
	雌	523 ± 60	0.083 ± 0.000	–	273 ± 22
d-アンフェタミン	雄	42.8 ± 16.0	1.0 ± 0.0	1.6 ± 0.3	104 ± 35
	雌	34.7 ± 4.3	1.0 ± 0.0	4.5 ± 4.9	120 ± 39
放射能 [a]	雄	1370 ± 130	0.083 ± 0.000	–	–
	雌	1360 ± 370	0.083 ± 0.000	–	–

投与量：3 mg/kg．平均値 ± 標準偏差 (n = 3)．–：適用せず．
a：リスデキサンフェタミン換算濃度で表示．

2.6.4.3.2.3 ラットにおける本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与後の用量相関性

参考資料 4.2.2.2-02
概要表 2.6.5.3.3，2.6.5.3.4

雄性 Sprague-Dawley 系ラット (食餌条件及び例数は記載なし) に本薬 [投与量：約 5.1，10.2，20.3，40.6 及び 203.2 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算値：それぞれ 1.5，3，6，12 及び 60 mg/kg)] 又は *d*-アンフェタミン硫酸塩 [投与量：約 2.0，4.1，8.2，16.3 及び 81.6 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算値：それぞれ 1.5，3，6，12 及び 60 mg/kg)] の水溶液を単回経口投与した．投与後 8 時間まで経時的に採血し，各時点で得られた血漿をプールして，血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS で測定した．血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの PK パラメータを，それぞれ表 2.6.4.3-3 及び表 2.6.4.3-4 に示す．

本薬を単回経口投与した後のリスデキサンフェタミンの T_{max} は 0.25～3 時間であった．リスデキサンフェタミンの時間 0 から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 ($AUC_{0\text{-inf}}$) 及び本薬を約 5.1 mg/kg の用量で単回静脈内投与した後のリスデキサンフェタミンの $AUC_{0\text{-inf}}$ (表 2.6.4.3-5) を用いて算出した BA の結果より，リスデキサンフェタミンの体内動態は非線形であると結論した．なお，$AUC_{0\text{-inf}}$ は約 40.6 mg/kg までは用量比以上で上昇し，約 203.2 mg/kg では用量比以下で上昇した．

表 2.6.4.3-3　ラットにおける本薬単回経口投与後の血漿中リスデキサンフェタミンの PK パラメータ

投与量 (mg/kg)[a]	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)	BA (%)
約 5.1 [1.5]	36.5	0.25	60	2.6
約 10.2 [3]	135	1.5	332	7.2
約 20.3 [6]	677	0.25	1170	12.8
約 40.6 [12]	856	1	4510	24.6
約 203.2 [60]	1870	3	8500	9.3

a：[ ] 内に *d*-アンフェタミン換算値を示す.

本薬を単回経口投与した後の *d*-アンフェタミンの T_{max} は 1.5～5 時間であり，リスデキサンフェタミンの T_{max} (0.25～3 時間) より遅かった. また, 本薬を単回経口投与した後の *d*-アンフェタミンの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}inf}$ 並びに *d*-アンフェタミン硫酸塩を 2.0 mg/kg の用量で単回静脈内投与した後の *d*-アンフェタミンの $AUC_{0\text{-}inf}$ (表 2.6.4.3-5) を用いて算出した BA の結果より，本薬単回経口投与後の *d*-アンフェタミンの体内動態は約 203.2 mg/kg までおおむね線形であると考えられる.

d-アンフェタミン硫酸塩を単回経口投与した後の *d*-アンフェタミンの T_{max} は 0.25～1.5 時間であり，本薬投与時の *d*-アンフェタミンの T_{max} (1.5～5 時間) より早く，T_{max} の差は高投与量でより大きかった．また，*d*-アンフェタミン硫酸塩を単回経口投与した後の *d*-アンフェタミンの $AUC_{0\text{-}inf}$ 及び *d*-アンフェタミン硫酸塩を 2.0 mg/kg の用量で単回静脈内投与した後の $AUC_{0\text{-}inf}$ (表 2.6.4.3-5) を用いて算出した BA の結果より，*d*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与後の *d*-アンフェタミンの体内動態は約 8.2 mg/kg までおおむね線形であると考えられ, それ以上の用量では $AUC_{0\text{-}inf}$ が投与量比以上に上昇する傾向が認められた.

d-アンフェタミンの $AUC_{0\text{-}inf}$ は，*d*-アンフェタミン換算投与量として 1.5～6 mg/kg (非臨床において衝動性改善作用が認められた薬効用量付近) では両化合物投与時で同程度の値を示したものの，それ以上の用量では *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時に比べて本薬投与時で低い値を示した．また，C_{max} は，いずれの投与量においても *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時に比べて本薬投与時で低く，薬効用量では約 1/2，薬効用量以上では約 1/4～1/6 であった．これらの結果は，本薬投与時では，*d*-アンフェタミン硫酸塩投与時に比べて血漿中 *d*-アンフェタミン濃度の上昇が緩徐であることを示している.

表 2.6.4.3-4　ラットにおける本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与後の血漿中 *d*-アンフェタミンの PK パラメータ

投与物質	投与量 (mg/kg)[a]	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)	BA (%)
本薬	約 5.1 [1.5]	59.6	3	331	61
	約 10.2 [3]	127	1.5	784	72
	約 20.3 [6]	311	3	1800	82
	約 40.6 [12]	413	5	2700	62
	約 203.2 [60]	2160	5	11500	52
d-アンフェタミン硫酸塩	約 2.0 [1.5]	142	0.5	461	84
	約 4.1 [3]	217	1.5	921	84
	約 8.2 [6]	815	0.25	1360	62
	約 16.3 [12]	1530	0.25	4430	101
	約 81.6 [60]*	13700	1	48700	223

a：[ ] 内に *d*-アンフェタミン換算値を示す.
*：動物の死亡により 1.5 時間までの血漿中濃度で評価.

2.6.4.3.2.4 ラットにおける本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩単回静脈内投与後の血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度

参考資料 4.2.2.2-02
概要表 2.6.5.3.3，2.6.5.3.4

雄性 Sprague-Dawley 系ラット (食餌条件及び例数は記載なし) に本薬 [投与量：約 5.1 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算値：1.5 mg/kg)] 又は *d*-アンフェタミン硫酸塩 [投与量：約 2.0 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算値：1.5 mg/kg)] の水溶液を単回静脈内投与した．投与後 24 時間まで経時的に採血し，得られた血漿をプールして，血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS で測定した．血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの PK パラメータを表 2.6.4.3-5 に示す.

本薬を単回静脈内投与した後の *d*-アンフェタミンの T_{max} は 0.5 時間であり，*d*-アンフェタミン硫酸塩投与時の T_{max} (0.083 時間) より遅かった．また，本薬を単回静脈内投与した後の *d*-アンフェタミンの $AUC_{0\text{-}inf}$ 及び C_{max} は，*d*-アンフェタミン換算投与量として等量の *d*-アンフェタミン硫酸塩を単回静脈内投与した後の値に比べて，それぞれ約 1/2 及び 1/4 と顕著に低かった．これらの結果は，経口投与時と同様，本薬を静脈内投与した場合においても，*d*-アンフェタミン硫酸塩投与時に比べて血漿中 *d*-アンフェタミン濃度の上昇が緩徐であることを示している．さらに，本薬を単回静脈内投与した後の *d*-アンフェタミンの $AUC_{0\text{-}inf}$ は，等量の本薬を単回経口投与した後の値 (331 ng·hr/mL：表 2.6.4.3-4) に比べ小さかった.

表 2.6.4.3-5　ラットにおける本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩単回静脈内投与後の血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの PK パラメータ

PK パラメータ	本薬 (約 5.1 mg/kg [1.5 mg/kg])[a]		*d*-アンフェタミン硫酸塩 (約 2.0 mg/kg [1.5 mg/kg])[a]
	リスデキサンフェタミン	*d*-アンフェタミン	*d*-アンフェタミン
C_{max} (ng/mL)	4510	99.5	420
T_{max} (hr)	0.083	0.5	0.083
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)	2290	238	547

a：投与量 ([ ] 内に *d*-アンフェタミン換算値を示す).

2.6.4.3.2.5 ラットにおける本薬の *in situ* 消化管透過性

参考資料 4.2.2.2-03
概要表 2.6.5.3.5

リスデキサンフェタミンの消化管吸収部位を検討するために，絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットを用いて，十二指腸，空腸，回腸又は結腸にループを作製し (n=4/部位)，本薬 (濃度：0.125 mg/mL) をループ内に 90 分間灌流した (流速：0.2 mL/min)．灌流開始後，血液を大腿静脈より経時的に採取し，血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS で測定した．最終評価時点である灌流開始後 90 分の血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を表 2.6.4.3-6 に示す．

血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度は，十二指腸，空腸及び回腸ではおおむね同程度であり，結腸では他の部位に比べて顕著に低かった．なお，リスデキサンフェタミンは，ラット血液中では速やかに消失して *d*-アンフェタミンの生成が認められたが，ラット小腸及び大腸ホモジネートとの共存下では安定であった [2.6.4.5.4.1 項参照]．したがって，本実験で認められた *d*-アンフェタミンの大部分は，吸収されたリスデキサンフェタミンが血液中で加水分解されて生成したと考えられ，リスデキサンフェタミンは，主として十二指腸，空腸及び回腸から吸収されることが明らかとなった．

前述したように，リスデキサンフェタミンは PEPT1 の基質であることが示されている．また，ラットにおいて PEPT1 は，結腸では発現しておらず，十二指腸，空腸及び回腸の刷子縁膜上に高発現していることが報告されている [4]．これらのことから，リスデキサンフェタミンの消化管透過性の部位差は，PEPT1 発現量の部位差に起因すると考えられる．

表 2.6.4.3-6　ラット十二指腸，空腸，回腸及び結腸ループにおける本薬灌流開始後 90 分の血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度

部位	血漿中濃度 (ng/mL)	
	リスデキサンフェタミン	*d*-アンフェタミン
十二指腸	53.7 ± 21.5	24.2 ± 16.4
空腸	16.3 ± 6.9	19.0 ± 7.0
回腸	28.3 ± 5.3	29.5 ± 6.0
結腸	3.2 ± 6.4	0.9 ± 1.2

平均値 ± 標準偏差 (n = 4).

2.6.4.3.2.6 ラットにおける本薬単回経口投与後の門脈及び循環血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度

参考資料 4.2.2.2-04
概要表 2.6.5.3.6

絶食下の雄性 Sprague-Dawley 系ラット (n=3) に本薬の水溶液を 10 mg/kg の用量で単回経口投与した．投与後 24 時間まで門脈及び頸静脈から経時的に採血し，血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS で測定した．血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの PK パラメータを表 2.6.4.3-7 に示す．

リスデキサンフェタミンは門脈及び循環血漿の両方で検出され，門脈及び循環血漿におけるリスデキサンフェタミンの T_{max} は共に投与後 0.17 時間であった．また，門脈血漿においては，リスデキサンフェタミンの C_{max} が *d*-アンフェタミンの C_{max} より高かった．したがって，リスデキサンフェタミンは未変化体のまま速やかに吸収されることが示唆された．

表 2.6.4.3-7　ラットにおける本薬単回経口投与後の門脈及び循環血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの PK パラメータ

PK パラメータ	門脈血漿		循環血漿	
	リスデキサンフェタミン	*d*-アンフェタミン	リスデキサンフェタミン	*d*-アンフェタミン
C_{max} (ng/mL)	1760 ± 1080	337 ± 40	178 ±153	125 ± 27
T_{max} (hr)	0.17 ± 0.00	1.0 ± 0.0	0.17 ± 0.00	1.7 ± 0.6

投与量：10 mg/kg．平均値 ± 標準偏差 (n = 3).

2.6.4.3.2.7 イヌにおける本薬単回経口及び静脈内投与後の血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度

参考資料 4.2.2.2-05
概要表 2.6.5.3.7

絶食下の雄性 beagle イヌ (n=3) に本薬の水溶液を約 3.5 mg/kg (リスデキサンフェタミン換算値：2 mg/kg) の用量で単回経口投与し，その 7 日後に本薬の生理食塩水溶液を約 3.5 mg/kg (リスデキサンフェタミン換算値 : 2 mg/kg) の用量で 30 分かけて単回静脈内投与した．経口投与では投与後 72 時間まで，静脈内投与では投与開始後 23 時間まで経時的に採血し，血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS で測定した．血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの PK パラメータを表 2.6.4.3-8 に示す．

本薬単回静脈内投与試験において，リスデキサンフェタミンの全身クリアランス (CL_{tot}) は 2090 mL/hr/kg であり，定常状態分布容積 (Vd_{ss}) は総体液量 (約 600 mL/kg [16, 17]) に近い値を示した．

本薬を単回経口投与した後のリスデキサンフェタミンの T_{max} は 0.5 時間，$t_{1/2}$ は 0.39 時間であることから，イヌにおいても，リスデキサンフェタミンの吸収及び血漿からの消失は速やかであることが示された．一方，*d*-アンフェタミンの T_{max} は 2 時間，$t_{1/2}$ は 3.48 時間であった．イヌにおいても，血漿中 *d*-アンフェタミン濃度は，その上昇がリスデキサンフェタミンに比べて緩

徐であり，持続性のある推移を示した．リスデキサンフェタミンは，ラット及びヒト小腸及び大腸ホモジネートとの共存下では安定であるが，ラット及びヒト血液中では速やかに消失して *d*-アンフェタミンの生成が認められている [2.6.4.5.4.1 項参照]．したがって，イヌにおいても，血漿中 *d*-アンフェタミンの大部分は，吸収されたリスデキサンフェタミンが血液中で加水分解されて生成したものと考えられる．そのため，リスデキサンフェタミンの吸収量としては，リスデキサンフェタミンだけでなく *d*-アンフェタミンの曝露を考慮する必要がある．リスデキサンフェタミンの BA は 33%であるが，リスデキサンフェタミンが加水分解されて生成する *d*-アンフェタミンの $AUC_{0\text{-}inf}$ が経口投与時と静脈内投与時で同程度であったことから，本薬を単回経口投与した後のリスデキサンフェタミンは，良好に吸収されると考えられる．

表 2.6.4.3-8　イヌにおける本薬単回経口及び静脈内投与後の血漿中リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの PK パラメータ

PK パラメータ	経口投与 (約 3.5 mg/kg)[a]		30 分点滴静脈内投与 (約 3.5 mg/kg)[a]	
	リスデキサンフェタミン	*d*-アンフェタミン	リスデキサンフェタミン	*d*-アンフェタミン
C_{max} (ng/mL)	328 ± 92	104 ± 22	1650 ± 180	113 ± 3
T_{max} (hr)[b]	0.5 (0.5～0.5)	2.0 (2.0～2.0)	0.49 (0.49～0.49)	1.00 (0.67～2.0)
$t_{1/2}$ (hr)	0.39 ± 0.10	3.48 ± 0.40	0.88[c]	3.14 ± 0.40
CL_{tot} (mL/hr/kg)	–	–	2090 ± 200	–
Vdss (mL/kg)	–	–	689 ± 106	–
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)	319 ± 46	728 ± 205	964 ± 97	673 ± 86
BA (%)	33.0 ± 1.9	–	–	–

平均値 ± 標準偏差 (n = 3).
–：適用せず．a：投与量，b：中央値 (範囲)，c：平均値 (n = 2).

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 *In vitro* 試験

2.6.4.4.1.1 タンパク結合

ラット (Sprague-Dawley，性別は記載なし，n=4)，ウサギ (New Zealand White，性別は記載なし，n=4)，イヌ (mongrel，性別は記載なし，n=17) 及びヒト (性別は記載なし，n=7) 血漿における 1 μmol/L の ^{3}H 標識した *d*-アンフェタミン硫酸塩の *in vitro* タンパク結合率を 37°C，pH 7.4 の条件下で平衡透析法により検討した [5].

その結果，ラット，ウサギ，イヌ及びヒト血漿タンパク結合率は，それぞれ 40.5%，31.0%，27.1%及び 16.2%であった.

2.6.4.4.2 *In vivo* 試験

2.6.4.4.2.1 ラットにおける本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与後の脳移行性

参考資料 4.2.2.3-01
概要表 2.6.5.5.1

リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの脳移行性を評価するため，絶食下の Sprague-Dawley 系ラット (性別は記載なし) に本薬 [投与量:約 5.1 及び 17 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算値 : 1.5 及び 5 mg/kg)] 又は *d*-アンフェタミン硫酸塩 [投与量 : 約 2.0 及び 6.8 mg/kg (*d*-アンフェタミン換算値 : 1.5 及び 5 mg/kg)] の 0.5%メチルセルロース水溶液を単回経口投与し，投与後 1，2 及び 6 時間に脳及び血液を採取した (各時点 n=3). 脳及び血清中 *d*-アンフェタミン及びリスデキサンフェタミン濃度を LC/MS/MS で測定した.

その結果，本薬投与時に，リスデキサンフェタミンは脳へ移行しなかったが，*d*-アンフェタミンは薬効標的部位である脳へ移行した．本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与後の脳及び血清中 *d*-アンフェタミン濃度は，いずれの化合物及び投与量においても，最初の採取時点である投与後 1 時間で最も高く，6 時間では 1/10 以下に低下したことから，*d*-アンフェタミンの脳への残留はないと推察された．いずれの化合物においても，投与量並びに試料採取時間に関わらず，*d*-アンフェタミンの脳/血清中濃度比は，4.5～9.6 であり，2 倍程度の変動範囲内にあった.

2.6.4.4.2.2 妊娠マウスにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回静脈内投与後の組織分布

絶食下の妊娠アルビノマウス (系統は記載なし) に ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩を 22 mg/kg の用量で単回静脈内投与し，投与後 1，5，10，30 及び 60 分並びに 4，12 及び 24 時間に屠殺した (各時点 n=1). オートラジオグラフィー法により，放射能の組織移行性及び胎盤通過性を検討した [6].

単回静脈内投与後 1～5 分で血液中放射能レベルは急激に低下し，組織中放射能レベルは徐々に上昇した．投与後 5 分で高いレベルの放射能が検出されたのは，母動物の脳，腎臓，胃粘膜，肝臓，心筋，骨格筋及び唾液腺であり，胎盤及び胎児の放射能レベルは母動物の各組織に比べて低かった．投与後 5～30 分には多くの組織で放射能レベルは低下し，高いレベルの放射能が

検出されたのは，母動物の脳，肝臓，唾液腺及び小腸であったが，これらの組織中放射能レベルも時間経過と共に低下した．また，投与後 12～24 時間では，母動物の肝臓及び小腸に低いレベルの放射能が検出されたが，胎盤及び胎児に放射能は検出されなかった．

以上の結果から，妊娠マウスに ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩を静脈内投与した場合，いずれの組織にも放射能の残留はないことが示された．また，放射能は投与後胎盤を通過し胎児へ移行するものの，母動物に比べて胎児組織中放射能レベルは低いことが明らかとなった．

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 *In vitro* 代謝物検索

2.6.4.5.1.1 リスデキサンフェタミンのヒト肝ミクロソーム並びに新鮮ヒト及びラット肝細胞を用いた *in vitro* 代謝

参考資料 5.3.2.2-10
概要表 2.6.5.10.1

本薬又は ^{14}C 標識した本薬 (濃度：12.5 及び 125 ng/mL) をプールしたヒト肝ミクロソームと NADPH 存在下 37°C で 30 分，新鮮ヒト又はラット遊離肝細胞と 37°C で 4 時間，それぞれインキュベートし，各インキュベーション時間終了までのリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度の経時的な測定並びに代謝物の検索を，LC/MS/MS 及び Radio-HPLC を用いて実施した．

いずれの条件においても，経時的なリスデキサンフェタミンの減少及び *d*-アンフェタミンの生成は認められず，代謝物も検出されなかった．したがって，リスデキサンフェタミンは，ヒト肝ミクロソーム並びに新鮮ヒト及びラット肝細胞において安定であることが示された．

2.6.4.5.1.2 *d*-アンフェタミンの肝細胞を用いた *in vitro* 代謝

^{14}C 標識した *d*-アンフェタミン硫酸塩 (濃度：1 μmol/L) をラット (Sprague-Dawley，雄性)，ウサギ (New Zealand White，雄性)，イヌ (ビーグル，雌性) 又はヒト肝細胞と 37°C で 4 時間インキュベートし，反応液を β-グルクロニダーゼ及びアリルスルファターゼ処置した後，Radio-HPLC を用いて，*d*-アンフェタミンの代謝物を検索した [7]．したがって，*d*-アンフェタミン，4-ヒドロキシアンフェタミン及び安息香酸の割合には，それぞれのグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体も含まれている．

表 2.6.4.5-1 に示すように，ラット肝細胞においては 4 時間反応後の試料中放射能の 25.0%が *d*-アンフェタミンであり，代謝物としては，4 位水酸化反応により生成する代謝物 (4-ヒドロキシアンフェタミン：46.9%) が，脱アミノ反応を経由して生成する代謝物 (安息香酸＋馬尿酸：20.0%，フェニルアセトン：7.60%) よりも多く検出された．ウサギ肝細胞においては試料中放射能の 2.60%が *d*-アンフェタミンであり，脱アミノ反応を経由して生成する代謝物 (安息香酸＋馬尿酸：83.9%，フェニルアセトン：5.08%) が，4 位水酸化反応により生成する代謝物 (4-ヒドロキシアンフェタミン：8.03%) よりも多く検出された．イヌ肝細胞においては試料中放射能の 69.0%が *d*-アンフェタミンであり，脱アミノ反応を経由して生成する代謝物 (安息香酸＋馬尿酸：14.2%，フェニルアセトン：10.4%) が，4 位水酸化反応により生成する代謝物 (4-ヒドロキシアンフェタミン：6.40%) よりも多く検出された．ヒト肝細胞においては試料中放射能の 91.6%が *d*-アンフェタミンであり，ウサギ及びイヌと同様，脱アミノ反応を経由して生成する代謝物 (安息香酸＋馬尿酸：4.10%，フェニルアセトン：3.73%) が，4 位水酸化反応により生成する代謝物 (4-ヒドロキシアンフェタミン：0.66%) よりも多く検出された．

以上の結果は，*d*-アンフェタミンの酸化的代謝において，ラットでは 4 位水酸化反応が，ウサギ，イヌ及びヒトでは脱アミノ反応が，それぞれ主であることを示している．

表 2.6.4.5-1　^{14}C 標識した *d*-アンフェタミンのラット，ウサギ，イヌ及びヒト肝細胞における代謝

d-アンフェタミン及びその代謝物	代謝物組成 (4 時間反応後の試料中放射能に対する%)			
	ラット	ウサギ	イヌ	ヒト
d-アンフェタミン [a]	25.0 ± 7.4	2.60 ± 6.8	69.0 ± 24	91.6 ± 7.8
4-ヒドロキシアンフェタミン [a]	46.9 ± 15	8.03 ± 3.5	6.40 ± 3.3	0.66 ± 2.0
安息香酸 [a]＋馬尿酸	20.0 ± 5.6	83.9 ± 9.0	14.2 ± 4.1	4.10 ± 2.4
フェニルアセトン	7.60 ± 5.1	5.08 ± 5.5	10.4 ± 10.4	3.73 ± 1.6

平均値 ± 標準偏差 (9 replicates assays)．a：グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体を含む．

2.6.4.5.2 *In vivo* 代謝物検索

2.6.4.5.2.1 ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回経口投与後の代謝

参考資料 4.2.2.4-04
概要表 2.6.5.9.1，2.6.5.9.2

絶食下の雄性及び雌性 Sprague-Dawley 系ラット (無処置ラット又は頸静脈及び胆管カニュレーションラット) に ^{14}C 標識した本薬の水溶液を 10 mg/kg の用量で単回経口投与し，血漿，尿，胆汁及び糞中代謝物を，Radio-HPLC 及び LC/MS/MS を用いて検索した．

無処置ラットの投与後 48 時間までに得られた血漿を用いて代謝物を検索した．その結果，雌雄共に主要な代謝物として 4-ヒドロキシアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定) 及び *d*-アンフェタミンが検出され [AUC 比 (Radio-HPLC で検出されたリスデキサンフェタミン及びその代謝物の AUC の和に対する各代謝物の AUC の割合) : 雄でそれぞれ 67.2%及び 18.3%，雌でそれぞれ 61.1%及び 37.0%]，その和は 85%以上であった．なお，リスデキサンフェタミンも検出されたが，AUC 比は 2%未満であった．その他の代謝物として，雄性ラットでは *d*-アンフェタミンの芳香環部分の水酸化体 (推定，AUC 比 : 14.2%) が検出されたが，雌性ラットでは検出されなかった．トキシコキネティクス解析において *d*-アンフェタミンの曝露が雄に比べて雌で高い傾向が認められており [2.6.6.3 項参照], *d*-アンフェタミンの芳香環部分の水酸化体 (4 位以外) 生成における性差が血漿中 *d*-アンフェタミン濃度の性差の一因であると考えている．

無処置ラットの尿 (雌雄試料混合，投与後 0～5，5～12，12～24 時間) 中代謝物を検索した．その結果，主要な代謝物として，4-ヒドロキシアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定) 及び *d*-アンフェタミンが検出された (それぞれ投与量の 29.8%及び 13.6%)．リスデキサンフェタミンは投与後 0～5 時間でのみ検出され, 投与量の 4.8%であった. さらに, 4-ヒドロキシアンフェタミン (推定) が検出されたが，投与量の 4.6%であった．4-ヒドロキシリスデキサンフェタミン (推定) を含むその他の代謝物は全て投与量の 3%未満であった．

無処置ラットの投与後 24 時間までの糞 (雌雄試料混合) 中には，リスデキサンフェタミンは検出されなかった．糞中代謝物として 4-ヒドロキシアンフェタミン (推定) 及び *d*-アンフェタミンのみが検出された (それぞれ投与量の 1.4%及び 1.0%).

投与後 8 時間までに胆汁 (雌雄試料混合) 中に排泄されたリスデキサンフェタミンは, 投与量の 0.5%であった．胆汁中の主要な代謝物として，アセチルアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定) 及び 4-ヒドロキシアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定) が検出された (それ

ぞれ投与量の 2.0%及び 1.8%). *d*-アンフェタミンを含むその他の代謝物は全て投与量の 1%未満であった.

2.6.4.5.2.2 ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回静脈内投与後の代謝

参考資料 4.2.2.4-04
概要表 2.6.5.9.1，2.6.5.9.2

絶食下の雄性及び雌性 Sprague-Dawley 系ラット (頸静脈カニュレーションラット又は頸静脈及び胆管カニュレーションラット) に ^{14}C 標識した本薬の水溶液を 3 mg/kg の用量で単回静脈内投与した後，血漿及び胆汁中代謝物を，Radio-HPLC 及び LC/MS/MS を用いて検索した.

頸静脈カニュレーションラットの投与後 48 時間までに得られた血漿では，リスデキサンフェタミンの AUC 比 (Radio-HPLC で検出されたリスデキサンフェタミン及びその代謝物の AUC の和に対するリスデキサンフェタミンの AUC の割合) は雄で 22.7%，雌で 18.1%であったが，血漿からの消失は速やかで，投与後 1 時間以降には検出されなかった．また，主要な代謝物として 4-ヒドロキシアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定) 及び *d*-アンフェタミンが検出され (AUC 比 : 雄でそれぞれ 53.0%及び 16.7%，雌でそれぞれ 41.0%及び 32.4%)，その和は約 70%であった．4-ヒドロキシリスデキサンフェタミン (推定) を含むその他の代謝物の AUC 比は，いずれも 5%未満であった.

投与後 8 時間までに胆汁 (雌雄試料混合) 中に排泄されたリスデキサンフェタミンは，投与量の 0.1%であった．胆汁中の主な代謝物として，4-ヒドロキシアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定)，*d*-アンフェタミン及びアセチルアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定) が検出された (それぞれ投与量の 2.6%，1.8%及び 1.8%)．その他，微量代謝物としてアセチルアンフェタミン (推定) が検出された (投与量の 0.3%).

2.6.4.5.2.3 ウサギにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与後及びイヌにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回腹腔内投与後の代謝

非絶食下の雌性 New Zealand White ウサギ (n=3) に ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩の水溶液を 10 mg/kg の用量で単回経口投与した．また，非絶食下の雌性 greyhound イヌ (n=3) に ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩の生理食塩水溶液を 5 mg/kg の用量で単回腹腔内投与した．それぞれ投与後 0～24 時間に得られた尿をペーパークロマトグラフィーにより分離し，ラジオクロマトグラムスキャナー装置を用いた同位体希釈法により尿中代謝物を検索した [8]. なお，アンフェタミン (*dl* 比は不明) 及び 4-ヒドロキシアンフェタミンについては，10 mol/L 塩酸処理した試料を用い，それぞれの抱合体を含めた割合を算出した．また，安息香酸については，濃硝酸処理した試料を用い，抱合体を含めた割合を算出後，馬尿酸の割合を減じることにより，馬尿酸以外の抱合体を含めた割合を算出した.

表 2.6.4.5-2 に示すように，ウサギに ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩を単回経口投与したときの投与後 0～24 時間の尿中放射能排泄率は 72%であり，尿中には，主として，馬尿酸，安息香酸及びフェニルアセトンが検出され (それぞれ投与量の 10%，15%及び 22%)，アンフェタミンは投与量の 3.5%であった．その他の代謝物としては，4-ヒドロキシアンフェタミン及び

1-フェニル-2-プロパノールが検出された (それぞれ投与量の 6.2%及び 7.5%).

イヌに ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩を単回腹腔内投与したときの投与後 0～24 時間の尿中放射能排泄率は 75%であり，尿中には，主として，アンフェタミン，馬尿酸及び安息香酸が検出された (それぞれ投与量の 30%，20%及び 8%). その他の代謝物としては，4-ヒドロキシアンフェタミン，フェニルアセトン及び 1-フェニル-2-プロパノールが検出された (それぞれ投与量の 5.9%，1.4%及び 1%).

表 2.6.4.5-2 ウサギにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与後及びイヌにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回腹腔内投与後 0～24 時間の尿中代謝物組成

アンフェタミン及び その代謝物	代謝物組成 (投与量に対する%)	
	ウサギ (10 mg/kg)[a]	イヌ (5 mg/kg)[a]
アンフェタミン (*dl* 比は不明)[b]	3.5	30
4-ヒドロキシアンフェタミン[b]	6.2	5.9
馬尿酸	10	20
安息香酸[c]	15	8
フェニルアセトン	22	1.4
1-フェニル-2-プロパノール	7.5	1
合計	64	66
0～24 時間の尿中放射能排泄率	72	75

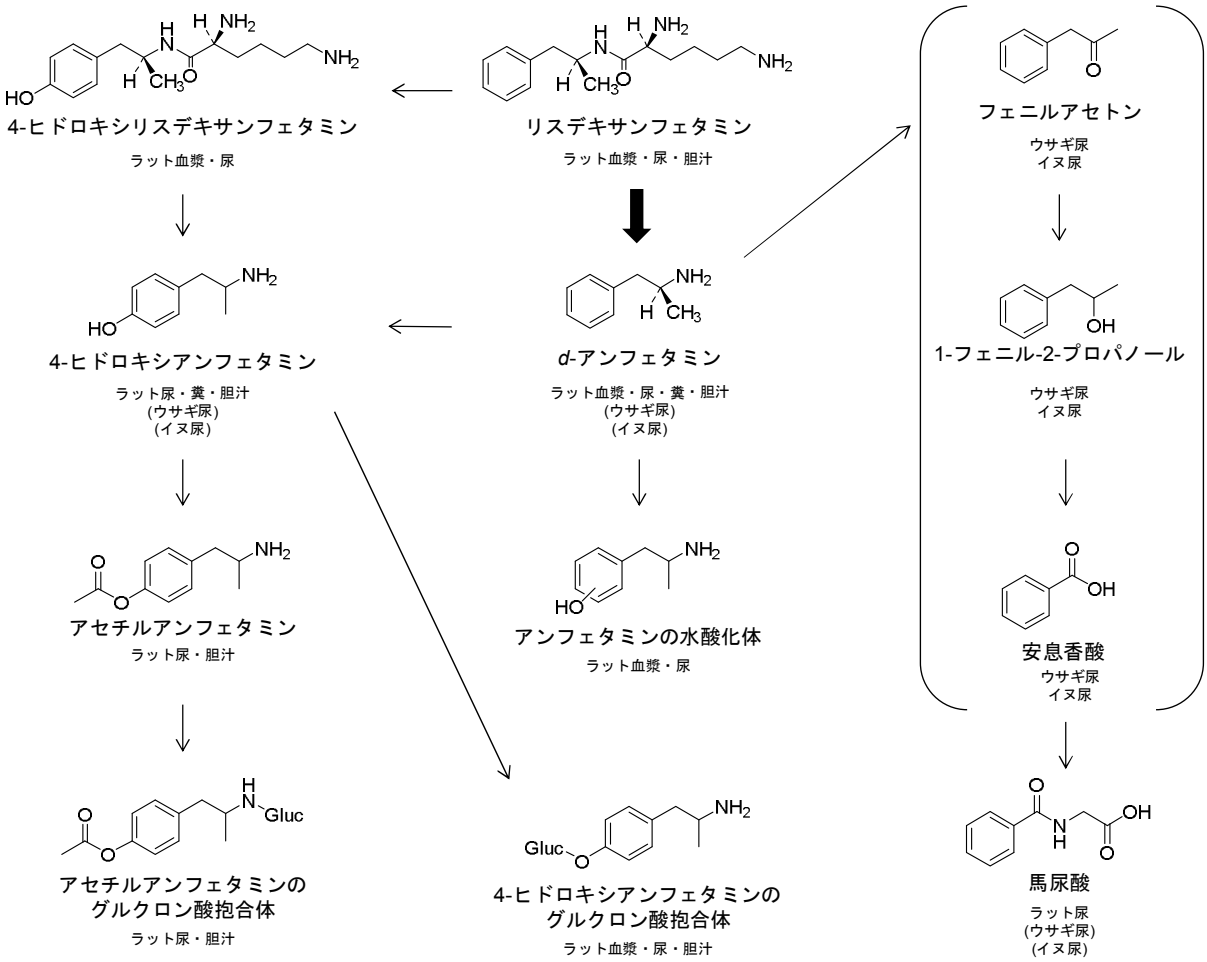
平均値 (n = 3). a：投与量. b：抱合体を含む. c：馬尿酸以外の抱合体を含む.

2.6.4.5.3 推定代謝経路

概要表 2.6.5.11

^{14}C 標識した本薬を投与したラット *in vivo* 代謝物を基に，リスデキサンフェタミンの代謝経路を推定した (図 2.6.4.5-1)．また，^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩を投与したウサギ及びイヌ *in vivo* 代謝物検索結果を加えて表示した．

図 2.6.4.5-1　リスデキサンフェタミンの推定代謝経路



( ) 内に *dl*-アンフェタミンの推定代謝経路並びに *dl*-アンフェタミン及びその代謝物が認められた試料を示す．

2.6.4.5.4 リスデキサンフェタミンの加水分解

2.6.4.5.4.1 ラット及びヒトにおける血液，血漿並びに組織ホモジネート中安定性評価

評価資料 5.3.2.2-01
参考資料 4.2.2.4-05，5.3.2.2-11
概要表 2.6.5.10.2，2.6.5.10.3

リスデキサンフェタミンのラット (雄性 Sprague-Dawley 系ラット, 3 例をプールした試料) 及びヒト (2 又は 3 ドナー) の血液，血漿並びに組織 (肝臓，腎臓，小腸上部，小腸下部，大腸及び膵臓) ホモジネートにおける *in vitro* 安定性試験を実施した [それぞれ参考資料4.2.2.4-05及び5.3.2.2-11]．本薬 [濃度：約 1.7 μg/mL (リスデキサンフェタミン換算値：1.0 μg/mL)] を血液，血

漿又は組織ホモジネートと 37℃ で 4 時間までインキュベートし, 経時的にリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS により測定することで，安定性を評価した.

その結果，ヒト血液，ヒト腎臓ホモジネート，ラット血液及びラット肝臓ホモジネートにおいて，リスデキサンフェタミンはそれぞれ 1.5～1.7，1.9～2.7，0.95 及び 2.5 時間の半減期で速やかに消失し，いずれの組織でも *d*-アンフェタミンの生成が認められた．また，ヒト肝臓ホモジネートにおけるリスデキサンフェタミンの消失半減期は 8.1～11.2 時間であった．一方，ヒト及びラット血漿並びにその他のヒト及びラット組織ホモジネートにおいては，リスデキサンフェタミンは安定であり，消失半減期は算出できなかった．前述した肝ミクロソームや肝細胞での安定性を考慮すると，ヒト及びラット肝臓ホモジネート並びにヒト腎臓ホモジネートにおけるリスデキサンフェタミンの加水分解は，これらの組織ホモジネート中に混在する血液によるものと推定される.

リスデキサンフェタミンのラット盲腸内容物 (雄性 Sprague-Dawley 系ラット，3 例をプールした試料) 及びヒト大腸内容物 (2 ドナー) における *in vitro* 安定性試験を実施した [評価資料 5.3.2.2-01]．本薬 (濃度：1.0 μg/mL) をラット盲腸内容物又はヒト大腸内容物と 37℃ で 2 時間 (ヒト大腸内容物) 又は 4 時間 (ラット盲腸内容物) までインキュベートし，経時的にリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS により測定することで，安定性を評価した.

その結果，ラット盲腸内容物存在下ではリスデキサンフェタミンの消失及び *d*-アンフェタミンの生成が経時的に認められたが，ヒト大腸内容物存在下ではリスデキサンフェタミンは安定であった.

2.6.4.5.4.2 加水分解酵素を用いた安定性評価

評価資料 4.2.2.4-01，4.2.2.4-02
概要表 2.6.5.10.4

リスデキサンフェタミンを加水分解する可能性がある様々な酵素 (Dipeptidyl peptidase IV，Cathepsin G，Elastase，Subtilisin A，Subtilisin Type XXIV，Prolidase，Bromelain，Amidase，Chymopapain，Pancreatin，Pepsin，Esterase，Protease X，Alpha chymotrypsin，Papain，Trypsin，Sequence grade modified trypsin 及び Endopeptidase Lys-C) に対するリスデキサンフェタミンの安定性を評価した．本薬 (濃度 : 1.0 μg/mL) と 37℃ で 1 時間 (Dipeptidyl peptidase IV，Cathepsin G 及び Elastase) 又は 4 時間 (その他の 15 種の酵素) までインキュベートし, Dipeptidyl peptidase IV, Cathepsin G 及び Elastase については経時的にリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS により，その他の 15 種の酵素については経時的に *d*-アンフェタミン濃度を高速液体クロマトグラフィーにより，それぞれ測定した.

その結果，リスデキサンフェタミンは，検討したいずれの酵素によっても加水分解されないことが示された.

2.6.4.5.4.3 消化管内安定性評価

評価資料 4.2.2.4-03
概要表 2.6.5.10.5

人工胃液，人工腸液又はトリプシン含有リン酸カリウム水溶液 (濃度：100，2000 及び 20000 units/mL) 中での安定性を評価するため，それぞれの溶液中で本薬 (濃度：200 µg/mL) を 37°C で 1 時間までインキュベートし，経時的にリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS により測定した．

その結果，人工腸液及び 20000 units/mL のトリプシン含有リン酸カリウム水溶液中においてのみ微量 (リスデキサンフェタミン初濃度の ＜0.1%相当) の *d*-アンフェタミンが検出されたものの，検討したいずれの条件でも経時的な *d*-アンフェタミンの生成は確認されず，リスデキサンフェタミンは安定であった．

2.6.4.5.4.4 各種ヒト血液画分におけるリスデキサンフェタミンの加水分解活性評価

評価資料 5.3.2.2-02，5.3.2.2-03，5.3.2.2-04
概要表 2.6.5.10.6，2.6.5.10.7，2.6.5.10.8

リスデキサンフェタミンを加水分解するヒト血液画分を明らかにするため，新鮮ヒト赤血球，末梢血単核細胞 (単球及びリンパ球)，多形核細胞 (好酸球，好中球及び好塩基球) 及び血小板 (各 2 ドナー，男性) におけるリスデキサンフェタミンの加水分解活性を評価した [評価資料 5.3.2.2-02]．本薬 [濃度：約 1.7 µg/mL (リスデキサンフェタミン換算値：1.0 µg/mL)] を各血液画分と 37°C で 4 時間までインキュベートし，経時的にリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS により測定した．

その結果，リスデキサンフェタミンは，赤血球においてのみ加水分解され，0.87～1.10 時間の半減期で速やかに消失し，*d*-アンフェタミンの生成が認められた．一方，その他の血液画分では安定であった．これらの結果より，ヒト血液中では，赤血球においてリスデキサンフェタミンが *d*-アンフェタミンに加水分解されると考えられる．

また，血液から調製した赤血球画分 (男女各 1 ドナー) を用いて，希釈した赤血球画分 (生理食塩水添加，赤血球画分含有率：90%，75%，50%，33%，25%及び 10%)，溶血させた赤血球画分 (赤血球画分含有率：90%) 及び EDTA を添加した赤血球画分 (約 12.15 mg K_2EDTA/7 mL of blood) を作製し，これらの赤血球画分における加水分解活性を評価した [評価資料 5.3.2.2-03]．本薬 [濃度：約 1.7 µg/mL (リスデキサンフェタミン換算値：1.0 µg/mL)] をこれらの赤血球画分と 37°C で 4 時間までインキュベートし，経時的にリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS により測定した．

その結果，赤血球画分含有率低下に伴い，リスデキサンフェタミンの消失速度が低下し (含有率 90%，75%，50%，33%，25%及び 10%の赤血球画分の半減期：それぞれ 1.0，1.1～1.2，1.5～2.2，1.9～2.7，2.4～3.4 及び ＞6.5 時間)，ヒト血液におけるリスデキサンフェタミンの加水分解において，赤血球の寄与が大きいことが示唆された．また，溶血させた赤血球画分及び EDTA を添加した赤血球画分において，加水分解活性がほぼ維持されることが確認された．なお，いずれの条件においても，リスデキサンフェタミンの加水分解活性に性差は認められなかった．

さらに，本薬 [約 1.7 µg/mL (リスデキサンフェタミン換算値：1.0 µg/mL)] を鎌状赤血球症患者の血液 (2 ドナー，男性) 又は健常人の血液 (2 ドナー，男性) と 37°C で 4 時間までインキュベートし，経時的にリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS により測定した [評価資料 5.3.2.2-04].

その結果，鎌状赤血球症患者の血液は，健常人の血液と同等の加水分解活性を有することが示された.

2.6.4.5.4.5 ヒト赤血球におけるリスデキサンフェタミンの加水分解活性評価

参考資料 5.3.2.2-12
概要表 2.6.5.10.9

リスデキサンフェタミンを加水分解するヒト赤血球画分並びにリスデキサンフェタミンの加水分解酵素を明らかにするため，ヒト血液から調製した赤血球画分を用いて種々検討した.

リスデキサンフェタミンを加水分解するヒト赤血球画分を明らかにするため，本薬 [濃度：約 1.7 µg/mL (リスデキサンフェタミン換算値：1.0 µg/mL)] をプールした新鮮ヒト血液 (3 ドナー，男性) から得られた全血，血漿，溶血させた赤血球，赤血球膜又は赤血球可溶性画分と 37°C で 4 時間までインキュベートし，経時的にリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度 LC/MS/MS により測定した．その結果，全血，溶血させた赤血球及び赤血球可溶性画分では経時的な *d*-アンフェタミンの生成が認められたが，血漿及び赤血球膜ではリスデキサンフェタミンは安定であった．この結果より，赤血球可溶性画分においてリスデキサンフェタミンが加水分解されることが示された.

また，リスデキサンフェタミンの加水分解酵素を明らかにするため，赤血球可溶性画分におけるリスデキサンフェタミンの加水分解に対する各種酵素阻害剤 [カルボキシルエステラーゼ/アミダーゼ阻害剤である bis(4-nitrophenyl)-phosphate (濃度：1 mmol/L)，不可逆的セリンプロテアーゼ阻害剤である 4-(2-aminoethyl)benzene sulfonyl fluoride (AEBSF，濃度：2 mmol/L)，可逆的セリンプロテアーゼ阻害剤である aprotinin (濃度：0.3 µmol/L)，システインプロテアーゼ阻害剤である E-64 (濃度：14 µmol/L)，可逆的セリン/チオールプロテアーゼ阻害剤である leupeptin (濃度：1 µmol/L)，アミノペプチダーゼ阻害剤である bestatin (濃度：130 µmol/L) 及び金属キレート剤である EDTA (濃度：1 mmol/L)] の影響を評価した．赤血球可溶性画分に各種酵素阻害剤を添加し，本薬 [濃度：約 1.7 µg/mL (リスデキサンフェタミン換算値：1.0 µg/mL)] と 37°C で 4 時間までインキュベートし，経時的にリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS により測定した．その結果，bestatin，AEBSF 及び EDTA を添加した場合はリスデキサンフェタミンの加水分解が抑制されたが，その他の阻害剤はリスデキサンフェタミンの加水分解に影響を及ぼさなかった. 高濃度の AEBSF はセリンプロテアーゼだけでなくアミノペプチダーゼも阻害することが報告されており [9]，他のセリンプロテアーゼ阻害剤 (aprotinin 及び leupettin) では加水分解が抑制されなかったことも併せて考えると，アミノペプチダーゼがリスデキサンフェタミンの加水分解に関与することが示唆された.

これらの結果より，ヒトにおいて，リスデキサンフェタミンは赤血球の可溶性画分に存在するアミノペプチダーゼにより加水分解されることが示唆された.

2.6.4.5.4.6 リスデキサンフェタミンの加水分解におけるアミノペプチダーゼ B の影響評価

参考資料 4.2.2.4-06
概要表 2.6.5.10.10

リスデキサンフェタミンの加水分解に対するアミノペプチダーゼ B の関与について検討した．本薬 [濃度：約 1.7 µg/mL (リスデキサンフェタミン換算値：1.0 µg/mL)] をアミノペプチダーゼ B (濃度：10.9，34 及び 68 µg/mL) と 37°C で最長 4 時間までインキュベートし，経時的にリスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミン濃度を LC/MS/MS により測定した．

その結果，*d*-アンフェタミンの生成は確認できなかった．したがって，リスデキサンフェタミンはアミノペプチダーゼ B の基質ではないことが示唆された．

2.6.4.5.5 *d*-アンフェタミンの酸化的代謝における責任代謝酵素

d-アンフェタミンはヒト肝細胞において酸化的代謝を受け，脱アミノ反応を経由して生成する代謝物 (安息香酸及び馬尿酸並びにフェニルアセトン) 及び 4 位水酸化反応により生成する代謝物 (4-ヒドロキシアンフェタミン) が生成した [2.6.4.5.1.2 項参照]．

ヒト CYP 発現酵素を用いた検討により，4 位水酸化反応には CYP2D6 が関与することが確認された [10]．また，脱アミノ反応については，ウサギ肝ミクロソーム及びウサギ精製 CYP 酵素並びに各種 CYP 阻害剤を用いた検討から CYP2C3 が主に関与することが確認され [11]，ヒトにおいても脱アミノ反応には CYP2C 系酵素の関与の可能性が考えられている [10]．

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回経口及び静脈内投与後の尿糞胆汁中排泄

評価資料 4.2.2.5-01
参考資料 4.2.2.2-01
概要表 2.6.5.13.1，2.6.5.14.1

絶食下の無処置又は頸静脈及び胆管カニュレーションを施した雄性及び雌性 Sprague-Dawley 系ラット (雌雄各 n=3) に，^{14}C 標識した本薬の水溶液を 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの尿，糞及び胆汁中放射能排泄について検討した [評価資料 4.2.2.5-01]．また，絶食下の頸静脈及び胆管カニュレーションを施した雄性及び雌性 Sprague-Dawley 系ラット (雌雄各 n=3) に，^{14}C 標識した本薬の水溶液を 3 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの胆汁中放射能排泄について検討した [参考資料 4.2.2.2-01].

表 2.6.4.6-1 に示すように，無処置ラットに単回経口投与した場合，雄で投与した放射能の 90.0%，雌で 95.4%が投与後 168 時間までに回収され，放射能の大半が投与後 48 時間以内に回収された．累積尿中排泄率は雄で 77.3%，雌で 86.9%であり，累積糞中排泄率は雄で 10.9%，雌で 3.96%であった．表 2.6.4.6-2 に示すように，頸静脈及び胆管カニュレーションを施したラットに単回経口投与した場合，投与後 48 時間までの累積胆汁中排泄率は，雄で 18.3%，雌で 7.24%であった．これらの結果から，^{14}C 標識した本薬の経口投与後に吸収された放射能は，主として尿に排泄され，その排泄は速やかであることが示された．また，頸静脈及び胆管カニュレーションを施したラットの胆汁中排泄率は無処置ラットの糞中排泄率と同等もしくはそれ以上の値を示していたため，糞中に排泄された放射能は胆汁を経由したものと考えられる．さらに，ラットにおける本薬 10 mg/kg の経口投与時の吸収は良好 (雄で 77.3%以上，雌で 86.9%以上) であると考えられる．

一方，頸静脈及び胆管カニュレーションを施したラットに単回静脈内投与した場合，投与後 48 時間までの累積胆汁中排泄率は，雄で 14.1%，雌で 11.6%であり，胆汁中放射能排泄の大部分は投与後 8 時間以内に認められた．

表 2.6.4.6-1　無処置ラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回経口投与後 168 時間までの累積尿及び糞中放射能排泄率

性	放射能排泄 (投与量に対する%)		
	尿	糞	総排泄率 [a]
雄	77.3 [b]	10.9 ± 2.7	90.0 [b]
雌	86.9 ± 5.0	3.96 ± 0.84	95.4 ± 3.0

投与量：10 mg/kg．平均値 ± 標準偏差 (n = 3).
a; ケージ洗浄及びケージワイプを含む．b; 平均値 (n=2)

表 2.6.4.6-2　頸静脈及び胆管カニュレーションを施したラットにおける ^{14}C 標識した本薬単回経口及び静脈内投与後 48 時間までの累積胆汁中放射能排泄率

投与経路 (投与量)	性	胆汁中放射能排泄 (投与量に対する%)
経口投与 (10 mg/kg)	雄	18.3 ± 4.9
	雌	7.24 ± 0.93
静脈内投与 (3 mg/kg)	雄	14.1 ± 9.4
	雌	11.6 ± 3.6

平均値 ± 標準偏差 (n = 3).

2.6.4.6.2 ウサギにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与及びイヌにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回腹腔内投与後の尿糞中排泄

非絶食下の雌性 New Zealand White ウサギ (n=3) に ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩の水溶液を 10 mg/kg の用量で単回経口投与又は非絶食下の雌性 greyhound イヌ (n=3) に ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩の生理食塩水溶液を 5 mg/kg の用量で単回腹腔内投与したときの尿及び糞中放射能排泄について検討した [8].

表 2.6.4.6-3 に示すように，ウサギ及びイヌにおける投与後 24 時間までの尿中放射能排泄率は，それぞれ投与量の 72%及び 75%であり，投与後 72 時間までの累積尿中放射能排泄率は，それぞれ 86%及び 78%であった．一方，ウサギ及びイヌにおける投与後 72 時間までの累積糞中放射能排泄率は，それぞれ投与量の 7.2%及び 0%であった．以上の結果より，ウサギに ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩を経口投与又はイヌにおいて ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩を腹腔内投与後に吸収された放射能は，主として尿に排泄されることが示された．

表 2.6.4.6-3　ウサギにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回経口投与又はイヌにおける ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩単回腹腔内投与後 24 時間までの尿中放射能排泄率並びに投与後 72 時間までの累積尿及び糞中放射能排泄率

動物種 (投与量)	放射能排泄 (投与量に対する%)		
	0～24 時間尿	0～72 時間尿	0～72 時間糞
ウサギ (10 mg/kg)	72	86	7.2
イヌ (5 mg/kg)	75	78	0

平均値 (n = 3).

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 ヒト肝薬物代謝酵素に対する阻害作用

2.6.4.7.1.1 リスデキサンフェタミンの CYP 阻害作用

評価資料 5.3.2.2-05，5.3.2.2-06
概要表 2.6.5.12.1，2.6.5.12.2

リスデキサンフェタミンの CYP 分子種に対する阻害能を検討するために，ヒト肝ミクロソームを用いて，ヒト肝 CYP 分子種 [CYP1A2，2A6，2B6，2C8，2C9，2C19，2D6 及び 3A4 (2 種の基質：テストステロン及びミダゾラム)] の酵素活性に対する本薬の濃度依存的 (濃度：CYP2C8 のみ 0.05～50 μmol/L，その他の分子種は 0.01～100 μmol/L) 及び時間依存的 (濃度：CYP2C8 のみ 0.05～50 μmol/L，その他の分子種は 1 μmol/L) な阻害作用を評価した [CYP2C8：評価資料 5.3.2.2-06，その他の分子種：評価資料 5.3.2.2-05]．なお，時間依存的な阻害は，NADPH 存在下で本薬とヒト肝ミクロソームのプレインキュベーション (CYP2C8 のみ 30 分，その他の分子種は 15 分) 後，各 CYP 分子種の酵素活性を測定することで評価した．

その結果，濃度依存的な阻害では，評価した全ての CYP 分子種に対するリスデキサンフェタミンの 50%阻害濃度 (IC_{50}) は，評価した最高濃度 (CYP2C8 のみ 50 μmol/L，その他の分子種は 100 μmol/L) を超えると判断した．また，時間依存的な阻害では，プレインキュベーションによる顕著な阻害率の増加がみられないため，リスデキサンフェタミンによる不可逆的な阻害はないと判断した．

2.6.4.7.1.2 *d*-アンフェタミンの CYP 阻害作用

評価資料 5.3.2.2-06，5.3.2.2-07
概要表 2.6.5.12.2，2.6.5.12.3

d-アンフェタミンの CYP 分子種に対する阻害能を検討するために，ヒト肝ミクロソームを用いて，ヒト肝 CYP 分子種 [CYP1A2，2C8，2C9，2C19，2D6 及び 3A4 (2 種の基質：テストステロン及びミダゾラム)] の酵素活性に対する *d*-アンフェタミン硫酸塩の濃度依存的 (濃度：CYP2C8 のみ 0.05～50 μmol/L，その他の分子種は 0.2～20 μmol/L) 及び時間依存的 (濃度：CYP2C8 のみ 0.05～50 μmol/L，その他の分子種は 20 μmol/L) な阻害作用を評価した [CYP2C8：評価資料 5.3.2.2-06，その他の分子種：評価資料 5.3.2.2-07]．なお，時間依存的な阻害は，NADPH 存在下で *d*-アンフェタミン硫酸塩とヒト肝ミクロソームのプレインキュベーション (CYP2C8 のみ 30 分，その他の分子種は 15 分) 後，各 CYP 分子種の酵素活性を測定することで評価した．

その結果，濃度依存的な阻害では，評価した全ての CYP 分子種に対する *d*-アンフェタミンの IC_{50} は評価した最高濃度 (CYP2C8 のみ 50 μmol/L，その他の分子種は 20 μmol/L) を超えると判断した．また，時間依存的な阻害では，プレインキュベーションによる顕著な阻害率の増加がみられないため，*d*-アンフェタミンによる不可逆的な阻害はないと判断した．

また，CYP2B6 に対するアンフェタミン (*dl* 比及び塩は記載なし) の阻害作用を，リコンビナントヒト CYP2B6 を用いて検討した結果，30 μmol/L における阻害率は 22%と文献報告されており [12]，IC_{50} は 30 μmol/L を超えると判断した．

2.6.4.7.2 ヒト CYP 酵素に対する誘導作用

2.6.4.7.2.1 リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの CYP 誘導作用

評価資料 5.3.2.2-08
概要表 2.6.5.12.4，2.6.5.12.5

リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの CYP 誘導能を検討するために，本薬 (濃度：1～100 μmol/L) 又は *d*-アンフェタミン硫酸塩 (濃度：1～100 μmol/L) をヒト初代培養肝細胞 (3 ドナー) に対して 72 時間曝露した後，CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 の酵素活性変動の程度を評価した．

その結果，リスデキサンフェタミンは，CYP2B6 及び CYP3A4 に対しては誘導作用を示さなかったが, CYP1A2 に対しては評価した最高濃度 (100 μmol/L) で活性が上昇 (1.57～2.47 倍) した. しかしながら, リスデキサンフェタミンによる CYP1A2 活性上昇は, 陽性対照 (Omeprazole, 50 又は 100 μmol/L) による活性上昇の 2%未満に過ぎなかった．また，*d*-アンフェタミンは，評価したいずれの分子種に対しても誘導作用を示さなかった．

2.6.4.7.3 P-gp を介した相互作用 (基質及び阻害評価)

2.6.4.7.3.1 リスデキサンフェタミンの P-gp を介した相互作用 (基質及び阻害評価)

評価資料 5.3.2.2-09
概要表 2.6.5.15.1，2.6.5.15.2

リスデキサンフェタミンが P-gp の基質であるか否かを検討するために，P-gp 発現 MDCKII 細胞を用いて，本薬 (濃度：1，10 及び 100 μmol/L) の膜透過性を評価した．その結果，コントロール細胞 (MDCKII 細胞) の efflux ratio [刷子縁膜側 (管腔側) から基底側 (血管側) への P_{app} に対する基底側から刷子縁膜側の P_{app} の比] に対する P-gp 発現細胞のリスデキサンフェタミンの efflux ratio の比 (net efflux ratio) が 0.641～1.41 であったことから，本邦の薬物相互作用ガイドライン (最終案) [13] の判断基準 (net efflux ratio > 2) に従って，リスデキサンフェタミンは P-gp の基質ではないと判定した．

また，リスデキサンフェタミンの P-gp を介した輸送に対する阻害作用を検討するために，Caco-2 細胞を用いて，P-gp の典型的基質であるジゴキシン (濃度：10 μmol/L) の輸送に及ぼす本薬 (濃度：1，3，30，100 及び 300 μmol/L) の影響を評価した．その結果，ジゴキシンの Caco-2 細胞の efflux ratio は，本薬の存在下において，10.5～15.8 と濃度依存的に減少せず，コントロール (リスデキサンフェタミン非存在下，efflux ratio：16.5) に比べても顕著な低下は認められなかった．一方，典型的な P-gp 阻害剤であるバルスポダール (濃度：10 μmol/L) 存在下においては，ジゴキシンの輸送はほぼ完全に阻害され，efflux ratio は 1.35 であった．したがって，リスデキサンフェタミンは，P-gp の阻害剤ではないと判定した．

2.6.4.7.3.2 *d*-アンフェタミンの P-gp を介した相互作用 (基質及び阻害評価)

評価資料 5.3.2.2-09
概要表 2.6.5.15.3，2.6.5.15.4

d-アンフェタミンが P-gp の基質であるか否かを検討するために, P-gp 発現 MDCKII 細胞を用いて，*d*-アンフェタミン硫酸塩 (濃度：1，10 及び 100 μmol/L) の膜透過性を評価した．その結

果，net efflux ratio が 0.862～1.28 であったことから，*d*-アンフェタミンは P-gp の基質ではないと判定した.

また，*d*-アンフェタミンの P-gp を介した輸送に対する阻害作用を検討するために，Caco-2 細胞を用いて，ジゴキシン (濃度 : 10 μmol/L) の輸送に及ぼす *d*-アンフェタミン硫酸塩 (濃度 : 1，3，30，100 及び 300 μmol/L) の影響を評価した．その結果，ジゴキシンの efflux ratio は，*d*-アンフェタミン硫酸塩の存在下において，10.5～13.5 と濃度依存的な減少は認められず，コントロール (*d*-アンフェタミン非存在下，efflux ratio : 11.6) と同等であった．一方，バルスポダール (濃度 : 10 μmol/L) 存在下においては，ジゴキシンの輸送は完全に阻害され，efflux ratio は 0.826 であった．したがって，*d*-アンフェタミンは P-gp の阻害剤ではないと判定した.

2.6.4.7.4 その他のヒトトランスポーターを介した相互作用 (基質及び阻害評価)

2.6.4.7.4.1 リスデキサンフェタミンのヒトトランスポーターを介した輸送に対する阻害作用

参考資料 5.3.2.2-13，5.3.2.2-14
概要表 2.6.5.15.5

リスデキサンフェタミンのヒトトランスポーター (OATP1B1，OATP1B3，OATP2B1，OCT1，OCT2, OAT1, OAT3 及び NTCP) を介した輸送に対する阻害作用を検討するために, OATP1B1，OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3 又は NTCP 発現 CHO 細胞あるいは OATP2B1 発現 MDCKII 細胞を用いて, 各トランスポーターの典型的基質の輸送に及ぼす本薬 (濃度 : 10 及び 100 μmol/L) の影響を評価した [参考資料 5.3.2.2-13]．その結果，評価した最高濃度において，OATP1B1 では阻害効果が認められず，その他のトランスポーターにおいても 50%以上の阻害作用は認められなかった．したがって，評価した全てのトランスポーターに対するリスデキサンフェタミンの IC_{50} は評価した最高濃度 (100 μmol/L) を超えると判断した.

リスデキサンフェタミンの PEPT1 及び PEPT2 を介した輸送に対する阻害作用を検討するために，ヒト PEPT1 及び PEPT2 発現 CHO 細胞を用いて，PEPT1 及び PEPT2 の典型的基質であるグリシルザルコシン (濃度 : 2 μmol/L) の輸送に及ぼす本薬 (濃度 : 10，30，100，300，1000，3000 及び 10000 μmol/L) の影響を評価した [参考資料 5.3.2.2-14]．その結果，リスデキサンフェタミンの PEPT1 及び PEPT2 を介した輸送に対する IC_{50} は，それぞれ 4134 及び 246 μmol/L と算出された.

2.6.4.7.4.2 *d*-アンフェタミンの OCT2，OAT1，OAT3，MATE1 及び MATE2-K 基質評価

d-アンフェタミンがヒトトランスポーターの基質であるか否かを検討した文献を検索し，得られた情報を以下に示す.

HEK293 細胞 (対照細胞) 及び OCT2，OAT1，OAT3，multidrug and toxin extrusion (MATE) 1 又は MATE2-K 発現 HEK293 細胞における *d*-アンフェタミン (濃度 : OCT2，MATE1 及び MATE2-K に対しては 1 μmol/L，OAT1 及び OAT3 に対しては記載なし，塩はいずれも記載なし) の細胞内取り込み量を評価した [18]．その結果，*d*-アンフェタミンの OCT2，MATE1 又は MATE2-K 発現細胞における取り込み量は, 対照細胞における取り込み量より有意に高かったが, OAT1 又は OAT3 発現細胞における取り込み量は, 対象細胞における取り込み量と差が認められ

なかった．したがって，*d*-アンフェタミンは，OCT2，MATE1 及び MATE2-K の基質であるが，OAT1 及び OAT3 の基質ではないと判定した．

2.6.4.7.4.3 *d*-アンフェタミンの BCRP，OCT2，OAT1，OAT3，MATE1 及び MATE2-K を介した輸送に対する阻害作用

d-アンフェタミンのヒトトランスポーターを介した輸送に対する阻害作用を検討した文献を検索し，得られた情報を以下に示す．

BCRP 発現 HEK293 細胞を用いて，BCRP の典型的基質の輸送に及ぼす *d*-アンフェタミン硫酸塩 (濃度：100 µmol/L) の影響を評価した [14]．その結果，*d*-アンフェタミンの阻害効果は認められず，IC_{50} は 100 µmol/L を超えると判断した．また，OCT2 発現 HEK293 細胞を用いて，OCT2 の典型的基質の輸送に及ぼす *d*-アンフェタミン (濃度：0.1～1000 µmol/L，塩は記載なし) の影響を評価した [15]．その結果，OCT2 による輸送に対する阻害定数 (K_i) は 10.5 µmol/L であった．さらに，OAT1，OAT3，MATE1 あるいは MATE2-K 発現 HEK293 細胞を用いて，これらのトランスポーターの典型的基質の輸送に及ぼす *d*-アンフェタミン (濃度：OAT1 及び OAT3 に対しては 1 mmol/L，MATE1 及び MATE2-K に対しては記載なし，塩はいずれも記載なし) の影響を評価した [18]．その結果，OAT1 及び OAT3 の典型的基質の輸送に及ぼす *d*-アンフェタミンの阻害効果は認められず，IC_{50} は 1 mmol/L を超えると判断した．一方，MATE1 及び MATE2-K による輸送に対する IC_{50} は，それぞれ 94.0 及び 158 µmol/L であった．

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

該当する試験なし．

2.6.4.9 考察及び結論

2.6.4.9.1 体内動態

リスデキサンフェタミンは，活性体である *d*-アンフェタミンと L-リジンがアミド結合したプロドラッグである．

ラット及びイヌにおいて，本薬を単回経口投与した後のリスデキサンフェタミンの T_{max} 及び $t_{1/2}$ は，それぞれ 0.25～1.5 時間 (毒性試験用量を除く) 及び約 1 時間であり，リスデキサンフェタミンは，速やかに経口吸収され，血漿中からの消失も速やかであった．また，本薬を単回経口投与した後の *d*-アンフェタミンの T_{max} 及び $t_{1/2}$ は，それぞれ 1～3 時間 (毒性試験用量を除く) 及び 2～4 時間であった．

ラットに ^{14}C 標識した本薬を単回経口投与したときの投与後 168 時間までの累積尿中放射能排泄率は投与量の 77.3%～86.9%であり，ラットにおいては尿中への排泄が主たる排泄経路であった．また，経口吸収率は 77.3%以上と推定され，本薬の経口吸収性は良好であることが示された．さらに，ウサギに ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩を単回経口投与及びイヌに ^{14}C 標識した *dl*-アンフェタミン硫酸塩を腹腔内投与したときの投与後 72 時間までの累積尿中放射能排泄率は，それぞれ投与量の 86%及び 78%であり，ウサギ及びイヌにおいても尿中への排泄が主たる排泄経路であることが示された．

Caco-2 細胞を用いた *in vitro* 試験及びラットにおける *in situ* 消化管透過性試験の結果並びにラットにおける PEPT1 の発現部位に関する文献 [4] から，本薬の経口吸収には PEPT1 が関与することが示唆された．また，ヒト赤血球画分を用いた *in vitro* 試験の結果から，吸収されたリスデキサンフェタミンは，主に赤血球の可溶性画分に存在するアミノペプチダーゼによって *d*-アンフェタミンに加水分解されることが示唆された．本薬は，経口投与後に消化管から吸収され，その後，加水分解を経て *d*-アンフェタミンを生成するため，*d*-アンフェタミンそのものを経口又は静脈内投与したときに比べて血漿中 *d*-アンフェタミン濃度の上昇が緩徐になると考える．そこで，ラットに本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩を *d*-アンフェタミン換算で等量の投与量で単回経口又は静脈内投与し，血漿中 *d*-アンフェタミンの曝露を比較した．ラット衝動性試験における薬効用量付近の投与量を経口投与した場合，本薬投与時の *d*-アンフェタミンの T_{max} は *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時に比べて遅延し，C_{max} は *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時の約 1/2 であった．したがって，ヒトにおいても，本薬を申請した用法用量に従って使用した場合，*d*-アンフェタミン硫酸塩投与時に比べて血漿中 *d*-アンフェタミン濃度の上昇が緩徐になると考えられる．また，ラットに薬効用量以上の投与量を経口投与した場合，本薬投与時の *d*-アンフェタミンの C_{max} 及び AUC は，*d*-アンフェタミン硫酸塩投与時のそれぞれ約 1/4～1/6 及び約 1/2～1/4 であり，静脈内投与した場合，本薬投与時の *d*-アンフェタミンの C_{max} 及び AUC は，*d*-アンフェタミン硫酸塩投与時のそれぞれ約 1/4 及び約 1/2 であった．したがって，ヒトにおいて本薬を経口で過量に摂取した場合，あるいは静脈内投与した場合でも，*d*-アンフェタミン硫酸塩投与時に比べて血漿中 *d*-アンフェタミン濃度の上昇が緩徐になると推察される．

ラットに本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩を *d*-アンフェタミン換算で等量かつ薬効用量付近の投与量で単回経口投与して，投与後 1，2 及び 6 時間での脳への移行性を検討した試験において，本薬投与後のリスデキサンフェタミンは脳へ移行しなかったが，*d*-アンフェタミンは薬効

標的部位である脳へ移行した．本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩を単回経口投与した後の脳/血清濃度比は 2 倍程度の範囲内 (4.5～9.6) にあり，投与後の時間経過による差がないことから示されるように，本薬又は *d*-アンフェタミン硫酸塩投与後の脳及び血清中 *d*-アンフェタミン濃度はパラレルに推移した. 薬効用量付近の投与量を経口投与した場合, 本薬投与時の *d*-アンフェタミンの T_{max} は *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時に比べて遅延し，C_{max} は *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時の約 1/2 であることが示されている．また，脳/血清濃度比は本薬及び *d*-アンフェタミン硫酸塩投与時で同程度であった．これらのことより，本薬投与時の脳中 *d*-アンフェタミン濃度の上昇は，血漿中 *d*-アンフェタミン濃度と同様に，アンフェタミン硫酸塩投与時に比べて緩徐になると考えられる．

2.6.4.9.2 代謝

ラット *in vivo* 代謝試験において，^{14}C 標識した本薬を単回経口投与した後の主要な血漿中代謝物として, 4-ヒドロキシアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定) 及び *d*-アンフェタミンが検出され (これら代謝物の AUC 比の和 : 85%以上), リスデキサンフェタミンの AUC 比は 2%未満であった．ラットの主たる排泄経路である尿においても，4-ヒドロキシアンフェタミンのグルクロン酸抱合体 (推定) 及び *d*-アンフェタミンが主要な代謝物として検出された (それぞれ投与量の 29.8%及び 13.6%)．また，リスデキサンフェタミン及び加水分解を受けなかった代謝物である 4-ヒドロキシリスデキサンフェタミン (推定) の尿中排泄率は，それぞれ投与量の 4.8%及び 0.7%であったことから，本薬経口投与後に吸収されたリスデキサンフェタミンの大部分は加水分解されることが示唆された．

外国人健康成人に ^{14}C 標識した本薬 (投与量 : 70 mg) を空腹時単回経口投与したときの投与後 48 時間までの尿中には，*d*-アンフェタミン及び馬尿酸 (*d*-アンフェタミンの脱アミノ反応及びそれに続く更なる代謝によって生成する代謝物) が検出された (それぞれ投与量の 41.5%及び 24.8%) [2.7.2.2.2.2 項参照]．これらの結果から，リスデキサンフェタミンの加水分解により生成した *d*-アンフェタミンは酸化的代謝を受け，ラットにおいては 4 位水酸化反応が，ヒトにおいては脱アミノ反応が，それぞれ主であり，*d*-アンフェタミンの代謝には種差があることが明らかとなった．なお，イヌ及びウサギにおいては，*d*-アンフェタミンの代謝はヒト同様，脱アミノ反応が主であることが論文報告されている [7,8].

2.6.4.9.3 薬物相互作用

リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンの薬物相互作用の可能性を検討した．なお，日本人小児におけるリスデキサンフェタミンの薬物動態パラメータについては，経時的な血漿中リスデキサンフェタミン濃度データがないため，算出できない．しかしながら，血漿中リスデキサンフェタミン濃度推移に民族差及び反復投与による蓄積はないことが確認されている [それぞれ 2.7.2.3.4.6 及び 2.7.2.2.2.1 項参照]．そこで，薬物相互作用の可能性を検討するための臨床治療域の血漿中リスデキサンフェタミン濃度として, 外国人児童 ADHD 患者 (6～12 歳) における最大投与量 (70 mg/日) 単回投与時の C_{max} の最大値である 175 ng/mL [2.7.6.3.1.2 項参照] を用いた．また，臨床治療域の血漿中 *d*-アンフェタミン濃度として，日本人小児 ADHD 患者 (6

～17 歳) における最大投与量 (70 mg/日) 投与時の推定された C_{max} の最大値である 250 ng/mL [2.7.2.3.3.1 項参照] を用いた.

リスデキサンフェタミン及び*d*-アンフェタミンのCYPを介した薬物相互作用の可能性を検討した.

ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において，リスデキサンフェタミンは，臨床治療域の血漿中濃度 [175 ng/mL (0.664 µmol/L)] より顕著に高い濃度 (50 又は 100 µmol/L) でも，CYP1A2，CYP2A6，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A4 活性をいずれも阻害しなかった．また，*d*-アンフェタミンも，臨床治療域の血漿中濃度 [250 ng/mL (1.85 µmol/L)] より顕著に高い濃度 (20, 30 又は 50 µmol/L) でも, CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A4 活性を阻害しなかった.

ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験において, リスデキサンフェタミンは, CYP2B6 及び CYP3A4 に対して誘導作用を示さず，CYP1A2 に対しては評価した最高濃度 (100 µmol/L) でわずかに活性が上昇 (1.57～2.47 倍) したが, 臨床治療域の血漿中濃度 (0.664 µmol/L) 付近で誘導作用は認められなかった. また, *d*-アンフェタミンは, 評価した最高濃度 (100 µmol/L) において, CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4 のいずれの分子種に対しても誘導作用を示さなかった.

これらの結果より，臨床における最大投与量 (70 mg/日) の本薬をこれらの CYP 分子種により代謝される医薬品と併用した場合に，併用薬の体内動態に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる.

リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンのトランスポーターを介した薬物相互作用の可能性を検討した.

P-gp 発現細胞を用いた *in vitro* 試験で評価した結果, リスデキサンフェタミン及び *d*-アンフェタミンは P-gp の基質でないことが示された．したがって，臨床において本薬を P-gp の阻害薬又は誘導薬と併用した場合にも，リスデキサンフェタミンの経口吸収性及び *d*-アンフェタミンの中枢移行性が変動する可能性は低いと考えられる．近位尿細管に発現するトランスポーター (OCT2，OAT1，OAT3，MATE1 及び MATE2-K) に対し，発現細胞を用いた *in vitro* 試験で評価した結果，*d*-アンフェタミンは，OAT1 及び OAT3 の基質ではないものの，OCT2，MATE1 及び MATE2-K の基質であることが示された．ただし，*d*-アンフェタミンの腎クリアランス (158 mL/min [CTD 2.7.2.2.2.1 項参照]) に占める糸球体濾過 (75.4 mL/min，ヒト正常糸球体濾過速度の下限値 90 mL/min [19] 及び *d*-アンフェタミンのタンパク結合率 16.2% [5] から算出) の割合は大きく，*d*-アンフェタミンの排泄に対する尿細管分泌の寄与は限定的であると考えられることから，臨床において本薬を OCT2，MATE1 又は MATE2-K の阻害剤と併用した場合にも，*d*-アンフェタミンの曝露が大きな影響を受ける可能性は低いと推察している．Caco-2 細胞又はトランスポーター発現細胞を用いた *in vitro* 試験において，リスデキサンフェタミンの P-gp を介した輸送に対する阻害は 300 µmol/L まで確認されず，OATP1B1，OATP1B3，OATP2B1，OCT1，OCT2，OAT1，OAT3 及び NTCP を介した輸送に対しては評価した最高濃度 (100 µmol/L) においても 50%以上の阻害は認められなかった．リスデキサンフェタミンの PEPT1 及び PEPT2 を

介した輸送に対する IC_{50} は，それぞれ 4134 及び 246 µmol/L と算出された．一方，*d*-アンフェタミンの P-gp を介した輸送に対する阻害は 300 µmol/L まで確認されず，BCRP では 100 µmol/L，OAT1 及び OAT3 では 1 mmol/L で阻害は認められなかった．*d*-アンフェタミンの OCT2 を介した輸送に対する K_i は 10.5 µmol/L，MATE1 及び MATE2-K を介した輸送に対する IC_{50} は，それぞれ 94.0 及び 158 µmol/L であった．そこで，リスデキサンフェタミンの PEPT1 及び PEPT2 を介した輸送に対する阻害並びに *d*-アンフェタミンの OCT2，MATE1 及び MATE2-K を介した輸送に対する阻害について，本邦の薬物相互作用ガイドライン (最終案) [13] を基に，本薬の臨床最大投与量 70 mg，リスデキサンフェタミンの C_{max} の最大値 (0.664 µmol/L) 及び *d*-アンフェタミンの推定された C_{max} の最大値 (1.85 µmol/L) から計算した阻害剤判定基準値と IC_{50} (K_i) を比較し，薬物相互作用のリスクを見積った (表 2.6.4.9-1). その結果，いずれのケースにおいても，IC_{50} (K_i) が阻害剤判定基準値より大きいことから，臨床における最大投与量 (70 mg/日) の本薬を今回評価したいずれのトランスポーターの基質となる医薬品と併用した場合にも，併用薬の体内動態に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる．

表 2.6.4.9-1　リスデキサンフェタミンの PEPT1 及び PEPT2 を介した輸送に対する阻害並びに *d*-アンフェタミンの OCT2，MATE1 及び MATE2-K を介した輸送に対する阻害による薬物相互作用リスクの見積もり

化合物	トランスポーター	IC_{50} 又は K_i (µmol/L)	阻害剤判定基準値	薬物相互作用の可能性
リスデキサンフェタミン	PEPT1 [a]	4134	最大消化管内濃度 × 0.1 = 61.5 µmol/L	低い
	PEPT2 [b]	246	4 × fu × C_{max} = 2.66 µmol/L	低い
d-アンフェタミン	OCT2	10.5	4 × fu × C_{max} = 6.20 µmol/L	低い
	MATE1	94.0	4 × fu × C_{max} = 6.20 µmol/L	低い
	MATE2-K	158	4 × fu × C_{max} = 6.20 µmol/L	低い

IC_{50} (K_i) が阻害剤判定基準値以上の場合，各トランスポーターを介した輸送に対する阻害による薬物相互作用の可能性は低いと判断した．
最大消化管内濃度：投与量/250 mL．リスデキサンフェタミン分子量：263.39．*d*-アンフェタミン分子量：135.21．臨床最大投与量：70 mg/man．リスデキサンフェタミンの fu (血漿中非結合率)：1 (ヒト *in vitro* タンパク結合率は不明であるので，最大リスク見積もりの観点から仮定)．*d*-アンフェタミンの fu：0.838.
a：本邦の薬物相互作用ガイドライン (最終案) では定義されていないものの，消化管に発現し吸収に関わるトランスポーターであるため，他の吸収に関わるトランスポーターに準じて判断した．
b：本邦の薬物相互作用ガイドライン (最終案) では定義されていないものの，腎臓に発現するトランスポーターであるため，他の腎トランスポーターに準じて判断した．

2.6.4.10 図表

図表は，本文中の適切な場所に記載した．

2.6.4.11 参考文献

1. Heal DJ, Cheetham SC, Smith SL. The neuropharmacology of ADHD in vivo: insights on efficacy and safety. Neuropharmacology 2009; 57: 609-18.
2. Heal DJ, Smith SL, Findling RL. ADHD: Current and Future Therapeutics. Curr Top Behav Neurosci 2012; 9 (A018): 361-90.
3. Rubio-Aliaga I, Daniel H. Peptide transporters and their roles in physiological processes and drug disposition. Xenobiotica 2008; 38 (7-8): 1022-42.
4. Cao X, Gibbs ST, Fang L, et al. Why is it challenging to predict intestinal drug absorption and oral bioavailability in human using rat model. Pharm Res 2006; 23 (8): 1675-86
5. Baggot JD, Davis LE, Neff CA. Extent of plasma protein binding of amphetamine in different species. Biochem Pharmacol 1972; 21 (13): 1813-6.
6. Dell'Osso L, Guarneri M, Giovannini L, Placidi GF. Autoradiographic distribution study of ^{14}C-amphetamine in pregnant mice and newborns. J Nucl Med Allied Sci 1984; 28 (3): 157-62.
7. Green CE, LeValley SE, Tyson CA. Comparison of amphetamine metabolism using isolated hepatocytes from five species including human. J Pharmacol Exp Ther 1986; 237 (3): 931-6.
8. Dring LG, Smith RL, Williams RT. The metabolic fate of amphetamine in man and other species. Biochem J 1970; 116 (3): 425-35.
9. Rhoads ML, Fetterer RH, Urban JF. Secretion of an aminopeptidase during transition of the third- to fourth- stage larvae of Ascaris sum. J Parasitol 1997; 83 (5): 780-4.
10. Golub M, Costa L, Crofton K, et al. NTP-CERHR Expert Panel Report on the reproductive and developmental toxicity of amphetamine and methamphetamine. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol 2005; 74 (6): 471-584.
11. Shiiyama S, Soejima-Ohkuma T, Honda S, et al. Major role of the CYP2C isozymes in deamination of amphetamine and benzphetamine: evidence for the quinidine-specific inhibition of the reactions catalysed by rabbit enzyme. Xenobiotica 1997; 27 (4): 379-87.
12. Walsky RL, Astuccio AV, Obach RS. Evaluation of 227 drugs for in vitro inhibition of cytochrome P450 2B6. J Clin Pharmacol 2006; 46 (12): 1426-38.
13. 厚生労働省医薬食品局審査管理課．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)．平成 26 年 7 月 8 日．
14. Tournier N, Chevillard L, Megarbane B, Pirnay S, Scherrmann JM, Declèves X. Interaction of drugs of abuse and maintenance treatments with human P-glycoprotein (ABCB1) and breast cancer resistance protein (ABCG2). Int J Neuropsychopharmacol 2010; 13 (7): 905-15.
15. Amphoux A, Vialou V, Drescher E, et al. Differential pharmacological in vitro properties of organic cation transporters and regional distribution in rat brain. Neuropharmacology 2006; 50 (8): 941-52.
16. Glantz SA, Kernoff R, Goldman RH. Age-related changes in ouabain pharmacology. Ouabain exhibits a different volume of distribution in adult and young dogs. Circ Res 1976; 39 (3): 407-14.
17. Davies B, Morris T. Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans. Pharm Res 1993;10 (7): 1093-5.

18. Wagner DJ, Sager JE, Duan H, Isoherranen N, Wang J. Interaction and Transport of Methamphetamine and its Primary Metabolites by Organic Cation and Multidrug and Toxin Extrusion Transporters. Drug Metab Dispos 2017; 45: 770-8.
19. 東京医学社. 日本腎臓学会編 CKD 診療ガイド 2012.

ビバンセカプセル 20mg, 同 30mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 4
2.6.5 薬物動態試験概要表 6
2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表 6
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 10
2.6.5.2.1 Lot number, Specific Radioactivity, Radiochemical Purity, and Source for Provision of [^{14}C]-LDX dimesylate 10
2.6.5.2.2 Determination of LDX and *d*-Amphetamine in Rat Plasma by LC/M/MS 10
2.6.5.2.3 Determination of LDX and *d*-Amphetamine in Dog Plasma by LC/M/MS 11
2.6.5.3 薬物動態試験： 吸収：単回投与 12
2.6.5.3.1 Plasma Concentrations of Radioactivity, LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats 12
2.6.5.3.2 Plasma Concentrations of Radioactivity, LDX and *d*-Amphetamine after a Single Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats 13
2.6.5.3.3 Plasma Concentrations of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral or Intravenous Administration of LDX dimesylate in Rats 14
2.6.5.3.4 Plasma Concentration of *d*-Amphetamine after a Single Oral or Intravenous Administration of *d*-Amphetamine sulfate in Rats 15
2.6.5.3.5 *In Situ* Intestinal Permeability of LDX dimesylate in Rats 16
2.6.5.3.6 Systemic and Portal Plasma Concentrations of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral Administration of LDX dimesylate in Rats 17
2.6.5.3.7 Plasma Concentrations of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral or Intravenous Administration of LDX dimesylate in Dog 18
2.6.5.4 薬物動態試験： 吸収：反復投与 18
2.6.5.5 薬物動態試験： 分布 19
2.6.5.5.1 Brain Uptake of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral Administration of LDX dimesylate or *d*-Amphetamine sulfate in Rats 19
2.6.5.6 薬物動態試験： たん白結合 20
2.6.5.7 薬物動態試験： 妊娠又は授乳動物における試験 20
2.6.5.8 薬物動態試験： その他の分布試験 20
2.6.5.9 薬物動態試験： 代謝：*In Vivo* 21
2.6.5.9.1 Plasma Metabolites after a Single Oral or Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats 21
2.6.5.9.2 Urinary, Biliary, and Fecal Metabolites after a Single Oral or Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats 23
2.6.5.10 薬物動態試験： 代謝：*In Vitro* 25
2.6.5.10.1 Stability of LDX in Liver Preparations 25
2.6.5.10.2 Stability of LDX in Plasma, Blood, or Homogenized Tissues 26

2.6.5.10.3 Stability of LDX in Rat Caecum Contents or Human Colonic Contents 27
2.6.5.10.4 Stability of LDX to Hydrolytic Enzymes 28
2.6.5.10.5 Gastrointestinal Stability of LDX 30
2.6.5.10.6 Hydrolysis of LDX in Human Blood Fractions 31
2.6.5.10.7 Hydrolysis of LDX in Human Red Blood Cell Fractions 32
2.6.5.10.8 Hydrolysis of LDX in Blood of Sickle Cell Disease Subjects 33
2.6.5.10.9 Hydrolysis of LDX in Human Red Blood Cell Fractions with/without Enzyme Inhibitors 34
2.6.5.10.10 Effect of Aminopeptidase B on Hydrolysis of LDX 35
2.6.5.11 薬物動態試験： 推定代謝経路 36
2.6.5.12 薬物動態試験： 薬物代謝酵素の誘導／阻害 37
2.6.5.12.1 Inhibitory Effects of LDX on Human CYP Enzymes 37
2.6.5.12.2 Inhibitory Effects of LDX and *d*-Amphetamine on CYP2C8 38
2.6.5.12.3 Inhibitory Effects of *d*-Amphetamine on Human CYP Enzymes 39
2.6.5.12.4 CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 Induction by LDX 40
2.6.5.12.5 CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 Induction by *d*-Amphetamine 41
2.6.5.13 薬物動態試験： 排泄 42
2.6.5.13.1 Urinary and Fecal Excretion after a Single Oral Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats 42
2.6.5.14 薬物動態試験： 排泄：胆汁中 43
2.6.5.14.1 Biliary Excretion after a Single Oral or Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats 43
2.6.5.15 薬物動態試験： 薬物相互作用 44
2.6.5.15.1 Substrate Assessment of LDX for P-gp 44
2.6.5.15.2 Inhibitor Assessment of LDX for P-gp 45
2.6.5.15.3 Substrate Assessment of *d*-Amphetamine for P-gp 46
2.6.5.15.4 Inhibitor Assessment of *d*-Amphetamine for P-gp 47
2.6.5.15.5 Inhibitor Assessments of LDX for Human Transporters 48
2.6.5.16 薬物動態試験： その他 49
2.6.5.16.1 薬物動態試験： *In Vitro* 吸収 49
2.6.5.16.1.1 Substrate Assessment of LDX for PEPT1 using Caco-2 Cells 49
2.6.5.16.1.2 Substrate Assessment of LDX for PEPT1 using PEPT1-overexpressed Caco-2 Cells 50

2.6.5 略号及び用語定義一覧表

Abbreviation	Content
AEBSF	4-(2-aminoethyl)benzene sulfonyl fluoride
Approx.	approximately
$AUC_{0\text{-inf}}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinity
$AUC_{0\text{-last}}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the last time point of measurable concentration
$AUC_{0\text{-8 (24, 48)hr}}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 8 (24, 48) hours post-dose
BA	bioavailability
BLQ	below the lower limit of quantification
BNPP	bis(4-nitrophenyl)-phosphate
CL_{tot}	total clearance
C_{max}	maximum plasma concentration
CV	coefficient of variation
CYP	cytochrome P450
F	female
Gly-sar	glycyl-sarcosine
IC_{50}	50% inhibitory concentration
LC/MS/MS	high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry
LC/MS^n	high-performance liquid chromatography with multistage mass spectrometry
LDX	lisdexamfetamine
LLOQ	lower limit of quantitation
LSC	liquid scintillation counter
M	male
N/A	not applicable
N.C.	not calculated
N.D.	not detected
NTCP	sodium/taurocholate cotransporting polypeptide
OAT	organic anion transporter
OATP	organic anion transporting polypeptide
OCT	organic cation transporter
P_{app}	apparent permeability
PEPT	peptide transporter
P-gp	P-glycoprotein

Abbreviation	Content
PK	pharmacokinetic
QC	quality control
Radio-HPLC	high performance liquid chromatography with radio-detector
S.D.	standard deviation
T_{max}	time to maximum plasma concentration
$t_{1/2}$	elimination half-life
Vd_{ss}	volume of distribution at steady state

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表

Test Article: Lisdexametamine (LDX) dimesylate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Analytical Methods and Validation					
Determination of LDX and *d*-Amphetamine in Rat Plasma by LC/MS/MS	Rat plasma	N/A	[redacted], USA	A01383M-SPD489	4.2.2.1-01
Determination of LDX and *d*-Amphetamine in Dog Plasma by LC/MS/MS	Dog plasma	N/A	[redacted], USA	A01381M-SPD489	4.2.2.1-02
Absorption					
Plasma Concentrations of Radioactivity, LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral or Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate	Rat	Oral, Intravenous	[redacted], USA	R01374M-SPD489	4.2.2.2-01
Plasma Concentrations of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral or Intravenous Administration of LDX dimesylate or *d*-Amphetamine sulfate	Rat	Oral, Intravenous	[redacted], USA	R01378M-SPD489	4.2.2.2-02
In Situ Intestinal Permeability of LDX dimesylate	Rat	Intestinal perfusion	[redacted] USA	R01443M-SPD489	4.2.2.2-03
Systemic and Portal Plasma Concentrations of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral Administration of LDX dimesylate	Rat	Oral	[redacted], USA	R01259M-SPD489	4.2.2.2-04
Plasma Concentrations of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral or Intravenous Administration of LDX dimesylate	Dog	Oral, Intravenous	[redacted], USA	D01377M-SPD489	4.2.2.2-05
Distribution					
Brain Uptake of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral Administration of LDX dimesylate or *d*-Amphetamine sulfate	Rat	Oral	[redacted], USA	R01376M-SPD489	4.2.2.3-01

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Metabolism					
Plasma, Urinary, Biliary, anf Fecal Metabolites after a Single Oral or Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate	Rat	Oral, Intravenous	[redacted], USA	R01375M-SPD489	4.2.2.4-04
Stability of LDX in Liver Preparations	Rat hepatocytes, Human liver microsomes, Human hepatocytes	*In Vitro*	[redacted],USA	V01373M-SPD489	5.3.2.2-10
Stability of LDX in Plasma, Blood, or Homogenized Tissues	Rat: plasma, blood, homogenized tissues (liver, kidney, intestine, pancreas)	*In Vitro*	[redacted], USA	V01258M-SPD489	4.2.2.4-05
	Human: plasma, blood, homogenized tissues (liver, kidney, intestine, pancreas)	*In Vitro*	[redacted], USA	V01257M-SPD489	5.3.2.2-11
Stability of LDX in Caecum Contents or Colon Contents	Rat caecum contents, Human colonic contents	*In Vitro*	[redacted], USA	V02000M-SPD489	5.3.2.2-01
Stability of LDX to Hydrolytic Enzymes	Dipeptidyl peptidase IV, Cathepsin G, Elastase	*In Vitro*	[redacted], USA	V01457M-SPD489	4.2.2.4-01
	Subtilisin A, Subtilisin Type XXIV, Prolidase, Bromelain, Amidase, Chymopapain, Pancreatin, Pepsin, Esterase, Protease X, Alpha chymotrypsin, Papain, Trypsin, Sequence grade modified trypsin, Endopeptidase Lys-C	*In Vitro*	[redacted], USA	[redacted]04-NRP104	4.2.2.4-02
Gastrointestinal Stability of LDX	Simulated gastric fluid, Simulated intestinal fluid, Trypsin	*In Vitro*	[redacted], USA	V01625M-SPD489	4.2.2.4-03
Hydrolysis of LDX in Blood Fractions	Human erythrocytes, leukocytes, platelets	*In Vitro*	[redacted], USA	V01553M-SPD489	5.3.2.2-02
Hydrolysis of LDX in Red Blood Cell Fractions	Human red blood cell fractions	*In Vitro*	[redacted], USA	V01624M-SPD489	5.3.2.2-03
Hydrolysis of LDX in Blood of Sickle Cell Disease Subjects	Human (sickle cell disease and healthy subjects) blood	*In Vitro*	[redacted], USA	V02001M-SPD489	5.3.2.2-04

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Hydrolysis of LDX in Red Blood Cell Fractions with/without Enzyme Inhibitors	Human: Erythrocyte cytosol, Erythrocyte membrane, Enzyme inhibitors	*In Vitro*	[redacted], USA	V4269M-SPD489	5.3.2.2-12
Effect of Aminopeptidase B on Hydrolysis of LDX	Aminopeptidase B	*In Vitro*	[redacted], USA	V5109M-SPD489	4.2.2.4-06
Inhibitory Effects of LDX on Human CYP Enzymes	Human liver microsomes	*In Vitro*	[redacted],USA	V01371M-SPD489	5.3.2.2-05
Inhibitory Effects of LDX and *d*-Amphetamine on CYP2C8	Human liver microsomes	*In Vitro*	[redacted], USA	V4308M-SPD489	5.3.2.2-06
Inhibitory Effects of *d*-Amphetamine on Human CYP Enzymes	Human liver microsomes	*In Vitro*	[redacted], USA	V00635-SLI381-IIIG	5.3.2.2-07
CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 Induction by LDX or *d*-Amphetamine	Human hepatocytes	*In Vitro*	[redacted], USA	V4307M-SPD489	5.3.2.2-08
Excretion					
Urinary and Fecal Excretion after a Single Oral Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate	Rat	Oral	[redacted], USA	R01372M-SPD489	4.2.2.5-01
Biliary Excretion after a Single Oral or Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate	Rat	Oral, Intravenous	[redacted], USA	R01374M-SPD489	4.2.2.2-01
Pharmacokinetic Drug Interactions					
Substrate and Inhibitor Assessments of LDX and d-Amphetamine for P-gp	P-gp expressed MDCKII cells and Caco-2 cells	*In Vitro*	[redacted], USA	V5044M-SPD489	5.3.2.2-09
Inhibitor Assessments of LDX for Human Transporters	OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3 or NTCP, expressed CHO cells, OATP2B1 expressed MDCKII cells	*In Vitro*	[redacted] Hungary	V2654M-SPD489	5.3.2.2-13
	PEPT1 or PEPT2 expressed CHO cells	*In Vitro*	[redacted] Hungary	V01578M-SPD541	5.3.2.2-14

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Other					
Substrate Assessments of LDX for PEPT1	Caco-2 Cells	*In Vitro*	[redacted] USA	V01442M-SPD489	5.3.2.3-01
	PEPT1-overexpressed Caco-2 Cells	*In Vitro*	[redacted] USA	V01623M-SPD489	5.3.2.3-02

Abbreviations: CYP, cytochrome P450; LC/MS/MS, high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry, N/A, not applicable;
NTCP, sodium/taurocholate cotransporting polypeptide; OAT, organic anion transporter; OATP, organic anion transporting polypeptide; OCT, organic cation transporter;
PEPT, peptide transporter; P-gp, P-glycoprotein.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2.1 Lot number, Specific Radioactivity, Radiochemical Purity, and Source for Provision of [^{14}C]-LDX dimesylate

Lot Number	**Specific Radioactivity**	**Radiochemical Purity**	**Source for Provision**
040219	50 mCi/mmol	99.0% (Radio-HPLC)	American Radiolabeled Chemicals, Inc.

Abbreviation: Radio-HPLC, high-performance liquid chromatography with radio-detector.

2.6.5.2.2 Determination of LDX and *d*-Amphetamine in Rat Plasma by LC/M/MS

Test Site	[redacted]					
Matrix	Rat Plasma (Anticoagulant: heparin sodium)					
Study Number Supported	R01378M-SPD489, R01259M-SPD489					
Analyte	LDX			*d*-Amphetamine		
LLOQ (ng/mL)	1.00			1.00		
Calibration Curve Range (ng/mL)	1.00 to 1000			1.00 to 1000		
QC Levels (ng/mL)	1.00	3.00, 50.0, 250, 900		1.00	3.00, 50.0, 250, 900	
Within-run Precision (%CV)	15.4	5.8 to 11.3		3.0	3.0 to 8.1	
Within-run Accuracy (%Bias)	12.8	−13.1 to 0.0		9.2	−0.6 to 3.6	
Between-run Precision (%CV)	N/A	7.4 to 10.8		N/A	4.3 to 7.8	
Between-run Accuracy (%Bias)	N/A	−10.7 to −0.3		N/A	−0.7 to 2.4	
Dilution Factor	10		20	10		20
Within-run Precision (%CV)	10.1		3.1	8.3		1.6
Within-run Accuracy (%Bias)	−9.0		13.2	−8.3		−4.2
Stability in Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at −70°C, at least 125 days at −70°C, and at least 8 hours at room temperature					
Processed Process Stability	Stable at least 179 hours at room temperature					
Study Number	A01383M-SPD489A					
Location in CTD	4.2.2.1-01					

Abbreviations: LLOQ, lower limit of quantitation; CV, coefficient of variation; QC, quality control.

2.6.5.2.3 Determination of LDX and *d*-Amphetamine in Dog Plasma by LC/M/MS

Test Site	[redacted]			
Matrix	Dog Plasma (Anticoagulant: heparin sodium)			
Study Number Supported	01377M-SPD489			
Analyte	LDX		*d*-Amphetamine	
LLOQ (ng/mL)	1.00		1.00	
Calibration Curve Range (ng/mL)	1.00 to 1000		1.00 to 1000	
QC Levels (ng/mL) Within-run Precision (%CV) Within-run Accuracy (%Bias)	1.00 12.4 5.0	3.00, 50.0, 250, 900 4.7 to 10.5 −6.4 to 2.1	1.00 5.4 4.2	3.00, 50.0, 250, 900 2.8 to 6.2 −2.1 to 1.6
Dilution Factor Within-run Precision (%CV) Within-run Accuracy (%Bias)	10 8.6 −11.7		10 4.3 −5.9	
Stability in Plasma	Stable after 3 freeze-thaw cycles at −70°C, at least 195 days at −70°C, and at least 4 hours at room temperature			
Processed Process Stability	Stable at least 6 days at 4°C			
Study Number	A01381M-SPD489			
Location in CTD	4.2.2.1-02			

2.6.5.3 薬物動態試験： 吸収：単回投与

2.6.5.3.1 Plasma Concentrations of Radioactivity, LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats

Test Article: [^{14}C]-LDX dimesylate

Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley					
Gender (M/F)/Number of animals	M/12, F/12 (M/2 – 6, F/2 – 6 per time-point)					
Status	Intact					
Feeding condition	Fasted					
Vehicle/Formulation	Sterile water/Solution					
Method of administration	Single oral administration					
Dose (mg/kg)	10					
Radionuclide	^{14}C					
Specific radioactivity	50 mCi/mmol					
Sample for measurement	Plasma obtained 0, 0.5, 1, 3, 5, 8, 12, 24, 48 hours post-dose					
Analyte	Radioactivity, LDX, *d*-Amphetamine					
Assay	LSC for radioactivity, LC/MS/MS for LDX and *d*-amphetamine					
PK parameter	Radioactivity (LDX equivalent)		LDX		*d*-Amphetamine	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
T_{max} (hr)	3.0	1.0	0.5	0.5	1.0	1.0
C_{max} (ng/mL)	989	1320	126	243	66.4	145
$AUC_{0\text{-last}}$ (ng·hr/mL)	N/A	N/A	129	208	226	632
$AUC_{0\text{-inf}}$ (ng·hr/mL)	N/A	N/A	130	212	229	642
$t_{1/2}$ (hr)	N/A	N/A	1.2	0.9	2.0	4.1
BA (%)	N/A	N/A	18	23	N/A	N/A
Abbreviations: $AUC_{0\text{-inf}}$, area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinity; $AUC_{0\text{-last}}$, area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the last time point of measurable concentration; BA, bioavailability; C_{max}, maximum plasma concentration; F, female; LSC, liquid scintillation counter; M, male; PK, pharmacokinetic; T_{max}, time to maximum plasma concentration; $t_{1/2}$, elimination half-life. PK parameters were calculated using the mean concentration values. BA is calculated by comparing the dose-normalized $AUC_{0\text{-last}}$ values after oral and intravenous dosing.						
Study No.	R01374M-SPD489					
Location in CTD	4.2.2.2-01					

2.6.5.3.2 Plasma Concentrations of Radioactivity, LDX and *d*-Amphetamine after a Single Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats

Test Article: [^{14}C]-LDX dimesylate

Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley					
Gender (M/F)/Number of animals	M/3, F/3					
Status	Jugular vein cannula					
Feeding condition	Fasted					
Vehicle/Formulation	Sterile water/Solution					
Method of administration	Single intravenous administration					
Dose (mg/kg)	3					
Radionuclide	^{14}C					
Specific radioactivity	50 mCi/mmol					
Sample for measurement	Plasma obtained 0, 0.083, 1, 3, 5, 8, 12, 24, 48 hours post-dose					
Analyte	Radioactivity, LDX, *d*-Amphetamine					
Assay	LSC for radioactivity, LC/MS/MS for LDX and *d*-amphetamine					
PK parameter	Radioactivity (LDX equivalent)		LDX		*d*-Amphetamine	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
T_{max} (hr)	0.083 ± 0.000	0.083 ± 0.000	0.083 ± 0.000	0.083 ± 0.000	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
C_{max} (ng/mL)	1370 ± 130	1360 ± 370	394 ± 43	523 ± 60	42.8 ± 16.0	34.7 ± 4.3
$AUC_{0\text{-last}}$ (ng·hr/mL)	N/A	N/A	210 ± 14	273 ± 22	104 ± 35	120 ± 39
$AUC_{0\text{-inf}}$ (ng·hr/mL)	N/A	N/A	N.C.	N.C.	117 ± 47	129 ± 47
$t_{1/2}$ (hr)	N/A	N/A	N.C.	N.C.	1.6 ± 0.3	4.5 ± 4.9
Abbreviation: N.C., not calculated. Data are expressed as the mean ± standard deviation (S.D., n=3).						
Study No.	R01374M-SPD489					
Location in CTD	4.2.2.2-01					

2.6.5.3.3 Plasma Concentrations of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral or Intravenous Administration of LDX dimesylate in Rats

Test Article: LDX dimesylate

Species/Strain		Rat/Sprague-Dawley										
Gender (M/F)/Number of animals		M/56 [total number used for the oral or intravenous administration (described in the Sections 2.6.5.3.3 and 2.6.5.3.4) and for the single intranasal administration (not described in this CTD), and there is no description in detail]										
Status		Intact										
Feeding condition		No description										
Vehicle/Formulation		Water/Solution										
Method of administration		Single oral administration					Single intravenous administration					
Dose (mg/kg)		Approx. 5.1, 10.2, 20.3, 40.6, and 203.2 [1.5, 3, 6, 12, and 60 mg/kg, respectively, as *d*-amphetamine]					Approx. 5.1 [1.5 mg/g as *d*-amphetamine]					
Sample for measurement		Pooled plasma obtained 0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 3, 5, 8 hours post-dose					Pooled plasma obtained 0, 0.083, 0.5, 1.5, 3, 5, 8, 24 hours post-dose					
Analyte		LDX, *d*-Amphetamine										
Assay		LC/MS/MS										
PK parameter	Analyte	LDX						*d*-Amphetamine					
	Method of administration	Oral					Intra-venous	Oral					Intra-venous
	Dose (mg/kg) [as *d*-amphetamine)]	Approx. 5.1 [1.5]	Approx. 10.2 [3]	Approx. 20.3 [6]	Approx. 40.6 [12]	Approx. 203.2 [60]	Approx. 5.1 [1.5]	Approx. 5.1 [1.5]	Approx. 10.2 [3]	Approx. 20.3 [6]	Approx. 40.6 [12]	Approx. 203.2 [60]	Approx. 5.1 [1.5]
T_{max} (hr)		0.25	1.5	0.25	1	3	0.083	3	1.5	3	5	5	0.5
C_{max} (ng/mL)		36.5	135	677	856	1870	4510	59.6	127	311	413	2160	99.5
$AUC_{0\text{-}8hr}$ (ng·hr/mL)		59.4	330	1160	4240	8230	N/A	308	721	1680	2430	10000	N/A
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2280	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	238
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)		60	332	1170	4510	8500	2290	331	784	1800	2700	11500	238
BA (%)		2.6	7.2	12.8	24.6	9.3	N/A	61	72	82	62	52	N/A
Abbreviations: Approx., approximately; $AUC_{0\text{-}8hr}$, area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 8 hours post-dose. PK parameters were calculated using the mean concentration values.													
Study No.		R01378M-SPD489											
Location in CTD		4.2.2.2-02											

2.6.5.3.4 Plasma Concentration of *d*-Amphetamine after a Single Oral or Intravenous Administration of *d*-Amphetamine sulfate in Rats

Test Article: *d*-Amphetamine sulfate

Species/Strain		Rat/Sprague-Dawley					
Gender (M/F)/Number of animals		M/56 [total number used for the oral or intravenous administration (described in the Sections 2.6.5.3.3 and 2.6.5.3.4) and for the single intranasal administration (not described in this CTD), and there is no description in detail]					
Status		Intact					
Feeding condition		No description					
Vehicle/Formulation		Water/Solution					
Method of administration		Single oral administration			Single intravenous administration		
Dose (mg/kg)		Approx. 2.0, 4.1, 8.2, 16.3, and 81.6 [1.5, 3, 6, 12, and 60 mg/kg, respectively, as *d*-amphetamine]			Approx. 2.0 [1.5 mg/g as *d*-amphetamine]		
Sample for measurement		Pooled plasma obtained 0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 3, 5, 8 hours post-dose			Pooled plasma obtained 0, 0.083, 0.5, 1.5, 3, 5, 8, 24 hours post-dose		
Analyte		*d*-Amphetamine					
Assay		LC/MS/MS					
PK parameter	Method of administration	Oral					Intravenous
	Dose (mg/kg) [as *d*-amphetamine)]	Approx. 2.0 [1.5]	Approx. 4.1 [3]	Approx. 8.2 [6]	Approx. 16.3 [12]	Approx. 81.6 [60] [a]	Approx. 2.0 [1.5]
T_{max} (hr)		0.5	1.5	0.25	0.25	1	0.083
C_{max} (ng/mL)		142	217	815	1530	13700	420
$AUC_{0\text{-}8hr}$ (ng·hr/mL)		446	885	1320	4250	N.C.	N/A
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	547
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)		461	921	1360	4430	48700	547
BA (%)		84	84	62	101	223	N/A
PK parameters were calculated using the mean concentration values. a: PK parameters were calculated using the mean plasma concentrations (0 to 1.5 hr) because of deaths at this dose.							
Study No.		R01378M-SPD489					
Location in CTD		4.2.2.2-02					

2.6.5.3.5 *In Situ* Intestinal Permeability of LDX dimesylate in Rats

Test Article: LDX dimesylate

Species/Strain		Rat/Sprague-Dawley					
Gender (M/F)/Number of animals		M/4 per each segment (duodenum, jejunum, ileum, and colon)					
Feeding condition		Fasted					
Method of administration		*In situ* single-pass intestinal perfusion					
Perfusate		Krebs-Ringer Bicarbonate buffer (10 mM MES) pH 6.5 for duodenum and jejunum, Krebs-Ringer Bicarbonate buffer (10 mM HEPES) pH 7.4 for ileum and colon					
Perfusate concentration		0.125 mg/mL					
Perfusion condition		Rate: 0.2 mL/min, Time: 90 minutes					
Sample for measurement		Plasma obtained 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 minutes post-perfusion start					
Analyte		LDX, *d*-Amphetamine					
Assay		LC/MS/MS					
Segment	Analyte	Plasma concentration (ng/mL)					
		15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min
Duodenum	LDX	39.0 ± 13.0	32.7± 9.4	37.3± 9.2	35.3 ± 4.3	48.5 ± 12.7	53.7 ± 21.5
	d-Amphetamine	4.1 ± 0.6	5.5 ± 1.3	7.3 ± 1.6	11.1 ± 3.4	11.6 ± 3.1	24.2 ± 16.4
Jejunum	LDX	24.3 ± 21.9	25.5 ± 18.4	21.8 ± 13.2	17.1 ± 8.7	16.2 ± 8.6	16.3 ± 6.9
	d-Amphetamine	5.5 ± 3.3	8.8 ± 5.1	11.4 ± 5.1	13.5 ± 5.7	16.8 ± 6.9	19.0 ± 7.0
Ileum	LDX	33.0 ± 5.8	33.3 ± 7.3	31.2 ± 9.8	34.7 ± 4.7	35.0 ± 9.1	28.3 ± 5.3
	d-Amphetamine	6.6 ± 2.4	12.2 ± 2.6	16.3 ± 3.8	19.9 ± 5.8	23.0 ± 7.1	29.5 ± 6.0
Colon	LDX	0.4 ± 0.9	0.4 ± 0.9	0.7 ± 1.4	0.7 ± 1.3	1.1 ± 2.1	3.2 ± 6.4
	d-Amphetamine	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6	0.4 ± 0.8	0.9 ± 1.2
Data are expressed as the mean ± S.D. (n=4).							
Study No.		R01443M-SPD489					
Location in CTD		4.2.2.2-03					

2.6.5.3.6 Systemic and Portal Plasma Concentrations of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral Administration of LDX dimesylate in Rats

Test Article: LDX dimesylate

Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley			
Gender (M/F)/Number of animals	M/3			
Feeding condition	Fasted			
Vehicle/Formulation	Water/Solution			
Method of administration	Single oral administration			
Dose (mg/kg)	10			
Sample for measurement	Plasma obtained 0, 0.167, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24 hours post-dose			
Analyte	LDX, *d*-Amphetamine			
Assay	LC/MS/MS			
PK parameter	LDX		*d*-Amphetamine	
	Systemic	Portal	Systemic	Portal
T_{max} (hr)	0.17 ± 0.00	0.17 ± 0.00	1.7 ± 0.6	1.0 ± 0.0
C_{max} (ng/mL)	178 ± 153	1760 ± 1080	125 ± 27	337 ± 40
$AUC_{0\text{-last}}$ (ng·hr/mL)	158 ± 89	1500 ± 680	512 ± 222	1300 ± 410
Data are expressed as the mean ±S.D. (n=3).				
Study No.	R01259M-SPD489			
Location in CTD	4.2.2.2-04			

2.6.5.3.7 Plasma Concentrations of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral or Intravenous Administration of LDX dimesylate in Dog

Test Article: LDX dimesylate

Species/Strain	Dog/Beagle			
Gender (M/F)/Number of animals	M/3			
Feeding condition	Fasted			
Vehicle/Formulation	Water/Solution		Saline/Solution	
Method of administration	Single oral administration		Single intravenous administration (30-minutes iv infusion)	
Dose (mg/kg)	3.5			
Sample for measurement	Plasma obtained 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 hours post-dose		Plasma obtained 0, 0.167, 0.33, 0.49 (prior to stop of infusion), 0.583, 0.667, 0.75, 1, 2, 3, 4, 8, 12, and 23 hours (post-intravenous infusion start)	
Analyte	LDX, *d*-Amphetamine			
Assay	LC/MS/MS			
PK parameter	Oral		Intravenous	
	LDX	*d*-Amphetamine	LDX	*d*-Amphetamine
T_{max} (hr) [a]	0.5 (0.5 – 0.5)	2.0 (2.0 – 2.0)	0.49 (0.49 – 0.49)	1.00 (0.67 – 2.0)
C_{max} (ng/mL)	328 ± 92	104 ± 22	1650 ± 180	113 ± 3
CL_{tot} (mL/hr/kg)	N/A	N/A	2090 ± 200	N/A
$t_{1/2}$ (hr)	0.39 ± 0.10	3.48 ± 0.40	0.88 [b]	3.14 ± 0.40
Vd_{ss} (mL/kg)	N/A	N/A	689 ± 106	N/A
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·hr/mL)	319 ± 46	728 ± 205	964 ± 97	673 ± 86
BA (%)	33.0 ± 1.9	N/A	N/A	N/A
Abbreviations: CL_{tot}, total clearance; Vd_{ss}, volume of distribution at steady state. Data are expressed as the mean ±S.D. (n=3). a: Median (Range), b: Mean of 2 dogs				
Study No.	D01377M-SPD489			
Location in CTD	4.2.2.2-05			

2.6.5.4 薬物動態試験： 吸収：反復投与

該当する試験なし.

2.6.5.5 薬物動態試験： 分布

2.6.5.5.1 Brain Uptake of LDX and *d*-Amphetamine after a Single Oral Administration of LDX dimesylate or *d*-Amphetamine sulfate in Rats

Test Article: LDX dimesylate, *d*-Amfetamine sulfate

Species/Strain		Rat/Sprague-Dawley					
Gender (M/F)/Number of animals		Gender not specified/3 per time-point					
Feeding condition		Fasted					
Vehicle/Formulation		0.5% Methylcellulose/solution					
Method of administration		Single oral administration					
Dose (mg/kg)		Approx. 5.1 and 17 [1.5 and 5 mg/kg, respectively, as *d*-amphetamine] for LDX dimesylate Approx. 2.0 and 6.8 [1.5 and 5.0 mg/kg, respectively, as *d*-amphetamine] for *d*-amphetamine sulfate					
Sample for measurement		Serum and brain (1, 2, 6 hours post-dose)					
Analyte		LDX, *d*-Amphetamine					
Assay		LC/MS/MS					
Test Article	Sample	*d*-Amphetamine concentration (ng/mL or ng/g)					
		Approx. 5.1 mg/kg [1.5 mg/kg as *d*-amphetamine]			Approx. 17 mg/kg [5 mg/kg as *d*-amphetamine]		
		1 hr	2 hr	6 hr	1 hr	2 hr	6 hr
LDX dimesylate	Serum	119 ± 23	37.8 ± 12.0	5.68 ± 2.96	446 ± 39	261 ± 61	38.4 ± 9.2
	Brain [a]	531 ± 51 (4.5 ± 0.6)	238 ± 46 (6.5 ± 0.7)	40.9 ± 18.9 (9.6 ± 7.6)	2020 ± 260 (4.5 ± 0.2)	1390 ± 280 (5.4 ± 0.3)	183 ± 62 (4.7 ± 0.8)
Test Article	Sample	*d*-Amphetamine concentration (ng/mL or ng/g)					
		Approx. 2.0 mg/kg [1.5 mg/kg as *d*-amphetamine]			Approx. 6.8 mg/kg [5 mg/kg as *d*-amphetamine]		
		1 hr	2 hr	6 hr	1 hr	2 hr	6 hr
d-Amphetamine sulfate	Serum	134 [b]	40.7 ± 8.1	2.32 ± 0.73	340 ± 171	140 ± 13	5.03 ± 1.38
	Brain [a]	693 [b] (5.1) [b]	242 ± 44 (6.0 ± 0.3)	11.6 ± 3.6 (5.7 ± 3.3)	1990 ± 610 (6.3 ± 1.6)	771 ± 96 (5.5 ± 0.3)	33.9 ± 5.7 (6.9 ± 0.8)
Data are expressed as the mean ± S.D. (n=3). After a single oral administration of LDX dimesylate at approx. 5.1 mg/kg, LDX was BLQ in brain at any time-points and in serum 2 and 6 hours post-dose, and the mean serum concentration of LDX 1 hour post-dose was 8.30 ng/mL. After a single oral administration of LDX dimesylate at approx. 17 mg/kg, LDX was BLQ in brain at any time-points, and the mean serum concentrations of LDX 1, 2, and 6 hours post-dose were 59.3, 5.23, and 1.07 ng/mL, respectively. The LLOQ values for LDX in serum and brain were 2.5 ng/mL and 12.5 ng/g, respectively. a: Brain/serum concentration ratios are represented in the parentheses. b: Mean of 2 rats.							
Study No.		R01376M-SPD489					
Location in CTD		4.2.2.3-01					

2.6.5.6 薬物動態試験： たん白結合

該当する試験なし.

2.6.5.7 薬物動態試験： 妊娠又は授乳動物における試験

該当する試験なし.

2.6.5.8 薬物動態試験： その他の分布試験

該当する試験なし.

2.6.5.9 薬物動態試験： 代謝：*In Vivo*

2.6.5.9.1 Plasma Metabolites after a Single Oral or Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats

Test Article: [^{14}C]-LDX dimesylate

Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley
Gender (M/F)/Number of Animals	Oral for intact rat: M/2, 4 or 6 per time point, F/2, 4 or 6 per time point Intravenous for jugular vein-cannulated rat: M/3, F/3
Feeding condition	Fasted
Vehicle/Formulation	Sterile water/solution
Method of Administration	Single oral or intravenous administration
Dose (mg/kg)	Oral: 10, Intravenous: 3
Radionuclide	^{14}C
Specific radio activity	50 mCi/mmol
Sample	Pooled plasma
Analyte	LDX and its metabolites
Assay	Radio-HPLC, LC/MS^{n}

Status	Gender	Route	Time (hr)	Plasma concentration (ng equivalent of LDX/g)											
				LDX	M1	M2	M3	M4	*d*-Amphetamine	M8	M9	M10	M11	M14
Intact	M	Oral	0.5	55.1	N.C.	N.C.	48.7	N.C.	263	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			1	N.C.	N.C.	N.C.	199	N.C.	389	35.4	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			3	N.C.	N.C.	N.C.	485	N.C.	150	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			5	N.C.	N.C.	N.C.	406	N.C.	103	347	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			8	N.C.	N.C.	N.C.	244	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			12	N.C.	N.C.	N.C.	152	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			24	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			48	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			%[a]	0.4	N.C.	N.C.	67.2	N.C.	18.3	14.2	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.

Status	Gender	Route	Time (hr)	Plasma concentration (ng equivalent of LDX/g)										
				LDX	M1	M2	M3	M4	*d*-Amphetamine	M8	M9	M10	M11	M14
Intact	F	Oral	0.5	293	N.C.	N.C.	173	N.C.	500	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			1	N.C.	N.C.	N.C.	244	N.C.	696	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			3	N.C.	N.C.	N.C.	665	N.C.	453	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			5	N.C.	N.C.	N.C.	496	N.C.	240	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			8	N.C.	N.C.	N.C.	312	N.C.	51.6	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			12	N.C.	N.C.	N.C.	73.3	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			24	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			48	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			%[a]	1.9	N.C.	N.C.	61.1	N.C.	37.0	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
Jugular vein-cannulated	M	Intra-venous	0.5	879	N.C.	69.4	N.C.	N.C.	144	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			1	23.5	N.C.	N.C.	86.1	N.C.	137	76.9	N.C.	N.C.	N.C.	20.9
			3	N.C.	N.C.	N.C.	92.5	N.C.	50.0	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			5	N.C.	N.C.	N.C.	176	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			8	N.C.	N.C.	N.C.	42.1	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			12	N.C.	N.C.	N.C.	26.5	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			24	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			48	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			%[a]	22.7	N.C.	1.7	53.0	N.C.	16.7	4.7	N.C.	N.C.	N.C.	1.3
Jugular vein-cannulated	F	Intra-venous	0.5	868	N.C.	65.7	N.C.	N.C.	162	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	47.4
			1	N.C.	N.C.	N.C.	215	N.C.	216	47.0	N.C.	N.C.	N.C.	70.5
			3	N.C.	N.C.	N.C.	136	N.C.	75.4	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			5	N.C.	N.C.	N.C.	150	N.C.	65.7	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			8	N.C.	N.C.	N.C.	18.3	N.C.	31.7	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			12	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			24	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			48	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
			%[a]	18.1	N.C.	1.4	41.0	N.C.	32.4	2.5	N.C.	N.C.	N.C.	4.7

Abbreviation: LC/MS^n, high-performance liquid chromatography with multistage mass spectrometry.
Estimated metabolites: M1: amphetamine-derived unknown metabolite, M2: 4-hydroxy LDX, M3: 4-hydroxy amphetamine glucuronide, M4: 4-hydroxy amphetamine, M8: hydroxylated amphetamine, M9: acetylamphetamine glucuronide, M10: hippuric acid, M11: acetylamphetamine, M14: hydroxylated amphetamine glucuronide.
a: The percentage of $AUC_{0\text{-}48hr}$ value of individual metabolite to the sum of $AUC_{0\text{-}48hr}$ values of LDX and its metabolites detected by Radio-HPLC.

Study No.	R01375M-SPD489
Location in CTD	4.2.2.4-04

2.6.5.9.2 Urinary, Biliary, and Fecal Metabolites after a Single Oral or Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats

Test Article: [^{14}C]-LDX dimesylate

Species/Strain	Rat/Sprague Dawley
Gender (M/F)/Number of Animals	Oral administration for intact rat: M/3, F/3 Intravenous administration for jugular vein-cannulated rat: M/3, F/3 Oral or intravenous administration for jugular vein- and bile duct-cannulated rat: M/3, F/3
Feeding condition	Fasted
Vehicle/Formulation	Sterile water/solution
Method of Administration	Single oral or intravenous administration
Dose (mg/kg)	Oral: 10, Intravenous: 3
Radionuclide	^{14}C
Specific radio activity	50 mCi/mmol
Sample	Urine and feces obtained from intact or jugular vein-cannulated rat (pooled sexes), Bile obtained from jugular vein- and bile duct-cannulated rats (pooled sexes)
Analyte	LDX and its metabolites
Assay	Radio-HPLC, LC/MS^n

Sample (Status)	Gender	Route	Sampling period (hr)	Amount in pooled sample (μg equivalent of LDX)										
				LDX	M1	M2	M3	M4	*d*-Amphetamine	M8	M9	M10	M11	M14
Urine (Intact)	M, F (mixed)	Oral	0 – 5	127	0	19.3	215	50.8	170	31.8	4.4	27.4	8.7	7.1
			5 – 12	0	0	0	343	26.0	134	11.2	16.9	16.1	5.6	0
			12 – 24	0	0	0	234	45.8	56.5	6.8	31.8	11.2	24.4	0
			% [a]	4.8	0	0.7	29.8	4.6	13.6	1.9	2.0	2.1	1.5	0.3
Bile (Jugular vein- and bile duct-cannulated)	M, F (mixed)	Oral	0 – 3	0.769	1.89	0	1.11	0.313	0.996	0	1.40	0	0	0
			3 – 5	4.06	10.5	0	9.19	1.97	4.91	0	8.85	0	0	0
			5 – 8	8.57	0	0	39.8	6.74	14.5	0	47.6	0	0	0
			% [a]	0.5	0.4	0	1.8	0.3	0.7	0	2.0	0	0	0

Sample (Status)	Gender	Route	Sampling period (hr)	Amount in pooled sample (μg equivalent of LDX)										
				LDX	M1	M2	M3	M4	*d*-Amphetamine	M8	M9	M10	M11	M14
Bile (Jugular vein- and bile duct-cannulated)	M, F (mixed)	Intra-venous	0 – 3	1.02	0	0	5.51	0.388	6.69	0	3.88	0	1.00	0
			3 – 5	0	0	0	5.97	0	4.27	0	3.65	0	0.620	0
			5 – 8	0	0	0	10.3	0	4.33	0	7.23	0	0.734	0
			% [a]	0.1	0	0	2.6	0	1.8	0	1.8	0	0.3	0
Feces (Intact)	M, F (mixed)	Oral	0 – 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			5 – 12	0	0	0	0	5.4	5.0	0	0	0	0	0
			12 – 24	0	0	0	0	32.8	20.4	0	0	0	0	0
			% [a]	0	0	0	0	1.4	1.0	0	0	0	0	0

Estimated metabolites: M1: amphetamine-derived unknown metabolite, M2: 4-hydroxy LDX, M3: 4-hydroxy amphetamine glucuronide, M4: 4-hydroxy amphetamine, M8: hydroxylated amphetamine, M9: acetylamphetamine glucuronide, M10: hippuric acid, M11: acetylamphetamine, M14: hydroxylated amphetamine glucuronide.
a: Cumulative excretion (% of dose).

Study No.	R01375M-SPD489
Location in CTD	4.2.2.4-04

2.6.5.10 薬物動態試験： 代謝：*In Vitro*

2.6.5.10.1 Stability of LDX in Liver Preparations

Test Article: [^{14}C]-LDX dimesylate, LDX dimesylate

Test System	Human liver microsomes (a pool of 15 individuals), Primary cultures of fresh human (2 Donors [Lot No. Hu147 and Hu159])/rat (n=1 [Lot No. Rs140]) hepatocytes		
Incubation	At 37°C for 30 minutes (human liver microsomes), 4 hours (human/rat hepatocytes)		
Concentration (ng/mL)	12.5, 125		
Radionuclide	^{14}C		
Specific Activity	50 mCi/mmol		
Sample	Reaction mixture after incubation of [^{14}C]-LDX dimesylate/LDX dimesylate with human liver microsomes in the presence of NADPH or human/rat hepatocyte		
Analyte	LDX, *d*-Amphetamine, Metabolites of *d*-amphetamine		
Assay	LC/MS/MS for LDX and *d*-amphetamine, Radio-HPLC for metabolites of *d*-amphetamine		
Metabolites	Human liver microsomes	Human hepatocytes	Rat hepatocytes
LDX	No time dependent decrease	No time dependent decrease	No time dependent decrease
d-Amphetamine	No time dependent formation	No time dependent formation	No time dependent formation
Metabolites of *d*-amphetamine	N.D.	N.D.	N.D.
Abbreviation: N.D., not detected.			
Study No.	V01373M-SPD489		
Location in CTD	5.3.2.2-10		

2.6.5.10.2 Stability of LDX in Plasma, Blood, or Homogenized Tissues

Test Article: LDX dimesylate

Test System	Human (2 or 3 donors)/ rat (n=1, pooled from 3 male Sprague-Dawley rats) plasma, blood, and homogenized tissues (liver, kidney, upper intestine, lower intestine, colon, and pancreas)							
Incubation	At 37°C for 0, 0.25, 0.5, 1, 2 and 4 hours							
Concentration (μg/mL)	1.7							
Sample	Reaction mixture after incubation of LDX dimesylate with rat/ human plasma, blood, or homogenized tissues							
Analyte	LDX, *d*-Amphetamine							
Assay	LC/MS/MS							
Sample	Rat		Human					
	$t_{1/2}$ of LDX (hr) [a]	*d*-Amphetamine concentration at 4 hours (% of Initial LDX) [a]	$t_{1/2}$ of LDX (hr) [a]			*d*-Amphetamine concentration at 4 hours (ng/mL) [b]		
			Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3
Plasma	N.C.	0	N.C.	N.C.		BLQ	BLQ	
Blood	0.95	39	1.5	1.7		433	329	
Homogenized Liver	2.50	17	11.2	8.1		197	126	
Homogenized Kidney	N.C.	23	1.9	2.7		350	254	
Homogenized Upper Intestine	N.C.	3	N.C.	N.C.		96.7	101	
Homogenized Lower Intestine	N.C.	5	N.C.	N.C.		82.0	181	
Homogenized Colon	N.C.	7	3.6	N.C.	N.C.	250	113	33.5
Homogenized Pancreas	N.C.	0	N.C.	N.C.		BLQ	BLQ	
Abbreviation: BLQ, below the lower limit of quantification (LLOQ = 10 ng/mL). a: Data were calculated using the mean concentration values of duplicate assays. b: Data are expressed as the mean of duplicate assays.								
Study No.	V01258M-SPD489		V01257M-SPD489					
Location in CTD	4.2.2.4-05		5.3.2.2-11					

2.6.5.10.3 Stability of LDX in Rat Caecum Contents or Human Colonic Contents

Test Article: LDX dimethylate

Test System		Rat cecum contents (n=1, pooled from 3 male Sprague-Dawley rats), Human colonic contents (2 donors)					
Incubation		At 37°C for 4 hours (rat) or 2 hours (human)					
Concentration (µg/mL)		1.0					
Sample		Reaction mixture after incubation of LDX dimesylate with rat cecum contents or human colonic contents					
Analyte		LDX, *d*-Amphetamine					
Assay		LC/MS/MS					
Sample		0 hr	0.25 hr	0.5 hr	1 hr	2 hr	4 hr
Rat cecum contents	% Remaining of LDX [a]	100	60.3	15.4	2.71	1.19	7.16
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	62.1	254	318	416	454	2740
Human colonic contents Donor 1	% Remaining of LDX [a]	100	73.6	73.2	94.8	104	
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
Human colonic contents Donor 2	% Remaining of LDX [a]	100	103	101	100	107	
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
LLOQ = 10 ng/mL a: % Remaining values were calculated using the mean concentration values of duplicate assays. b: Data are expressed as the mean of duplicate assays.							
Study No.		V02000M-SPD489					
Location in CTD		5.3.2.2-01					

2.6.5.10.4 Stability of LDX to Hydrolytic Enzymes

Test Article: LDX dimesylate

Test System	Hydrolytic enzymes (Dipeptidyl peptidase IV, Cathepsin G, Elastase, Subtilisin A, Subtilisin Type XXIV, Prolidase, Bromelain, Amidase, Chymopapain, Pancreatin, Pepsin, Esterase, Protease X, Alpha chymotrypsin, Papain, Trypsin, Sequence grade modified trypsin, Endopeptidase Lys-C)					
Incubation	At 37°C for 1 hour (Dipeptidyl peptidase IV, Cathepsin G, and Elastase assessments), 4 hours (the other hydrolytic enzymes assessments)					
Concentration (μg/mL)	1.0 (Dipeptidyl peptidase IV, Cathepsin G, and Elastase assessments), 1000 (the other hydrolytic enzymes assessments)					
Sample	Reaction mixture after incubation of LDX dimesylate with hydrolytic enzymes					
Analyte	LDX and *d*-Amphetamine (Dipeptidyl peptidase IV, Cathepsin G, and Elastase assessments), *d*-Amphetamine (the other hydrolytic enzymes assessments)					
Assay	LC/MS/MS (Dipeptidyl peptidase IV, Cathepsin G, and Elastase assessments), High-performance liquid chromatography (the other hydrolytic enzymes assessments)					
Hydrolytic enzymes	% Remaining of LDX					
	0 hr	0.083 hr	0.25 hr	0.5 hr	0.75 hr	1 hr
Dipeptidyl peptidase IV	100	111	100	101	102	104
Cathepsin G	100	95	94	94	93	96
Elastase	100	102	102	104	96	87
% Remaining values were calculated using the mean concentration value of duplicate assays. The formation of *d*-amphetamine in these incubations were negligible (LLOQ = 10 ng/mL).						
Study No.	V01457M-SPD489					
Location in CTD	4.2.2.4-01					
Hydrolytic enzymes	*d*-Amphetamine Formation					
	0.083 hr		1 hr		4 hr	
Subtilisin A	N.D.		N.D.		N.D.	
Subtilisin Type XXIV	N.D.		N.D.		N.D.	
Prolidase	N.D.		N.D.		N.D.	
Bromelain	N.D.		N.D.		N.D.	
Amidase	N.D.		N.D.		N.D.	
Chymopapain	N.D.		N.D.		N.D.	
Pancreatin	<1%		<1%		<1%	
Pepsin	N.D.		N.D.		N.D.	
Esterase	N.D.		N.D.		N.D.	
Protease X	N.D.		N.D.		N.D.	
Alpha chymotrypsin	N.D.		N.D.		N.D.	

Hydrolytic enzymes	*d*-Amphetamine Formation		
	0.083 hr	1 hr	4 hr
Papain	N.D.	N.D.	N.D.
Trypsin	N.D.	N.D.	N.D.
Sequence grade modified trypsin	N.D.	N.D.	N.D.
Endopeptidase Lys-C	<1%	<1%	<1%
<1%; Peak observed but below the lowest point in linearity range (1% – 25%)			
Study No.	[redacted]04-NRP104		
Location in CTD	4.2.2.4-02		

2.6.5.10.5 Gastrointestinal Stability of LDX

Test Article: LDX dimesylate

Test System		Simulated gastric fluid (pH 1.2), Simulated intestinal fluid (pH 6.8 ± 0.1), Trypsin (100, 2000, 20000 units/mL in 0.1 mol/L potassium phosphate buffer, pH 7.4)					
Incubation		At 37°C for 1 hour					
Concentration (μg/mL)		200					
Sample		Reaction mixture after incubation of LDX dimesylate with simulated gastric fluid, simulated intestinal fluid, or trypsin					
Analyte		LDX, *d*-Amphetamine					
Assay		LC/MS/MS					
Sample		0 hr	0.083 hr	0.25 hr	0.5 hr	0.75 hr	1 hr
Simulated gastric fluid	% Remaining of LDX [a]	100	104	111	114	111	120
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Simulated intestinal fluid	% Remaining of LDX [a]	100	96	83	93	103	103
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	50.2	60.3	58.5	51.3	56.1	61.4
Trypsin (100 units/mL)	% Remaining of LDX [a]	100	108	104	109	112	116
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Trypsin (2000 units/mL)	% Remaining of LDX [a]	100	101	105	102	106	111
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Trypsin (20000 units/mL)	% Remaining of LDX [a]	100	98	101	106	114	111
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	BLQ	BLQ	10.3	14.4	18.8	19.7
LLOQ = 10 ng/mL a: % Remaining values were calculated using the mean concentration values of duplicate assays. b: Data are expressed as the mean of duplicate assays							
Study No.		V01625M-SPD489					
Location in CTD		4.2.2.4-03					

2.6.5.10.6 Hydrolysis of LDX in Human Blood Fractions

Test Article: LDX dimesylate

Test System	Fresh human (2 donors, male) blood fractions (red blood cells, peripheral blood mononucleated cells, polymorphonuclear cells, and platelets)					
Incubation	At 37°C for 0, 0.25, 0.5, 1, 2, and 4 hours					
Concentration (µg/mL)	1.7					
Sample	Reaction mixture after incubation of LDX dimesylate with fresh human blood fractions					
Analyte	LDX, *d*-Amphetamine					
Assay	LC/MS/MS					
Blood fractions	$t_{1/2}$ of LDX (hr) [a]		% Remaining of LDX at 4 hours [a]		*d*-Amphetamine concentration at 4 hours (ng/mL) [b]	
	Donor 1	Donor 2	Donor 1	Donor 2	Donor 1	Donor 2
Red blood cells	0.87	1.10	4	11	295	269
Peripheral blood mononucleated cells	N.C.	N.C.	130	130	31.7	28.8
Polymorphonuclear cells	N.C.	N.C.	117	120	BLQ	12.4
Platelets	N.C.	N.C.	105	129	BLQ	BLQ
LLOQ = 10 ng/mL a: $t_{1/2}$ and % Remaining values were calculated using the mean concentration values of duplicate assays. b: Data are expressed as the mean of duplicate assays						
Study No.	V01553M-SPD489					
Location in CTD	5.3.2.2-02					

2.6.5.10.7 Hydrolysis of LDX in Human Red Blood Cell Fractions

Test Article: LDX dimesylate

Test System	Red blood cell fractions collected from fresh human (2 donors, male and female) blood					
Incubation	At 37°C for 0, 0.25, 0.5, 1, 2, and 4 hours					
Concentration (µg/mL)	1.7					
Sample	Reaction mixture after incubation of LDX dimesylate with fresh human red blood cell fractions					
Analyte	LDX, *d*-Amphetamine					
Assay	LC/MS/MS					
Red blood cell fractions	$t_{1/2}$ of LDX (hr) [a]		% Remaining of LDX at 4 hours [a]		*d*-Amphetamine concentration at 4 hours (ng/mL) [b]	
	Male Donor	Female Donor	Male Donor	Female Donor	Male Donor	Female Donor
10% Red blood cells	6.54	N.C.	57	71	165	109
25% Red blood cells	3.31	2.41	43	32	216	218
33% Red blood cells	1.87	2.69	21	32	246	241
50% Red blood cells	2.13	1.54	33	20	238	246
75% Red blood cells	1.14	1.16	12	10	283	282
90% Red blood cells	1.01	0.99	8	10	295	327
90% Lyzed red blood cells	1.47	2.31	15	31	272	264
100% Red blood cells + EDTA (Approx. 12.15 mg K_2EDTA/7 mL of blood)	1.32	1.16	15	11	276	279
Red blood cell fractions were reconstituted with saline to various percentages of the original hematocrit. a: $t_{1/2}$ and % Remaining values were calculated using the mean concentration value of duplicate assays. b: Data are expressed as the mean of duplicate assays						
Study No.	V01624M-SPD489					
Location in CTD	5.3.2.2-03					

2.6.5.10.8 Hydrolysis of LDX in Blood of Sickle Cell Disease Subjects

Test Article: LDX dimesylate

Test System	Fresh human blood of sickle cell disease subjects (2 subjects, male) and healthy subjects (2 subjects, male)		
Incubation	At 37°C for 0, 0.25, 0.5, 1, 2, and 4 hours		
Concentration (μg/mL)	1.7		
Sample	Reaction mixture after incubation of LDX dimesylate with fresh human blood		
Analyte	LDX, *d*-Amphetamine		
Assay	LC/MS/MS		
Subjects	$t_{1/2}$ of LDX (hr) [a]	% Remaining of LDX at 4 hours [a]	*d*-Amphetamine concentration at 4 hours (ng/mL) [b]
Sickle Cell Disease Subject 1	1.30	14.1	304
Sickle Cell Disease Subject 2	1.36	15.3	287
Healthy Subject 1	1.15	13.1	297
Healthy Subject 2	1.13	10.5	324
a: $t_{1/2}$ and % Remaining values were calculated using the mean concentration values of duplicate assays. b: Data are expressed as the mean of duplicate assays			
Study No.	V02001M-SPD489		
Location in CTD	5.3.2.2-04		

2.6.5.10.9 Hydrolysis of LDX in Human Red Blood Cell Fractions with/without Enzyme Inhibitors

Test Article: LDX dimesylate

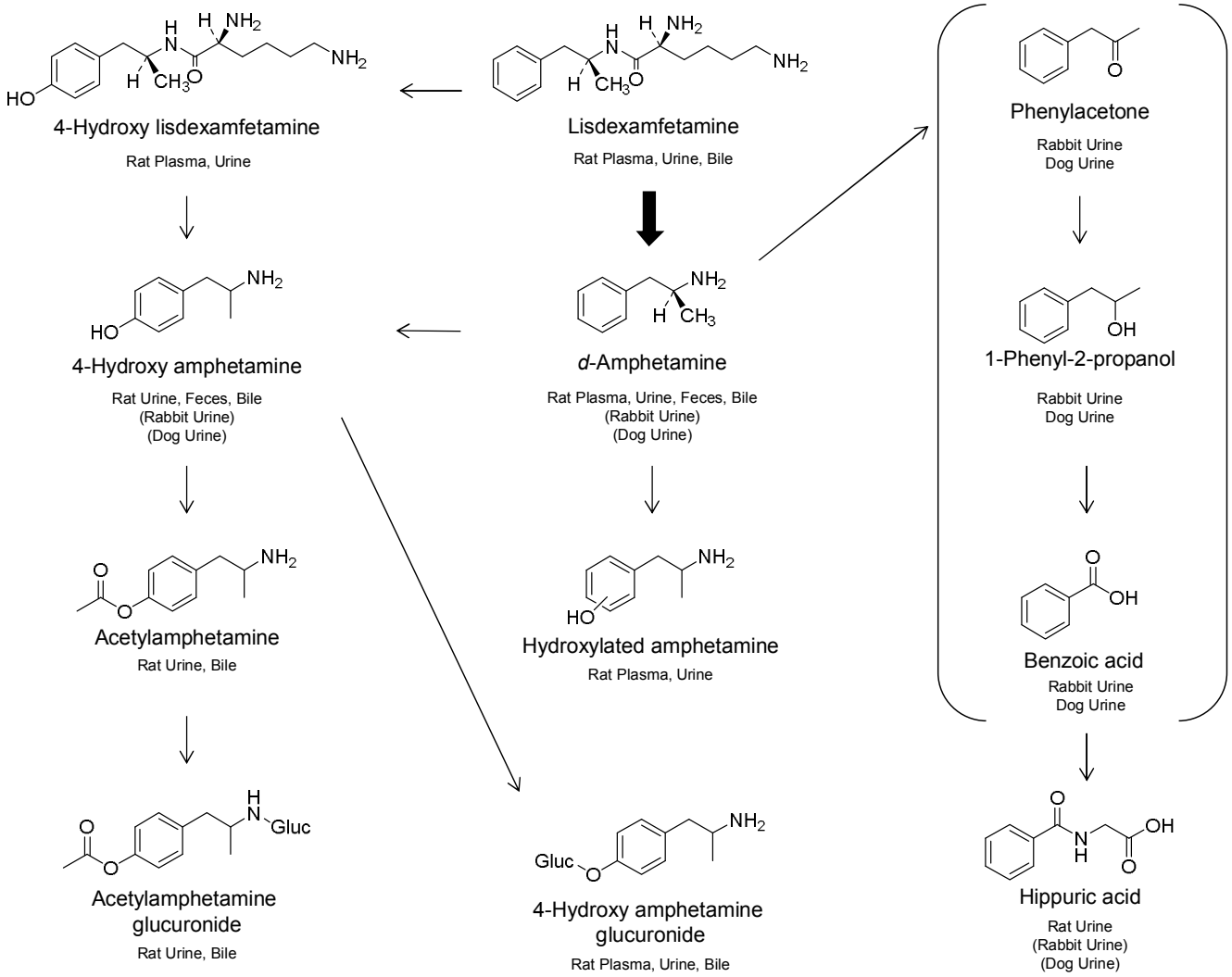
Test System		Pooled human blood (3 donors, male), plasma, lysed red blood cells, red blood cell membranes, red blood cell cytosol			
Incubation		At 37°C for 0, 0.25, 0.5, 1, 2, and 4 hours			
Concentration (µg/mL)		1.7			
Sample		Reaction mixture after incubation of LDX dimesylate with human blood, plasma, lysed red blood cells, red blood cell membranes, and red blood cell cytosol			
Analyte		LDX, *d*-Amphetamine			
Assay		LC/MS/MS			
Matrix		$t_{1/2}$ of LDX (hr) [a]	% Remaining of LDX at 4 hours [a]	*d*-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	
				1 hr	4 hr
Blood_1		2.5	27	192	458
Blood_2		1.38	16	180	466
Plasma		N.C.	101	BLQ	BLQ
Lysed red blood cells		11.9	76	51.6	102
Red blood cell membrane		N.C.	119	BLQ	29.4
Red blood cell cytosol		3.0	42	65.7	283
Matrix	Enzyme Inhibitor	$t_{1/2}$ of LDX (hr) [a]	% Remaining of LDX at 4 hours [a]	*d*-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	
				1 hr	4 hr
Red blood cell cytosol	None_1	4.9	63	60.3	184
	None_2	4.5	58	63.2	201
	BNPP (1 mmol/L)	6.1	63	49.0	165
	AEBSF (2 mmol/L)	N.D. (r^2 value <0.85)	77	BLQ	46.7
	Aprotinin (0.3 µmol/L)	7.2	65	52.6	194
	Leupeptin (1 µmol/L)	5.3	67	51.0	171
	Bestatin (130 µmol/L)	N.C.	104	BLQ	22.0
	EDTA (1 mmol/L)	N.C.	100	BLQ	31.0
	E-64 (14 µmol/L)	7.1	76	53.6	192
Abbreviations: AEBSF, 4-(2-aminoethyl)benzene sulfonyl fluoride; BNPP, bis(4-nitrophenyl)-phosphate. LLOQ = 10 ng/mL a: $t_{1/2}$ and % Remaining values were calculated using the mean concentration values of duplicate assays. b: Data are expressed as the mean of duplicate assays.					
Study No.		V4269M-SPD489			
Location in CTD		5.3.2.2-12			

2.6.5.10.10 Effect of Aminopeptidase B on Hydrolysis of LDX

Test Article: LDX dimesylate

Test System		Aminopeptidase B (Purified recombinant protein of Homo sapiens)					
Incubation		At 37°C for 1 hour (for 10.9 µg protein/mL of Aminopeptidase B assay) or 4 hours (for 34 and 68 µg protein/mL of Aminopeptidase B assay)					
Concentration (µg/mL)		1.7					
Sample		Reaction mixture after incubation of LDX dimesylate with Aminopeptidase B					
Analyte		LDX, *d*-Amfetamine					
Assay		LC/MS/MS					
Sample		0 hr	0.17 hr	0.5 hr	1 hr	2 hr	4 hr
Aminopeptidase B (10.9 µg protein/mL)	% Remaining of LDX [a]	100	100	103	99		
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ		
Aminopeptidase B (34 µg protein/mL)	% Remaining of LDX [a]	100	101	97	97	99	99
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Aminopeptidase B (68 µg protein/mL)	% Remaining of LDX [a]	100	98	96	98	95	97
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	11.7
Aminopeptidase B (68 µg protein/mL) + Bestatin (130 µmol/L)	% Remaining of LDX [a]	100	100	101	102	98	97
	d-Amphetamine concentration (ng/mL) [b]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
LLOQ =10 ng/mL a: % Remaining values were calculated using the mean concentration values of duplicate assays. b: Data are expressed as the mean of duplicate assays.							
Study No.		V5109M-SPD489					
Location in CTD		4.2.2.4-06					

2.6.5.11 薬物動態試験： 推定代謝経路



Postulated metabolic pathways of *dl*-amphetamine and the samples in which *dl*-amphetamine and its metabolites were detected are shown in parentheses.

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 Inhibitory Effects of LDX on Human CYP Enzymes

Test Article: LDX dimesylate

Test System	Human liver microsomes (a pool of 15 individuals) in the presence of NADPH				
Concentration (μmol/L)	0 (control), 0.01, 0.1, 1, 10, 100 μmol/L (Direct inhibition), 1 μmol/L (Time-dependent inhibition)				
Substrates (Concentration)	Phenacetin (50 μmol/L) for CYP1A2, Coumarin (1 μmol/L) for CYP2A6, Bupropion (125 μmol/L) for CYP2B6, Tolbutamide (140 μmol/L) for CYP2C9, *S*-Mephenytoin (50 μmol/L) for CYP2C19, Dextromethorphan (7.5 μmol/L) for CYP2D6, Testosterone (50 μmol/L) for CYP3A4, Midazolam (5 μmol/L) for CYP3A4				
Incubation	At 37°C for 4 minutes (Midazolam), 5 minutes (Coumarin), 7 minutes (Testosterone), 20 minutes (Bupropion, Tolbutamide), 30 minutes (Phenacetin , *S*-Mephenytoin , Dextromethorphan)				
Sample	Reaction mixture after incubation of substrate with human liver microsomes in the presence of LDX dimesylate				
Analyte	Acetaminophen, 7-Hydroxycoumarin, Hydroxybupropion, Hydroxytolbutamide, 4'-Hydroxymephenytoin, Dextrorphan, 6β-Hydroxytestosterone, 1'-Hydroxymidazolam				
Assay	LC/MS/MS				
CYP isoform	Direct inhibition (0 minute)		Time-dependent inhibition [a]		Potential for time-dependent inhibition
	IC_{50} (μmol/L)	% of control at 100 μmol/L	% of control at 1 μmol/L		
			No Preincubation	Preincubation	
CYP1A2	>100	94.2	97.8	77.2	None
CYP2A6	>100	92.5	101	78.8	None
CYP2B6	>100	90.8	101	80.7	None
CYP2C9	>100	89.0	91.4	86.1	None
CYP2C19	>100	87.3	102 [b]	87.1	None
CYP2D6	>100	90.0	101	95.5	None
CYP3A4 (Teststerone)	>100	101	82.4	102	None
CYP3A4 (Midazolam)	>100	92.1	95.4	100	None
Abbreviation: IC_{50}, 50% inhibitory concentration. Data are expressed as the mean of triplicate values. a: Preincubation time: 15 minutes b: Mean of duplicate values.					
Study No.	V01371M-SPD489				
Location in CTD	5.3.2.2-05				

2.6.5.12.2 Inhibitory Effects of LDX and *d*-Amphetamine on CYP2C8

Test Article: LDX dimesylate, *d*-Amphetamine hemisulfate

Test System	Human liver microsomes (a pool of 16 individuals) in the presence of NADPH				
Concentration (μmol/L)	LDX dimesylate: 0 (control), 0.05, 0.08, 0.4, 1.5, 5, 15, 50 μmol/L (Direct inhibition and time-dependent inhibition) *d*-Amphetamine hemisulfate: 0 (control), 0.05, 0.15, 0.5, 1.5, 5, 15, 50 μmol/L (Direct inhibition and time-dependent inhibition)				
Substrates (Concentration)	Amodiaquine (1.5 μmol/L)				
Incubation	At 37°C for 5 minutes				
Sample	Reaction mixture after incubation of substrate with human liver microsomes in the presence of LDX dimesylate or *d*-amfetamine hemisulfate				
Analyte	*N*-Desethylamodiaquine				
Assay	LC/MS/MS				
Test Article	Direct inhibition (0 minute)		Time-dependent inhibition [a]		Potential for time-dependent inhibition
	IC_{50} (μmol/L)	% of control at 50 μmol/L	IC_{50} (μmol/L)	% of control at 50 μmol/L	
LDX dimesylate	>50	93.2	>50	91.3	None
d-Amphetamine hemisulfate	>50	125	>50	114	None
Data are expressed as the mean of duplicate values. a: Preincubation time: 30 minutes					
Study No.	V4308M-SPD489				
Location in CTD	5.3.2.2-06				

2.6.5.12.3 Inhibitory Effects of *d*-Amphetamine on Human CYP Enzymes

Test Article: *d*-Amphetamine sulfate

Test System	Human liver microsomes (a pool of 14 individuals) in the presence of NADPH				
Concentration (μmol/L)	0 (control), 0.2, 0.6, 2, 6, 20 μmol/L (Direct inhibition), 20 μmol/L (Time-dependent inhibition)				
Substrates (Concentration)	Phenacetin (100 μmol/L) for CYP1A2, Diclofenac (10 μmol/L) for CYP2C9, *S*-Mephenytoin (50 μmol/L) for CYP2C19, Bufuralol (10 μmol/L) for CYP2D6, Testosterone (50 μmol/L) for CYP3A4, Midazolam (5 μmol/L) for CYP3A4				
Incubation	At 37°C for 1 minute (Midazolam), 3 minutes (Testosterone), 10 minutes (Diclofenac), 15 minutes (Phenacetin), 30 minutes (Bufuralol), 60 minutes (*S*-Mephenytoin)				
Sample	Reaction mixture after incubation of substrate with human liver microsomes in the presence of *d*-amfetamine sulfate				
Analyte	Acetaminophen, 4'-hydroxydiclofenac, 4'-Hydroxymephenytoin, 1'-Hydroxybufuralol, 6β-Hydroxytestosterone, 1'-Hydroxymidazolam				
Assay	LC/MS/MS for the analytes except for 6β-hydroxyteststerone, HPLC for 6β-hydroxyteststerone				
CYP isoform	Direct inhibition (0 min)		Time-dependent inhibition [a]		Potential for time-dependent inhibition
	IC_{50} (μmol/L)	% of control at 20 μmol/L	IC_{50} (μmol/L)	% of control at 20 μmol/L	
CYP1A2	>20	106	>20	87.4	None
CYP2C9	>20	106	>20	108	None
CYP2C19	>20	102	>20	104	None
CYP2D6	>20	89.2	>20	87.5	None
CYP3A4 (Teststerone)	>20	102	>20	93.1	None
CYP3A4 (Midazolam)	>20	103	>20	93.8	None
Data are expressed as the mean of triplicate values. a: Preincubation time: 15 minutes					
Study No.	V00635-SLI381-IIIG				
Location in CTD	5.3.2.2-07				

2.6.5.12.4 CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 Induction by LDX

Test Article: LDX dimesylate

Test System		Primary cultures of fresh human hepatocytes (3 Donors [Lot No. H1064, H1068 and H1071])						
Exposure		At 37°C for 72 hours						
Concentration (μmol/L)		0 (control), 1, 10, 100						
Positive controls (Concentration)		Omeprazole (50 or 100 μmol/L) for prototypical inducer of CYP1A2, Phenobarbital (750 μmol/L) for prototypical inducer of CYP2B6, Rifampicin (10 μmol/L) for prototypical inducer of CYP3A4						
Substrates (Concentration)		Phenacetin (100 μmol/L) for CYP1A2, Bupropion (500 μmol/L) for CYP2B6, Teststerone (250 μmol/L) for CYP3A4						
Incubation		At 37°C for 30 minutes						
Sample		Reaction mixture after incubation of substrate with human hepatocytes which were exposed with LDX dimesylate or positive control						
Analyte		Acetaminophen, Hydroxybupropion, 6β-Hydroxytestosterone						
Assay		LC/MS/MS						
CYP isoform	Test Article or Positive Controls	Concentration (μmol/L)	Enzyme activity					
			Fold induction to the corresponding control			Percentages to the positive control (%)		
			H1064	H1068	H1071	H1064	H1068	H1071
CYP1A2	LDX dimesylate	1	1.00	0.997	0.866	0.00572	−0.00357	−0.191
		10	1.05	1.08	0.928	0.140	0.0872	−0.102
		100	1.57	2.47	2.24	1.64	1.52	1.76
	Omeprazole	50	35.7	N/A	N/A	100	N/A	N/A
		100	N/A	97.9	71.1	N/A	100	100
CYP2B6	LDX dimesylate	1	1.13	1.10	1.02	1.52	1.70	0.0916
		10	1.05	1.06	1.02	0.588	0.947	0.0789
		100	1.21	1.28	1.41	2.48	4.68	1.57
	Phenobarbital	750	9.53	6.94	27.2	100	100	100
CYP3A4	LDX dimesylate	1	1.13	0.806	0.927	1.37	−3.22	−3.31
		10	1.11	0.791	0.860	1.13	−3.47	−6.38
		100	1.57	1.30	1.14	5.99	4.91	6.45
	Rifampicin	10	10.6	7.30	3.19	100	100	100
Data are expressed as the mean of triplicate assays.								
Study No.		V4307M-SPD489						
Location in CTD		5.3.2.2-08						

2.6.5.12.5 CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 Induction by *d*-Amphetamine

Test Article: *d*-Amphetamine hemisulfate

Test System		Primary cultures of fresh human hepatocytes (3 Donors [Lot No. H1064, H1068 and H1071])						
Exposure		37°C, 72 hours						
Concentration (μmol/L)		0 (control), 1, 10, 100						
Positive controls (Concentration)		Omeprazole (50 or 100 μmol/L) for prototypical inducer of CYP1A2, Phenobarbital (750 μmol/L) for prototypical inducer of CYP2B6, Rifampicin (10 μmol/L) for prototypical inducer of CYP3A4						
Substrates (Concentration)		Phenacetin (100 μmol/L) for CYP1A2, Bupropion (500 μmol/L) for CYP2B6, Teststerone (250 μmol/L) for CYP3A4						
Incubation		At 37°C for 30 minutes						
Sample		Reaction mixture after incubation of substrate with human hepatocytes which were exposed with *d*-Amfetamine or positive control						
Analyte		Acetaminophen, Hydroxybupropion, 6β-Hydroxytestosterone						
Assay		LC/MS/MS						
CYP isoform	Test Article or Positive Controls	Concentration (μmol/L)	Enzyme activity					
			Fold induction to the corresponding control			Percentages to the positive control (%)		
			H1064	H1068	H1071	H1064	H1068	H1071
CYP1A2	*d*-Amphetamine hemisulfate	1	1.09	1.05	0.982	0.260	0.0534	−0.0254
		10	1.28	0.976	0.992	0.795	−0.0248	−0.0107
		100	1.07	1.07	1.05	0.190	0.0769	0.0726
	Omeprazole	50	35.7	N/A	N/A	100	N/A	N/A
		100	N/A	97.9	71.1	N/A	100	100
CYP2B6	*d*-Amphetamine hemisulfate	1	0.927	1.07	0.968	−0.858	1.25	−0.124
		10	1.17	1.10	1.03	1.98	1.70	0.0970
		100	1.15	1.20	1.25	1.70	3.29	0.968
	Phenobarbital	750	9.53	6.94	27.2	100	100	100
CYP3A4	*d*-Amphetamine hemisulfate	1	1.11	1.24	1.01	1.17	3.95	0.519
		10	1.01	1.04	0.840	0.136	0.736	−7.27
		100	1.04	1.24	0.951	0.452	3.99	−2.24
	Rifampicin	10	10.6	7.30	3.19	100	100	100
Data are expressed as the mean of triplicate assays.								
Study No.		V4307M-SPD489						
Location in CTD		5.3.2.2-08						

2.6.5.13 薬物動態試験： 排泄

2.6.5.13.1 Urinary and Fecal Excretion after a Single Oral Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats

Test Article: [^{14}C]-LDX dimesylate

Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley			
Gender (M/F)/Number of Animals	M/3, F/3			
Feeding Condition	Fasted			
Vehicle/Formulation	Water for injection/solution			
Method of Administration	Single oral administration			
Dose (mg/kg)	10			
Radionuclide	^{14}C			
Specific Activity	50 mCi/mmol			
Sample	Urine, Feces, Cage Wipe (After the last excreta collection), Cage Wash (After the last excreta collection)			
Analyte	Radioactivity			
Assay	LSC			
Sampling time (hr)	Excretion of Radioactivity (% of dose)			
	Male		Female	
	Urine [a]	Feces	Urine	Feces
0 – 5	27.8	0.014 [b]	27.9 ± 7.9	0.025 [b]
5 – 12	22.3	0.652 [b]	36.1 ± 2.0	1.02 [b]
12 – 24	12.5	5.85 ± 5.57	13.2 ± 6.5	2.61 ± 0.62
24 – 48	7.70	0.763 ± 0.238	5.14 ± 1.39	0.668 ± 0.423
48 – 72	1.74	0.214 ± 0.062	1.40 ± 0.13	0.100 ± 0.030
72 – 96	1.45	3.40 ± 5.70	1.17 ± 0.62	0.059 ± 0.011
96 – 120	2.21	0.087 ± 0.028	0.407 ± 0.249	0.084 ± 0.091
120 – 144	0.841	0.088 ± 0.045	1.13 ± 0.27	0.043 ± 0.013
144 – 168	0.691	0.067 ± 0.037	0.503 ± 0.137	0.039 ± 0.015
Subtotal	77.3	10.9 ± 2.7	86.9 ± 5.0	3.96 ± 0.84
Cage Wipe	0.123 ± 0.051		0.123 ± 0.036	
Cage Wash	2.21 ± 0.62		4.36 ± 3.36	
Total	90.0 [a]		95.4 ± 3.0	
Data are expressed as the mean ± S.D. (n=3), except when otherwise indicated. a: Mean of 2 rats (Rat No. 26 was excluded due to apparent metabolic cage malfunctions in urine collection) b: Mean of 2 rats or individual value (No sample was collected for some rats within this time interval)				
Study Number	R01372M-SPD489			
Location in CTD	4.2.2.5-01			

2.6.5.14 薬物動態試験： 排泄：胆汁中

2.6.5.14.1 Biliary Excretion after a Single Oral or Intravenous Administration of [^{14}C]-LDX dimesylate in Rats

Test Article: [^{14}C]-LDX dimesylate

Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley			
Gender (M/F)/Number of Animals	M/3, F/3		M/3, F/3	
Status	Jugular vein- and bile duct-cannulated			
Feeding Condition	Fasted			
Vehicle/Formulation	Water for injection/solution		Sterile water/solution	
Method of Administration	Single oral administration		Single intravenous administration	
Dose (mg/kg)	10		3	
Radionuclide	^{14}C			
Specific Activity	50 mCi/mmol			
Sample	Bile			
Analyte	Radioactivity			
Assay	LSC			
Sampling time (hr)	Biliary Excretion of Radioactivity (% of dose)			
	Oral		Intravenous	
	Male	Female	Male	Female
0 – 3	1.89 ± 1.65	0.633 ± 0.582	3.9 ± 3.3	4.6 ± 2.0
3 – 5	3.41 ± 3.02	2.63 ± 1.97	4.5 ± 3.7	3.1 ± 1.7
5 – 8	4.92 ± 2.75		3.4 ± 2.4	2.3 ± 0.3
8 – 24	6.60 ± 2.34	3.39 ± 1.66	2.0 ± 0.6	1.2 ± 0.1
24 – 48	1.45 ± 1.67	0.586 ± 0.236	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Total	18.3 ± 4.9	7.24 ± 0.93	14.1 ± 9.4	11.6 ± 3.6
Data are expressed as the mean ± S.D. (n=3).				
Study Number	R01372M-SPD489		R01374M-SPD489	
Location in CTD	4.2.2.5-01		4.2.2.2-01	

2.6.5.15 薬物動態試験： 薬物相互作用

2.6.5.15.1 Substrate Assessment of LDX for P-gp

Test Article: LDX dimesylate

Test System	MDCKII cells and P-gp expressed MDCKII cells							
Concentration (μmol/L)	1, 10, 100							
Positive control (Concentration)	Digoxin (10 μmol/L)							
Inhibitors (Concentration)	Valspodar (10 μmol/L), Verapamil (60 μmol/L)							
Incubation	At 37°C for 2 hours							
Sample	Apical side solution, Basal side solution							
Analyte	Digoxin, LDX							
Assay	LS/MS/MS							
Test Article (Concentration) or Positive control	Inhibitor	Control cells			P-gp-expressing cells			Net efflux ratio [b]
		P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux ratio [a]	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux ratio [a]	
		Apical to Basal	Basal to Apical		Apical to Basal	Basal to Apical		
LDX dimesylate (1 μmol/L)	None	0.633 ± 0.172	0.574 ± 0.001	0.908	0.553 ± 0.025	0.708 ± 0.114	1.28	1.41
LDX dimesylate (10 μmol/L)	None	0.486 ± 0.004	1.04 ± 0.03	2.14	0.536 ± 0.113	0.735 ± 0.047	1.37	0.641
LDX dimesylate (100 μmol/L)	None	0.509 ± 0.008	0.694 ± 0.014	1.36	0.588 ± 0.078	0.715 ± 0.055	1.22	0.892
Digoxin	None	4.06 ± 0.2	8.65 ± 0.69	2.13	0.588 ± 0.053	23.4 ± 0.7	39.8	18.7
	Valspodar	4.87 [c]	4.74 ± 0.17	0.973	2.57 [c]	3.37 ± 0.15	1.31	1.35
	Verapamil	5.15 ± 0.3	6.22 ± 0.24	1.21	2.56 ± 0.17	5.94 ± 0.18	2.32	1.92
Abbreviations: P_{app}, apparent permeability. P_{app} values are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays. a: P_{app} of Basal to Apical/P_{app} of Apical to Basal. b: Efflux ratio of P-gp-expressing cells/Efflux ratio of control cells. c: Mean value (because of too few replicates).								
Study Number	V5044M-SPD489							
Location in CTD	5.3.2.2-09							

2.6.5.15.2 Inhibitor Assessment of LDX for P-gp

Test Article: LDX dimesylate

Test System	Caco-2 cells					
Concentration (μmol/L)	0 (control), 1, 3, 30, 100, 300					
Substrate (Concentration)	Digoxin (10 μmol/L)					
Inhibitor (Concentration)	Valspodar (10 μmol/L)					
Incubation	At 37°C for 2 hours					
Sample	Apical side solution, Basal side solution					
Analyte	Digoxin					
Assay	LS/MS/MS					
Substrate	Test Article (Concentration) or Inhibitor	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux ratio [a]	Relative transport (% of control)	IC_{50} (μmol/L)
		Apical to Basal	Basal to Apical			
Digoxin	LDX dimesylate (0 μmol/L)	1.38 ± 0.21	22.7 ± 2.1	16.5	100	N.C.
	LDX dimesylate (1 μmol/L)	1.90 ± 0.00	26.2 ± 0.6	13.8	83.0	
	LDX dimesylate (3 μmol/L)	2.21 ± 0.21	23.3 ± 2.4	10.5	61.6	
	LDX dimesylate (30 μmol/L)	1.85 ± 0.11	23.9 ± 0.0	12.9	77.0	
	LDX dimesylate (100 μmol/L)	2.34 ± 0.24	25.7 ± 1.2	11.0	64.5	
	LDX dimesylate (300 μmol/L)	1.48 ± 0.12	23.5 ± 0.8	15.8	95.8	
	Valspodar	5.16 ± 0.46	6.96 ± 0.25	1.35	2.25	N/A
P_{app} values are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays. a: P_{app} of Basal to Apical/P_{app} of Apical to Basal.						
Study Number	V5044M-SPD489					
Location in CTD	5.3.2.2-09					

2.6.5.15.3 Substrate Assessment of *d*-Amphetamine for P-gp

Test Article: *d*-Amphetamine hemisulfate

Test System	MDCKII cells and P-gp expressed MDCKII cells							
Concentration (μmol/L)	1, 10, 100							
Positive control (Concentration)	Digoxin (10 μmol/L)							
Inhibitors (Concentration)	Valspodar (10 μmol/L), Verapamil (60 μmol/L)							
Incubation	At 37°C for 2 hours							
Sample	Apical side solution, Basal side solution							
Analyte	Digoxin, *d*-Amphetamine							
Assay	LS/MS/MS							
Test Article (Concentration) or Positive control	Inhibitor	Control cells			P-gp-expressing cells			Net efflux ratio [b]
		P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux ratio [a]	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux ratio [a]	
		Apical to Basal	Basal to Apical		Apical to Basal	Basal to Apical		
d-Amphetamine hemisulfate (1 μmol/L)	None	51.8 ± 6.2	70.9 ± 6.2	1.37	54.5 ± 2.2	64.3 ± 1.9	1.18	0.862
d-Amphetamine hemisulfate (10 μmol/L)	None	50.7 ± 5.2	64.0 ± 5.4	1.26	52.1 ± 3.5	62.0 ± 3.0	1.19	0.943
d-Amphetamine hemisulfate (100 μmol/L)	None	66.8 ± 0.5	60.8 ± 0.4	0.909	55.8 ± 3.3	65.0 ± 3.2	1.16	1.28
Digoxin	None	5.09 ± 0.89	8.35 ± 0.37	1.64	0.770 ± 0.122	21.8 ± 1.1	28.3	17.2
	Valspodar	6.10 ± 0.64	5.28 ± 0.08	0.865	4.04 ± 0.60	3.67 ± 0.18	0.909	1.05
	Verapamil	5.63 ± 0.35	6.24 ± 0.19	1.11	4.10 ± 0.25	4.79 ± 0.34	1.17	1.05
P_{app} values are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays. a: P_{app} of Basal to Apical/P_{app} of Apical to Basal. b: Efflux ratio of P-gp-expressing cells/Efflux ratio of control cells.								
Study Number	V5044M-SPD489							
Location in CTD	5.3.2.2-09							

2.6.5.15.4 Inhibitor Assessment of *d*-Amphetamine for P-gp

Test Article: *d*-Amphetamine hemisulfate

Test System	Caco-2 cells
Concentration (μmol/L)	0 (control), 1, 3, 30, 100, 300
Substrate (Concentration)	Digoxin (10 μmol/L)
Inhibitor (Concentration)	Valspodar (10 μmol/L)
Incubation	At 37°C for 2 hours
Sample	Apical side solution, Basal side solution
Analyte	Digoxin
Assay	LS/MS/MS

Substrate	Test Article (Concentration) or Inhibitor	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux ratio [a]	Relative transport (% of control)	IC_{50} (μmol/L)
		Apical to Basal	Basal to Apical			
Digoxin	*d*-Amphetamine hemisulfate (0 μmol/L)	1.98 ± 0.26	23.0 ± 2.1	11.6	100	N.C.
	d-Amphetamine hemisulfate (1 μmol/L)	2.05 ± 0.27	25.6 ± 2.6	12.4	108	
	d-Amphetamine hemisulfate (3 μmol/L)	1.97 ± 0.16	25.1 ± 1.2	12.8	111	
	d-Amphetamine hemisulfate (30 μmol/L)	1.90 ± 0.14	25.6 ± 2.4	13.5	118	
	d-Amphetamine hemisulfate (100 μmol/L)	2.37 ± 0.19	26.0 ± 0.4	11.0	94.1	
	d-Amphetamine hemisulfate (300 μmol/L)	2.36 ± 0.33	24.8 ± 0.9	10.5	90.0	
	Valspodar	7.64 ± 0.42	6.31 ± 0.61	0.826	−1.65	N/A

P_{app} values are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays.
a: P_{app} of Basal to Apical/P_{app} of Apical to Basal.

Study Number	V5044M-SPD489
Location in CTD	5.3.2.2-09

2.6.5.15.5 Inhibitor Assessments of LDX for Human Transporters

Test Article: LDX dimesylate

Test System	OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3, NTCP, PEPT1 or PEPT2 expressed CHO cells, OATP2B1 expressed MDCKII cells									
Concentration (μmol/L)	0 (control), 10, 100 (for OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3, NTCP and OATP2B1 assessment) 0 (control), 10, 30, 100, 300, 1000, 3000 and 10000 (for PEPT1 and PEPT2 assessment)									
Substrates (Concentration)	[^{3}H]Estrone-3-sulfate (0.1 μmol/L for OATP1B1 assessment, 0.3 μmol/L for OAT3 assessment, 1 μmol/L for OATP2B1 assessment), Fluo-3 (10 μmol/L for OATP1B3 assessment), [^{14}C]Tetraethylammonium chloride (3.6 μmol/L for OCT1 assessment), [^{14}C]Metformin (2 μmol/L for OCT2 assessments), [^{3}H]*p*-Aminohippurate (0.4 μmol/L for OAT1 assessment), [^{3}H]Taurocholate (2 μmol/L for NTCP assessment), [^{14}C or ^{3}H]Glycylsarcosine (2 μmol/L for PEPT1 and PEPT2 assessment)									
Inhibitors (Concentration)	Cerivastatin (100 μmol/L for OATP1B1 assessment), Fluvastatin (10 μmol/L for OATP2B1 assessment, 30 μmol/L for OATP1B3 assessment), Verapamil (100 μmol/L for OCT1 and OCT2 assessments), Benzbromarone (200 μmol/L for OAT1 assessment), Probenecid (500 μmol/L for OAT3 assessment), Taurocheno-deoxycholate (100 μmol/L for NTCP assessment), Tyrosine-Phenylalanine (200 μmol/L for PEPT1 assessment), Cefadroxil (200 μmol/L for PEPT2 assessment)									
Incubation	At 37°C for 3 minutes (recombinant OAT1 expressed CHO cells), 5 minutes (recombinant OAT3 expressed CHO cells), 10 minutes (recombinant OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, NTCP, PEPT1 or PEPT2 expressed CHO cells), or 15 minutes (recombinant OATP2B1 expressed MDCKII cells)									
Sample	Cell lysate									
Analyte	Radioactivity, Fluo-3									
Assay	LSC for radioactivity, Fluorescence (λ_{ex} = 485 nm, λ_{em} = 520 nm) for Fluo-3									
	OATP1B1	OATP1B3	OATP2B1	OCT1	OCT2	OAT1	OAT3	NTCP	PEPT1	PEPT2
IC_{50} (μmol/L)	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	4134	246
Inhibition potential at 100 μmol/L (%)	0	~10	~40	~30	~28	~10	~17	~19	N/A	N/A
Data are expressed as the mean of duplicate assays.										
Study Number	V2654M-SPD489								V01578M-SPD541	
Location in CTD	5.3.2.2-13								5.3.2.2-14	

2.6.5.16 薬物動態試験： その他

2.6.5.16.1 薬物動態試験： *In Vitro* 吸収

2.6.5.16.1.1 Substrate Assessment of LDX for PEPT1 using Caco-2 Cells

Test Article: LDX dimesylate

<table>
<tr><td>Test System</td><td colspan="5">Caco-2 cells with functional PEPT1</td></tr>
<tr><td>Concentration (μmol/L)</td><td colspan="5">Step1:10, Step2:10, 100, 1000</td></tr>
<tr><td>Positive control (Concentration)</td><td colspan="5">Cephalexin (10 μmol/L)</td></tr>
<tr><td>Inhibitors (Concentration)</td><td colspan="5">Gly-sar (5 mmol/L)</td></tr>
<tr><td>Incubation</td><td colspan="5">At 37°C for 2 hours</td></tr>
<tr><td>Sample</td><td colspan="5">Apical side solution, Basal side solution</td></tr>
<tr><td>Analyte</td><td colspan="5">Cepahlexin, LDX, d-Amphetemine</td></tr>
<tr><td>Assay</td><td colspan="5">LS/MS/MS</td></tr>
<tr><td rowspan="5">Step 1: Substrate Assessment of LDX for PEPT1</td><td colspan="5">P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)</td></tr>
<tr><td colspan="2">Cephalexin</td><td colspan="3">LDX dimesylate [a]</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Without Gly-sar</td><td rowspan="2">With Gly-sar</td><td colspan="2">Without Gly-sar</td><td colspan="2">With Gly-sar</td></tr>
<tr><td>LDX</td><td>d-Amphetamine</td><td>LDX</td><td>d-Amphetamine</td></tr>
<tr><td>Apical to Basal</td><td>0.64 ± 0.08</td><td>0.38 ± 0.12 *</td><td>0.33 ± 0.04</td><td>0.34 ± 0.13</td><td>0.22 ± 0.03 *</td><td>0.08 ± 0.01 *</td></tr>
<tr><td colspan="3"></td><td colspan="2">0.67 ± 0.17</td><td colspan="2">0.30 ± 0.04 *</td></tr>
<tr><td rowspan="5">Step 2: Concentration-dependent LDX Transport Mediated by PEPT1</td><td colspan="6">P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)</td></tr>
<tr><td colspan="6">LDX dimesylate [a]</td></tr>
<tr><td colspan="2">10 μmol/L</td><td colspan="2">100 μmol/L</td><td colspan="2">1000 μmol/L</td></tr>
<tr><td>LDX</td><td>d-Amphetamine</td><td>LDX</td><td>d-Amphetamine</td><td>LDX</td><td>d-Amphetamine</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Apical to Basal</td><td>0.27 ± 0.06</td><td>0.47 ± 0.07</td><td>0.23 ± 0.02</td><td>0.35 ± 0.07</td><td>0.25 ± 0.07</td><td>0.23 ± 0.06 †</td></tr>
<tr><td colspan="2">0.75 ± 0.12</td><td colspan="2">0.58 ± 0.08</td><td colspan="2">0.48 ± 0.12</td></tr>
<tr><td colspan="6">Abbreviation: Gly-sar, glycyl-sarcosine.
Data are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays.
a: Data in the bottom cell are expressed as the sum of LDX and d-amphetamine
* P<0.05 compared to the corresponding groups without Gly-sar, † P<0.05 compared to the corresponding 10-μmol/L group (Student's t test).
All cell monolayers passed postexperimental lucifer yellow test.</td></tr>
<tr><td>Study Number</td><td colspan="5">V01442M-SPD489</td></tr>
<tr><td>Location in CTD</td><td colspan="5">5.3.2.3-01</td></tr>
</table>

2.6.5.16.1.2 Substrate Assessment of LDX for PEPT1 using PEPT1-overexpressed Caco-2 Cells

Test Article: LDX dimesylate

<table>
<tr><td>Test System</td><td colspan="5">Caco-2 cells (control) and PEPT1-overexpressed Caco-2 cells (pretreated with Gly-sar)</td></tr>
<tr><td>Concentration (μmol/L)</td><td colspan="5">10</td></tr>
<tr><td>Positive control (Concentration)</td><td colspan="5">Cephalexin (10 μmol/L)</td></tr>
<tr><td>Inhibitors (Concentration)</td><td colspan="5">Gly-sar (5 mmol/L)</td></tr>
<tr><td>Incubation</td><td colspan="5">At 37°C for 2 hours</td></tr>
<tr><td>Sample</td><td colspan="5">Apical side solution, Basal side solution</td></tr>
<tr><td>Analyte</td><td colspan="5">Cepahlexin, LDX, d-Amphetemine</td></tr>
<tr><td>Assay</td><td colspan="5">LS/MS/MS</td></tr>
<tr><td rowspan="5">Caco-2 cells</td><td colspan="5">Apical to Basal P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)</td></tr>
<tr><td colspan="2">Cephalexin</td><td colspan="3">LDX dimesylate [a]</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Without Gly-sar</td><td rowspan="2">With Gly-sar</td><td colspan="2">Without Gly-sar</td><td colspan="2">With Gly-sar</td></tr>
<tr><td>LDX</td><td>d-Amphetamine</td><td>LDX</td><td>d-Amphetamine</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Control</td><td rowspan="2">0.81 ± 0.30</td><td rowspan="2">0.37 [b]</td><td>0.20 ± 0.08</td><td>0.19 ± 0.03</td><td>0.20 [c]</td><td>0.12 ± 0.01 †</td></tr>
<tr><td colspan="2">0.39 ± 0.10</td><td colspan="2">0.31 [c]</td></tr>
<tr><td rowspan="2">PEPT1 over-expressed</td><td rowspan="2">1.47 ± 0.02 *</td><td rowspan="2">0.46 ± 0.07 †</td><td>0.19 ± 0.04</td><td>0.32 ± 0.02 *</td><td>0.13 ± 0.01</td><td>0.17 ± 0.01 †</td></tr>
<tr><td colspan="2">0.51 ± 0.06</td><td colspan="2">0.31 ± 0.01 †</td></tr>
<tr><td colspan="6">Data are expressed as the mean ± S.D. of triplicate assays.
a: Data in the bottom cell are expressed as the sum of LDX and d-amphetamine. b: Value of single assay. c: Mean of duplicate assays.
* P<0.05 compared to the control cells, † P<0.05 compared to the corresponding groups without Gly-sar (Student's t test).</td></tr>
<tr><td>Study Number</td><td colspan="5">V01623M-SPD489</td></tr>
<tr><td>Location in CTD</td><td colspan="5">5.3.2.3-02</td></tr>
</table>