目次

1. まとめ....9
2. 分析法....16
2.1 トキシコキネティクスのバリデーション....16
2.2 薬物動態試験に用いた分析法....16
2.3 投与液....17
2.4 検体の処理方法....17
3. 吸収....19
3.1 In vitro 細胞透過性試験....19
3.1.1 キザルチニブの Caco-2 細胞単層膜透過性....19
3.1.2 P 糖タンパクを介するキザルチニブの輸送の評価....19
3.2 In vivo 薬物動態試験....19
3.2.1 マウス....19
3.2.1.1 マウスでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性....19
3.2.2 ラット....21
3.2.2.1 ラットでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性....21
3.2.2.2 ラットでのキザルチニブ反復投与時の薬物動態....22
3.2.3 イヌ....22
3.2.3.1 イヌでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性....22
3.2.4 サル....24
3.2.4.1 サルでのキザルチニブの薬物動態....24
4. 分布....26
4.1 組織分布....26
4.1.1 ラットでの［^{14}C］キザルチニブの組織分布及び QWBA 試験....26
4.1.2 Long-Evans ラットでの［^{14}C］キザルチニブの組織分布試験及び臨床試験に際しての吸収線量の予測....31
4.2 タンパク結合率試験....34
4.2.1 キザルチニブの血漿タンパク結合率（ヒト、サル、イヌ、ラット、及びマウス）34
4.2.2 AC886 の血漿タンパク結合率（ヒト、サル、イヌ、ラット、及びマウス）....35
4.2.3 キザルチニブのヒト血漿タンパク結合率（ヒト血清アルブミン及び AAGP 分画を含む）....35
4.3 その他の分布試験....36
4.3.1 ラットでの脳への分布....36
4.3.2 ヒトでの血漿中／全血中濃度比....36
5. 代謝（種間比較）....37

5.1 In vitro 37
5.1.1 ラット、イヌ、サル、及びヒト肝細胞を用いた代謝安定性試験 37
5.1.2 非臨床動物種及びヒトの肝ミクロソームを用いた安定性及び代謝試験 37
5.1.3 ヒト肝 S9 を用いたキザルチニブ及び AC886 の安定性試験 37
5.1.4 ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いたキザルチニブの CYP 分子種同定試験 38
5.1.5 ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いた AC886 の CYP 分子種同定試験 38
5.1.6 ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いたキザルチニブから AC886 生成の CYP 分子種同定試験 39
5.2 In vivo 39
5.2.1 マウス 39
5.2.1.1 マウスでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態 39
5.2.2 ラット 40
5.2.2.1 ラットでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態 40
5.2.2.2 ラットでの AC886 の薬物動態 40
5.2.2.3 ラットでの［^{14}C］キザルチニブの代謝物プロファイル 41
5.2.2.4 ラット胆汁中のキザルチニブの代謝物プロファイル 42
5.2.3 イヌ 43
5.2.3.1 ビーグル犬でのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態（製剤の比較） 43
5.2.3.2 イヌでの［^{14}C］キザルチニブの代謝物プロファイル 44
5.2.4 サル 45
5.2.4.1 カニクイザルでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態（製剤の比較） 45
5.3 その他 46
5.3.1 キザルチニブを投与したラットの肝臓及び腎臓組織中の代謝物プロファイル 46
5.3.2 キザルチニブを投与したビーグル犬の肝臓及び腎臓組織中の代謝物プロファイル 47
6. 排泄 48
6.1 ［^{14}C］キザルチニブのマスバランス試験 48
6.1.1 ラットでの［^{14}C］キザルチニブのマスバランス試験 48
6.1.2 イヌでの［^{14}C］キザルチニブのマスバランス試験 48
6.2 胆汁排泄 49
6.2.1 ラットでのキザルチニブ及び AC886 の胆汁排泄 49
7. 薬物動態学的薬物相互作用 50
7.1 In vitro 50
7.1.1 キザルチニブによる CYP 阻害作用 50
7.1.2 AC886 による CYP 阻害作用 50

7.1.3 CYP3A4、CYP2C19、及び CYP2C8 に対する AC886 の Ki 値の決定....50
7.1.4 CYP 分子種に対するキザルチニブ及び AC886 の時間依存的阻害作用....51
7.1.5 キザルチニブの CYP 誘導作用....52
7.1.6 キザルチニブ及び AC886 とトランスポーターとの相互作用....53
7.1.7 キザルチニブの P 糖タンパクとの相互作用....53
7.1.8 AC886 の P 糖タンパクとの相互作用....54
7.1.9 キザルチニブ及び AC886 とシタラビンの間の in vitro 薬物相互作用試験....54
7.2 In vivo....54
8. その他の薬物動態試験....55
9. 考察及び結論....56
9.1 吸収....56
9.2 分布....57
9.3 代謝....57
9.4 排泄....58
9.5 薬物相互作用....58
9.6 結論....58
10. 参考文献一覧....60

表一覧

表 2.6.4.1-1　キザルチニブの薬物動態試験の概要: 吸収 10
表 2.6.4.1-2　キザルチニブの薬物動態試験の概要: 分布 12
表 2.6.4.1-3　キザルチニブの薬物動態試験の概要: 代謝 13
表 2.6.4.1-4　キザルチニブの薬物動態試験の概要: 排泄 14
表 2.6.4.1-5　キザルチニブの薬物動態試験の概要: 薬物－薬物相互作用 15
表 2.6.4.2-1　動物血漿中のキザルチニブ及び AC886 の分析法 16
表 2.6.4.3-1　マウスにおけるキザルチニブの薬物動態パラメータ 21
表 2.6.4.3-2　ラットにおけるキザルチニブの薬物動態パラメータ 22
表 2.6.4.3-3　イヌにおける 5%又は 22% HPβCD を溶媒とする経口及び静脈内投与後のキザルチニブの薬物動態パラメータ 24
表 2.6.4.3-4　サルにおけるキザルチニブの薬物動態パラメータ 25
表 2.6.4.4-1　組織中の平均放射能濃度（雄 SD ラット） 27
表 2.6.4.4-2　組織中の平均放射能濃度（雌 SD ラット） 28
表 2.6.4.4-3　雌雄アルビノラットへの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩 30 mg/kg の単回経口投与後の組織中放射能濃度（キザルチニブ µg-equiv/g 検体）（QWBA） 29
表 2.6.4.4-4　キザルチニブの血漿タンパク結合率 35
表 2.6.4.4-5　AC886 の血漿タンパク結合率 35
表 2.6.4.5-1　ラットにおける総放射能、キザルチニブ、及び AC886 の薬物動態パラメータ 42
表 2.6.4.5-2　ラットにおける投与放射能に対する主要代謝物の比率（%） 42
表 2.6.4.5-3　イヌにおける総放射能、キザルチニブ、AC886、及び溶出時間 42 分のピークの血漿中薬物動態パラメータ 45
表 2.6.4.5-4　イヌにおける投与放射能に対する主要代謝物の比率（%） 45
表 2.6.4.5-5　サルにおけるキザルチニブ及び AC886 の薬物動態パラメータ 46
表 2.6.4.6-1　SD ラットにおける投与放射能の回収率 48
表 2.6.4.6-2　イヌでの投与放射能の回収率 49
表 2.6.4.7-1　ヒト肝ミクロソームの CYP 活性に対するキザルチニブ及び AC886 の阻害作用 52

図一覧

図 2.6.4.2-1　ラット、イヌ、及びサル血液中のキザルチニブ及び AC886 の血球移行性.....18
図 2.6.4.4-1　雄 Sprague-Dawley ラットへの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩の単回経口投与 2 時間後における放射能分布を示す代表的な全身オートラジオグラム.....30
図 2.6.4.4-2　雌 Sprague-Dawley ラットへの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩の単回経口投与 2 時間後における放射能分布を示す代表的な全身オートラジオグラム.....31
図 2.6.4.4-3　雄有色ラットでの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩（目標投与量 6 mg/kg）の単回経口投与 2 時間後の放射能分布を示す全身オートラジオグラム.....33
図 2.6.4.4-4　雄有色ラットでの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩（目標投与量 6 mg/kg）の単回経口投与 336 時間後の放射能分布を示す全身オートラジオグラム.....34
図 2.6.4.5-1　ラット胆汁中代謝物から推定される代謝経路.....43

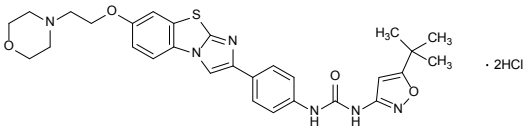
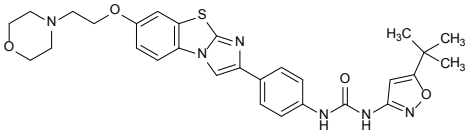
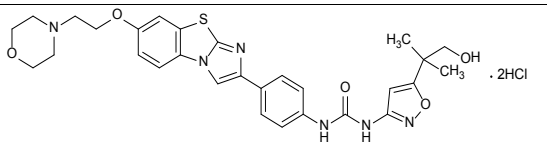
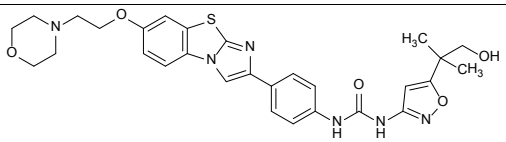
略語一覧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
μg-equiv	microgram equivalent	マイクログラム当量
AAGP	alpha 1-acid glycoprotein	α1-酸性糖タンパク質
ADME	absorption, distribution, metabolism, excretion	吸収・分布・代謝・排泄
App $T_{1/2}$	apparent elimination half-life	見かけの消失半減期
ara-U	uracil 1-β-D-arabinofuranoside	－
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCinf	area under the plasma concentration-time curve up to infinity	無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24}$	area under the plasma concentration-time curve up to 24 h	投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BDC	bile duct catheterized	胆管カテーテル留置
BSA	bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩輸送ポンプ
CL	total body clearance	全身クリアランス
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
F	absolute bioavailability	生物学的利用率
HBSS-H	Hank’s balanced salt solution with 25 mmol/L HEPES buffer solution	25 mmol/L HEPES 緩衝液を添加したハンクス平衡塩類溶液
HPβCD	2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin	2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HPLC-UV	high performance liquid chromatography with ultraviolet detection	紫外検出器を用いる高速液体クロマトグラフィー
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
IS	internal standard	内標準物質
IV	intravenous(ly)	静脈内
JVC	Juglar vein catheterized	頸静脈カテーテル留置
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数法
MATE	multidrug and toxin extrusion	－
MDCKII	Madin-Darby canine kidney strain-II	Madin-Darby イヌ腎臓由来細胞 II
MDR1	multidrug resistance 1 (gene)	multidrug resistance 1（遺伝子）
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
Papp	apparent permeability coefficient	見かけの透過係数
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク
Ki	inhibition constant	阻害定数
PO	oral(ly)	経口
PPB	plasma protein binding	血漿タンパク結合率
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量全身オートラジオグラフィー
SD	Sprague-Dawley	－
S9	9000 *g* supernatant	9000 *g* 遠心上清
$T_{1/2}$	terminal elimination half-life	終末相の消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
Tmax	time to reach maximum plasma concentration/radioactivity	最高血漿中濃度／放射能濃度到達時間

ー: 該当する表記なし

化合物一覧

一般名	化学名	構造式
キザルチニブ塩酸塩	1-(5-*tert*-Butyl-1,2-oxazol-3-yl)-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea dihydrochloride	
キザルチニブ	1-(5-*tert*-Butyl-1,2-oxazol-3-yl)-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea	
AC886 塩酸塩	1-[5-(1-Hydroxy-2-methylpropan-2-yl)-1,2-oxazol-3-yl]-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea dihydrochloride	
AC886	1-[5-(1-Hydroxy-2-methylpropan-2-yl)-1,2-oxazol-3-yl]-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea	

1. まとめ

キザルチニブ及び AC886（キザルチニブの主要代謝物）の薬物動態試験の概要を、表 2.6.5.1 に示す。本概要では、特記しない限り、投与量及び濃度はフリー体換算で表示する。

分析方法は表 2.6.5.2 に要約するとともに、2 項で論じる。ラット血漿（5～1000 ng/mL）、イヌ血漿（5～1000 ng/mL）、及びサル血漿（1～1000 ng/mL）中のキザルチニブ又はその主要な薬理活性代謝物 AC886 の濃度測定法として、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法（liquid chromatography-tandem mass spectrometry: LC-MS/MS）を用い、感度、選択性、キャリーオーバー、直線性、正確度、併行精度、精度、検体の希釈分析、及び検体の安定性に関して、分析法をバリデートした。直線性及び安定性は、キザルチニブの毒性評価に用いた範囲及び条件で確認した。単回及び反復経口投与毒性試験に用いたキザルチニブ投与液（2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン［2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin: HPβCD］の 5%～22%溶液を溶媒とする）中のキザルチニブ濃度測定法として、紫外検出器を用いる高速液体クロマトグラフィー（high performance liquid chromatography with ultraviolet detection: HPLC-UV）による分析法をバリデートした。感度、精度、正確度、直線性、選択性、及び安定性に関して分析法をバリデートし、室温及び 2°C～8°C で短期間保存した時のキザルチニブの安定性を確認した。ヒト血液中でキザルチニブ及び AC886 は温度依存的に血球に移行するため、両化合物のヒト血漿中濃度は、血液検体の処理温度の影響を受けることが示された（2.7.1.1.4）。したがって、ラット、イヌ、及びサル血液でも、検体の処理温度の影響を評価した。キザルチニブ及び AC886 のラット及びイヌ血漿中濃度は、ヒト血漿中濃度と異なり、検体処理温度（氷中又は 37°C）の影響を受けなかった。これに対し、AC886 のサル血漿中濃度は、血液検体を氷中保存した条件では 37°C で保存した条件と比べて約 4 倍高かった。一方、キザルチニブのサル血漿中濃度は保存温度（氷中又は 37°C）の影響を受けなかった。

キザルチニブの in vitro の Caco-2 細胞単層膜透過性を評価した。キザルチニブの in vitro 膜透過性は中程度であった。P 糖タンパク（P-glycoprotein: P-gp）を介するキザルチニブの輸送は、MDR1（multidrug resistance 1）発現細胞（Madin-Darby イヌ腎臓由来細胞 II［Madin-Darby canine kidney strain II: MDCKII］-MDR1 細胞）及び野生型細胞を用いて評価した。Net flux ratio は 3.6 であり、キザルチニブの基底側から管腔側への経細胞輸送は、P-gp のモデル阻害剤により阻害された。これらの結果から、キザルチニブが P-gp の基質であることが示唆された。

表 2.6.4.1-1、表 2.6.5.3、及び 3 項に要約するように、キザルチニブの静脈内又は経口投与後の薬物動態プロファイルを、薬理試験及び毒性試験に使用した動物種（nu/nu マウス、Sprague-Dawley［SD］ラット、ビーグル犬、及びカニクイザル）で評価した。薬物動態パラメータ及び用量比例性を評価したほか、性別及び食餌の影響を評価する試験を実施した。大多数の試験は、薬理試験及び毒性試験に用いたのと同じキザルチニブ投与液（5%～22% HPβCD を溶媒とする）を用いて実施した。

薬物動態試験では、キザルチニブの曝露量はマウスで 0.1～100 mg/kg の範囲、ラットで 3～300 mg/kg の範囲、イヌで 1～25 mg/kg の範囲で概ね用量に比例して増加することが明らか

になった。サルでは、3 mg/kg 単回投与による薬物動態試験を実施した。

ラットでは、キザルチニブの平均血漿中曝露量が、雌で雄の 1.4～2 倍であった。さらにラットを用いた薬物動態試験では、キザルチニブのバイオアベイラビリティが、絶食下の 42%から食餌によりほぼ 100%まで上昇したことから、キザルチニブの吸収が食餌により増加することが示唆された。

雌雄ラットにキザルチニブ 1 又は 10 mg/kg／日を 28 日間連日経口投与したときのキザルチニブの薬物動態を検討した。ラットでのキザルチニブの曝露量は、概ね投与量比を上回る上昇を示したほか、反復投与により上昇した。ラットでは、投与 1 及び 28 日目のいずれにおいても、キザルチニブの曝露量は概ね雌で雄と比較して高く、この傾向は 10 mg/kg／日の投与量でより顕著であった。

イヌにおいて、雌の曝露量は雄よりも高かった。雄の 1 mg/kg、10 mg/kg、及び 25 mg/kg 経口投与後のバイオアベイラビリティは、29%～33%であった。

サルではクリアランスが高く、バイオアベイラビリティが低値（15%）であり、プロファイルに性差はみられなかった。

表 2.6.4.1-1　キザルチニブの薬物動態試験の概要: 吸収

試験	試験系	投与経路	添付資料番号
In vitro			
Caco-2 細胞透過性	Caco-2 細胞	In vitro	4.2.2.2-1
P-gp 基質性の評価	MDCKII-MDR1 細胞及び野生型細胞	In vitro	4.2.2.2-2
In vivo 薬物動態試験			
単回投与薬物動態	nu/nu マウス	強制経口	4.2.2.2-3
単回投与薬物動態	nu/nu マウス	強制経口	4.2.2.2-4
単回投与薬物動態	SD ラット	静脈内、強制経口	4.2.2.2-5
反復投与薬物動態	SD ラット	強制経口	4.2.2.2-6
単回投与薬物動態	ビーグル犬	静脈内、強制経口	4.2.2.2-7
単回投与薬物動態	ビーグル犬	強制経口	4.2.2.2-8
単回投与薬物動態	カニクイザル	静脈内、強制経口	4.2.2.2-9

MDCK: Madin-Darby イヌ腎臓由来、SD: Sprague-Dawley、MDR1: multidrug resistance 1、P-gp: P 糖タンパク

分布試験については、表 2.6.4.1-2、表 2.6.5.5、表 2.6.5.6、表 2.6.5.8、及び 4 項に要約する。雌雄アルビノラットに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を単回経口投与したとき、キザルチニブ由来放射能は投与後 24 時間を通して広範な組織分布を示した。組織中放射能濃度がピークに達したのは、大半の組織で投与 2 又は 4 時間後であった。定量全身オートラジオグラフィー（quantitative whole body autoradiography: QWBA）において、最高放射能濃度到達時間（time to reach maximum radioactivity: Tmax）での放射能濃度が高かった組織（>10 µg-equiv［µg

equivalent］/g）は、胃、小腸、副腎、肝臓、腎臓髄質、脳下垂体、腎皮質、膵臓、脾臓、甲状腺、褐色脂肪組織、下顎唾液腺、胃壁、心筋、卵巣、大腸、肺、胸腺、白色脂肪組織、骨髄、リンパ節、子宮壁、及び前立腺であった。消化管内容物、並びに排泄及び代謝に関連する器官（肝臓及び腎臓）でも、高濃度の放射能が検出され、胆汁排泄及び腎排泄が示唆された。投与後 24 時間のうち、血中放射能濃度が最も高かった時点は、雄で投与 2 時間後、雌で投与 4 時間後であった。Tmax における放射能濃度が特に低かった組織は、中枢神経系（central nervous system: CNS）及び骨であった。放射能濃度は、水晶体では試験全体を通して定量下限未満、CNS（雄）及び乳腺（雌）では投与 24 時間及び 4 時間後に定量下限未満となったが、それ以外の全組織では放射能濃度を定量可能であった。放射性標識体［^{14}C］キザルチニブ（100 μCi）を用いる臨床試験に際して吸収線量を算出するため、有色 Long-Evans ラットで試験を実施したところ、有色組織であるブドウ膜の放射能濃度が最も緩徐に低下したが、有色組織である皮膚の放射能濃度は投与 336 時間後までにほぼ定量下限未満まで低下し、［^{14}C］キザルチニブ由来放射能とメラニンとの結合が可逆的であることが示唆された。

キザルチニブの血漿タンパク結合率（plasma protein binding: PPB）は検討したすべての動物種（マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒト）で高かった（≥99%）。ヒト α1-酸性糖タンパク質（alpha 1-acid glycoprotein: AAGP）に対するキザルチニブの結合率は測定できず、ヒト血清アルブミン（human serum albumin: HSA）（300 μM）に対する結合率は、総血漿タンパクに対する結合率と同程度であった。AC886 のヒト PPB も高かった（≥99%）。ラットでは、静脈内又は経口投与後のキザルチニブの脳内移行性は低く（いずれの投与経路を用いた場合でも、脳－血漿比は約 10%～25%）、脳脊髄液（cerebrospinal fluid: CSF）中では検出されなかった。

37°C のヒト全血にキザルチニブ又は AC886 を添加したときの血漿中濃度は、全血への添加濃度、あるいは、全血中濃度の測定値とほぼ等しかったか全血中濃度以下であったことから、両化合物が血球に分布又は吸着されることが示唆された。

表 2.6.4.1-2　キザルチニブの薬物動態試験の概要: 分布

試験	試験系	投与経路	添付資料番号
臓器分布			
組織分布	SD ラット	強制経口	4.2.2.3-1
定量的組織分布及び全身オートラジオグラフィー	Long-Evans ラット	強制経口	4.2.2.3-2
タンパク結合			
血漿タンパク結合率	マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒト	In vitro	4.2.2.3-3
血漿中の結合タンパク	ヒト	In vitro	4.2.2.3-4
その他の組織分布			
脳内移行性	SD ラット	静脈内 強制経口	4.2.2.3-5
血中での血球移行性	ヒト	In vitro	4.2.2.3-6
血中での血球移行性	ヒト	In vitro	4.2.2.3-7
血中での血球移行性	ヒト	In vitro	4.2.2.3-8

SD: Sprague-Dawley

キザルチニブの代謝プロファイルを、表 2.6.4.1-3、表 2.6.5.9～表 2.6.5.11、及び 5 項に要約する。

マウス、ラット、及びヒト肝ミクロソームとインキュベートしたときのキザルチニブの固有クリアランスは低値を示した。イヌ及びカニクイザルの肝ミクロソームでのクリアランスは、それぞれ中程度及び高値であった。検討した 4 種の動物種で *N*-脱エチル体（−26 質量単位、モルフォリン環の開環及び開裂）が認められた。また、モルフォリン側鎖の複数の酸化的代謝物（水酸化、脱水素、ケト基の生成、及び開環）がイヌ、サル、及びヒト肝ミクロソームで認められた。モルフォリン側鎖の酸化には種差がみられ、イヌ、サル、又はヒト特異的な代謝物が認められた。サル及びヒト肝ミクロソームとともにインキュベートしたとき、tert-ブチルイソキサゾールの酸化体が認められた。チトクロム P450（cytochrome P450: CYP）分子種同定試験により、キザルチニブ、AC886 はともに CYP3A4 及び CYP3A5 の基質であること、また、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 又は CYP2D6 の関与はほとんど又は全くないことが示された。キザルチニブは組換えヒト CYP3A4 及び CYP3A5 により AC886 に変換されることが確認され、肝の 9000 *g* 遠心上清（9000 *g* supernatant: S9）でのキザルチニブの代謝安定性は肝ミクロソームでの安定性と同程度であった。

［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩をラットに投与し、血漿中及び糞中代謝物プロファイルを検討した結果、ラット血漿中の主要代謝物が AC886 であることが示された。いずれの測定時点（投与 2、4、又は 24 時間後）においても、AC886 以外に比率として 6.1%超を占める血漿中代謝物は検出されなかった。イヌでは、後半の測定時点における血中主要代謝物は AC886 であったが、比率として 15%超を占める主要代謝物がもう 1 種（モルフォリン環の酸化体と同定）検出された。いずれの測定時点（投与 2、4、又は 24 時間後）においても、その他に比率として 8.2%超を占める血中代謝物は検出されなかった。これらの結果から、血漿中代謝物プロ

ファイルは、ラットとイヌの間で種差を示した。ヒトでは、[^{14}C]キザルチニブ塩酸塩投与後の血漿中の主要成分が、未変化体及び AC886 であったことから（2.7.2.2.2）、ラットでの血漿中代謝物プロファイルはヒトでのプロファイルと類似する。

表 2.6.4.1-3　キザルチニブの薬物動態試験の概要：代謝

試験	試験系	投与経路	添付資料番号
In vitro			
キザルチニブの代謝安定性	肝細胞（ラット、イヌ、サル、ヒト）	In vitro	4.2.2.4-1
キザルチニブの代謝安定性	肝ミクロソーム（マウス、ラット、イヌ、サル、ヒト）	In vitro	4.2.2.4-2
キザルチニブの代謝安定性	ヒト肝 S9	In vitro	4.2.2.4-3
AC886 の代謝安定性	ヒト肝 S9	In vitro	4.2.2.4-3
キザルチニブの CYP 分子種同定	ヒト肝ミクロソーム、組換えヒト CYP 分子種	In vitro	4.2.2.4-4
AC886 の CYP 分子種同定	ヒト肝ミクロソーム、組換えヒト CYP 分子種	In vitro	4.2.2.4-4
キザルチニブから AC886 生成の CYP 分子種同定	ヒト肝ミクロソーム、組換えヒト CYP 分子種	In vitro	4.2.2.4-4
In vivo			
単回投与薬物動態	nu/nu マウス	強制経口	4.2.2.4-5
単回投与薬物動態	SD ラット	強制経口	4.2.2.4-6
単回投与薬物動態	SD ラット	静脈内 強制経口	4.2.2.4-7
ラットでの in vivo 代謝物プロファイルの検討	SD ラット	強制経口	4.2.2.3-1
ラットでの代謝経路	SD ラット	強制経口	4.2.2.4-8
反復投与薬物動態	SD ラット	強制経口	4.2.2.2-6
単回投与薬物動態（製剤間の比較）	ビーグル犬	強制経口	4.2.2.4-9
イヌでの in vivo 代謝物プロファイルの検討	ビーグル犬	強制経口	4.2.2.4-10
単回投与薬物動態（製剤間の比較）	カニクイザル	強制経口	4.2.2.4-11
その他			
腎ホモジネートにおける in vivo 代謝物プロファイルの検討	SD ラット	強制経口	4.2.2.4-12
肝ホモジネートにおける in vivo 代謝物プロファイルの検討	ビーグル犬	強制経口	4.2.2.4-13

CYP: チトクロム P450、SD: Sprague-Dawley、S9: 9000 *g* 遠心上清

キザルチニブの排泄プロファイルを、表 2.6.4.1-4、表 2.6.5.13、表 2.6.5.14、及び 6 項に要約する。

[^{14}C]キザルチニブの非臨床吸収・分布・代謝・排泄（absorption, distribution, metabolism, and excretion: ADME）試験では、キザルチニブの主要排泄経路が糞中であることが示された。[^{14}C]キザルチニブを用いたラット及びイヌ ADME 試験では、キザルチニブ関連総放射能の尿中回収率が 2%未満である一方（雄及び雌ラットでそれぞれ 1.53%及び 1.68%、雄及び雌

イヌでそれぞれ 0.52%及び 0.70%）、糞中回収率が 87%を上回ることが示された。雄及び雌ラットでは、投与量のそれぞれ 25.32%及び 18.98%がキザルチニブとして、7.81%及び 9.09%が AC886 として糞中から回収された。雄及び雌イヌでは、投与量のそれぞれ 47.73%及び 21.06%がキザルチニブとして、12.50%及び 13.89%が AC886 として糞中から回収された。ラット試験では、キザルチニブ及び AC886 が他の数種の代謝物とともに胆汁中に直接排泄されることが示され、胆汁排泄が排泄経路であることが裏付けられた。ラットでの胆汁中代謝物プロファイルを検討したところ、キザルチニブの主要代謝経路では、イソキサゾール側鎖が酸化及び抱合を受け、モルフォリン環が酸化を受け開裂することが示された。この主要代謝経路はヒトにおいても認められた（2.7.2.2.2.1）。

表 2.6.4.1-4　キザルチニブの薬物動態試験の概要: 排泄

試験	試験系	投与経路	添付資料番号
排泄			
ラットマスバランス試験	SD ラット	強制経口	4.2.2.3-1
イヌマスバランス試験	ビーグル犬	強制経口	4.2.2.4-10
胆汁中排泄			
胆汁中排泄	SD ラット	強制経口	4.2.2.4-8

SD: Sprague-Dawley

薬物動態学的薬物相互作用試験については、表 2.6.4.1-5、表 2.6.5.12、及び 7 項に要約する。

In vitro 試験では、キザルチニブが主要なヒト CYP 分子種に対する阻害作用（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4; 50%阻害濃度［50% inhibitory concentration: IC_{50}］> 40 µM）、及び誘導作用（CYP3A4、CYP1A2、及び CYP2B6）を有さないことが示された。AC886 は、CYP2C19 に対する弱い阻害作用（inhibition constant [Ki] = 10.4 µM）を有するが、その他 6 種の分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2D6: IC_{50} > 40 µM、CYP2C8: Ki = 60.8 µM 及び CYP3A4: Ki = 48.9 µM）を阻害しないことが明らかになった。AC886 は臨床上意味のある濃度で CYP 阻害作用を示さないと考えられる。キザルチニブ及び AC886 はいずれも、30 µM までの濃度で、シタラビンからの代謝物 ara-U（uracil 1-β-D-arabinofuranoside）生成を阻害しなかった。

ヒトトランスポーター発現 MDCKII 細胞を用いた in vitro 試験では、キザルチニブは、濃度 10 µM で有機アニオントランスポーター（organic anion transporter: OAT）1、OAT3、有機カチオントランスポーター（organic cation transporter: OCT）1、OCT2、有機アニオン輸送ポリペプチド（organic anion transporting polypeptide: OATP）1B1、OATP1B3、multidrug and toxin extrusion（MATE）1、及び乳癌耐性タンパク質（breast cancer resistance protein: BCRP）に対する阻害作用を示さず、MATE2-K に対する弱い阻害作用、及び胆汁酸塩輸送ポンプ（bile salt export pump: BSEP）に対する阻害作用を示した（IC_{50} = 4.92 µM）。AC886 は、濃度 10 µM で OAT1、OAT3、OCT1、OATP1B1、及び OATP1B3 に対する阻害作用を示さず、OCT2、MATE1、

MATE2-K、及び BCRP に対する弱い阻害作用を示した。しかし、BSEP を除く上記の評価したいずれのトランスポーターに対するキザルチニブ及び AC886 の IC_{50} 値は、10 µM 超であった。

MDCKII-MDR1 細胞を用いた in vitro 試験では、P-gp を介する輸送に対するキザルチニブ及び AC886 の IC_{50} 値は、それぞれ 9.55 µM 及び 30 µM 超であった。

表 2.6.4.1-5　キザルチニブの薬物動態試験の概要: 薬物－薬物相互作用

試験	試験系	投与経路	添付資料番号
薬物相互作用			
キザルチニブによる CYP 阻害作用	ヒト肝ミクロソーム	In vitro	4.2.2.6-1
キザルチニブによる CYP2B6 及び CYP2C8 阻害作用	ヒト肝ミクロソーム	In vitro	4.2.2.6-2
AC886 による CYP 阻害作用	ヒト肝ミクロソーム	In vitro	4.2.2.6-3
AC886 による CYP2B6 及び CYP2C8 阻害作用	ヒト肝ミクロソーム	In vitro	4.2.2.6-4
CYP3A4、CYP2C19、及び CYP2C8 に対する阻害定数（inhibition constant: Ki）の決定	ヒト肝ミクロソーム	In vitro	4.2.2.6-5
CYP3A4、CYP2C19、及び CYP2C8 に対するキザルチニブの時間依存的阻害作用	ヒト肝ミクロソーム	In vitro	4.2.2.6-6
キザルチニブの CYP 誘導作用	ヒト肝細胞	In vitro	4.2.2.6-8
トランスポーター試験	トランスポーターを発現させた MDCKII 細胞及び Sf9 昆虫細胞由来ベシクル	In vitro	4.2.2.6-9
キザルチニブによる P-gp 阻害作用	MDCKII-MDR1 細胞	In vitro	4.2.2.6-11
BCRP 及び P-gp 阻害作用	BCRP 及び P-gp を発現させた MDCKII 細胞	In vitro	4.2.2.6-10
AC886 による P-gp 阻害作用	MDCKII-MDR1 細胞	In vitro	4.2.2.6-12
CYP 分子種に対するキザルチニブ及び AC886 の時間依存的阻害作用	ヒト肝ミクロソーム	In vitro	4.2.2.6-7
シタラビンとの in vitro DDI	ヒト肝ミクロソーム	In vitro	4.2.2.6-13

BCRP: 乳癌耐性タンパク質、CYP: チトクロム P450、DDI: 薬物－薬物相互作用、MDCK: Madin-Darby イヌ腎臓由来、MDR1: multidrug resistance 1、P-gp: P 糖タンパク

2. 分析法

2.1 トキシコキネティクスのバリデーション

添付資料番号：4.2.2.1-1、4.2.2.1-2、4.2.2.1-3、4.2.2.1-4、4.2.2.1-5、及び 4.2.2.1-6

ラット、イヌ、及びサル血漿中のキザルチニブ、並びにラット及びサル血漿中の AC886 の定量法をバリデートした。これらのバリデーション試験（表 2.6.4.2-1）では、抗凝固剤（エチレンジアミン四酢酸二カリウム塩）処理した血漿から、キザルチニブ、AC886、及び内標準物質（internal standard: IS）を固相抽出又は液液抽出により抽出した。抽出液中の分析対象物質を LC-MS/MS 法にて分析した。内標準物質に対する分析対象物質のピーク面積比又はピーク高さ比を用いて結果を算出し、重み付き（1/X 又は $1/X^2$）線形最小二乗／回帰法にて検量線を作成した。特定の IS に対するキザルチニブ又は AC886 の比を用いた検量線を作成し、この検量線から濃度を求めた。ガイダンス[1]に従い、選択性、感度、キャリーオーバー、直線性、分析単位内及び分析単位間の真度及び精度、検体の希釈分析、並びに検体の安定性の基準に照らして、分析法をバリデートした。品質管理用検体の分析結果の精度及び真度は、判定基準内であった。ラット、イヌ、及びサル血漿で直線性が示された。クロマトグラフ上のキザルチニブ及び AC886 の保持時間範囲では、有意なキャリーオーバーはみられなかった。以上のバリデーション試験の結果から、標準物質及び被験検体は分析期間中に安定であったことが示された。

表 2.6.4.2-1　動物血漿中のキザルチニブ及び AC886 の分析法

分析対象物質	分析法	マトリックス	定量範囲（ng/mL）	添付資料番号
キザルチニブ	LC-MS/MS 前処理: 固相抽出 IS: AC279	ラット血漿	キザルチニブ: 5～1000	4.2.2.1-1
キザルチニブ、AC886	LC-MS/MS 前処理: 固相抽出 IS: AC279、AC220-d4、AC886-d4	ラット血漿（正常な成熟及び幼若動物）	キザルチニブ: 5～1000 AC886: 5～1000	4.2.2.1-2/ 4.2.2.1-3/ 4.2.2.1-4
キザルチニブ	LC-MS/MS 前処理: 固相抽出 IS: AC279	イヌ血漿	キザルチニブ: 5～1000	4.2.2.1-5
キザルチニブ、AC886	LC-MS/MS 前処理: 液体抽出 IS: AC279	サル血漿	キザルチニブ: 1～1000 AC886: 1～1000	4.2.2.1-6

IS: 内標準物質、LC-MS/MS: 液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法

2.2 薬物動態試験に用いた分析法

薬物動態試験では、適切な分析法を使用した。［^{14}C］キザルチニブを投与した動物から採取した血漿、組織、及び排泄物試料中の放射能は、液体シンチレーション計数法（liquid scintillation counting: LSC）で測定した。放射能の組織分布は、QWBA により分析した。［^{14}C］キザルチニブの代謝物分析は、高速液体クロマトグラフィー（high performance liquid chromatography: HPLC）法又は LC-MS/MS 法により実施した。

非標識キザルチニブを用いた試験においては、血漿検体、校正用標準物質、及び品質管理

用標準物質を、内標準物質を含有するアセトニトリルで抽出し、LC-MS/MS 法にて分析した。Zorbax SB-C8 又は C18 カラムを使用し、流速 0.8 又は 1.6 mL/min に設定し、0.05%ギ酸含有アセトニトリルを用いて、5%から 95%までのアセトニトリル濃度勾配にて検体を分離した。親イオンからフラグメントイオンへの質量トランジションを 561→421 に設定し、モニターした。

2.3　投与液

添付資料番号：4.2.2.1-7、4.2.2.1-8、4.2.2.1-9、4.2.2.1-10、及び 4.2.2.1-11

毒性試験に用いたキザルチニブ塩酸塩の投与液、及び不純物を添加したキザルチニブ塩酸塩の投与液の分析法をバリデートし、安定性を評価した。キザルチニブ塩酸塩の溶液（5%及び 22% HPβCD 純水溶液を溶媒とする）、又は不純物を添加したキザルチニブ塩酸塩の溶液（5% HPβCD 純水溶液を溶媒とする）を、HPLC-UV 法によりバリデートした。

いずれのパラメータも、バリデーションの許容基準内であった。各試験とも、適切な範囲にわたり直線性が示された。キザルチニブの 5% HPβCD 溶液は、濃度範囲 0.05～10 mg/mL で、室温で 1 日間、4°C で 8 日間安定であった。キザルチニブの 5% HPβCD 溶液は、濃度 0.03 mg/mL で、20°C～25°C で 25 時間、2°C～8°C で 8 日間安定であった。キザルチニブの 22% HPβCD 溶液は、濃度範囲 0.5～60 mg/mL で、室温で 4 日間、4°C で 7 日間安定であった。別の試験では、キザルチニブの 5% HPβCD 溶液は濃度範囲 0.1～10 mg/mL、キザルチニブの 22% HPβCD 溶液は濃度範囲 0.9～60 mg/mL で、室温で 24 時間、及び 4°C で 87 日間安定であった。さらに、不純物を添加したキザルチニブ溶液（5% HPβCD 純水溶液を溶媒とする）は、室温で 14 日間安定であったほか、冷蔵条件下で 8 日間安定であった。

2.4　検体の処理方法

添付資料番号：4.2.2.1-12

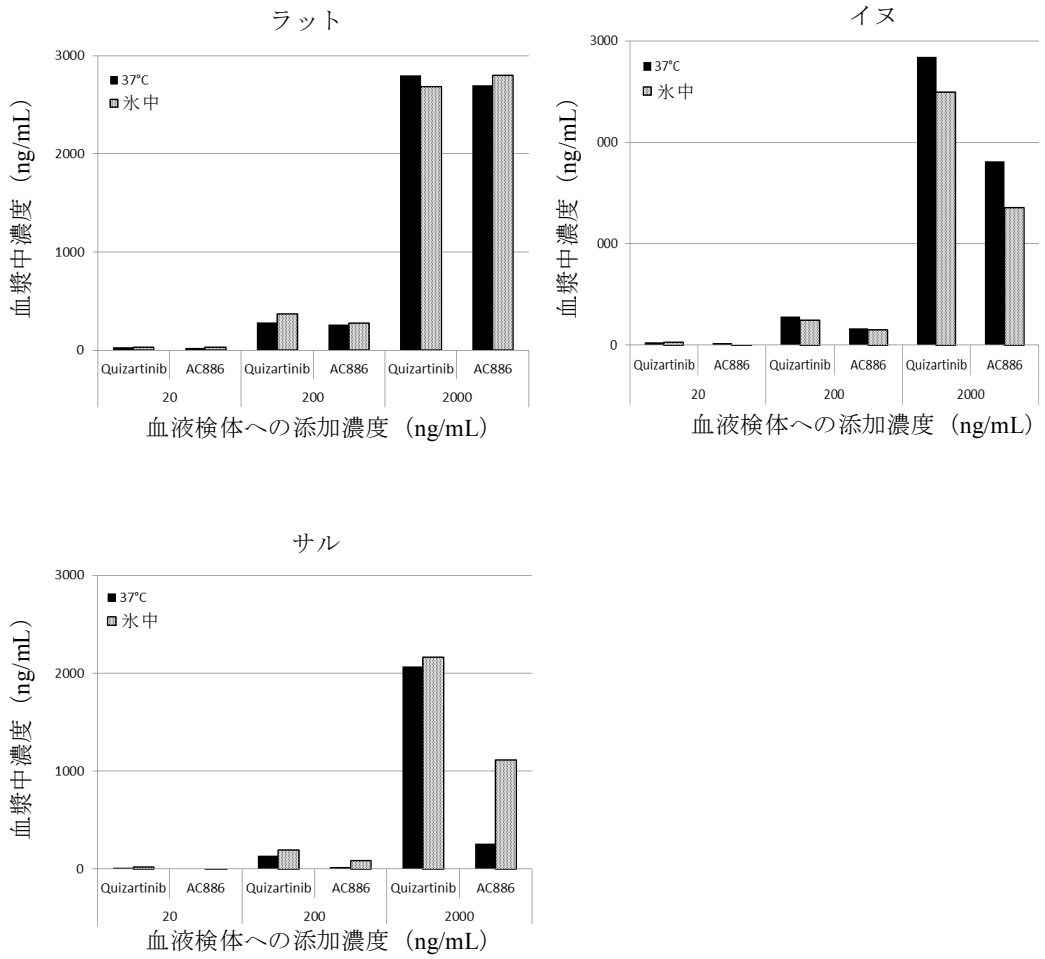
キザルチニブ及び AC886 の血漿から血球分画への移行性への温度の影響を評価するため、ラット、イヌ、及びサルから採取した血液検体を血漿分離時まで氷中又は 37°C で保存した。血漿分離前に、3 濃度のキザルチニブ塩酸塩及び AC886 塩酸塩を各血液検体に添加し、氷中又は 37°C で最長 2 時間保存した。本試験で得られた濃度は塩酸塩換算で表示した。血漿分離後、キザルチニブ及び AC886 の血漿中濃度を LC-MS/MS 法にて定量した。37°C 保存条件に対する氷中保存条件での平均濃度比も算出した。

ラット及びイヌ血液では、各被験物質の添加 120 分後におけるキザルチニブ及び AC886 の血漿中濃度に、氷中保存条件と 37°C 保存条件による差は無かった。これに対し、サル血液では、血漿中キザルチニブ濃度は氷中保存条件と 37°C 保存条件の間で差を示さなかったが、120 分後の血漿中 AC886 濃度は、氷中保存条件で 37°C 保存条件と比較して約 4 倍高かった。ラット、イヌ、及びサル血液では、検体分取開始時から終了時まで、キザルチニブ及び AC886 の血漿中濃度は変化しなかった。

以上の結果より、ラット及びイヌ血液では、キザルチニブ及び AC886 の血漿から血球分画

への移行性に温度の影響はみられなかった。これに対し、サル血液中の AC886 濃度は、氷中保存条件で 37°C 保存条件より約 4 倍高かった。一方、キザルチニブ濃度は保存温度（氷中又は 37°C）により影響を受けなかった。また、本試験条件下では、キザルチニブ及び AC886 は、ラット、イヌ、及びサル血液で時間依存的な血球移行性を示さなかった（図 2.6.4.2-1）。

図 2.6.4.2-1　ラット、イヌ、及びサル血液中のキザルチニブ及び AC886 の血球移行性



データは、ラット、イヌ、及びサル血液（3 例）へのキザルチニブ及び AC886 添加 120 分後の各被験物質の血漿中濃度（塩酸塩換算）を示す。

3. 吸収

3.1 In vitro 細胞透過性試験

3.1.1 キザルチニブの Caco-2 細胞単層膜透過性

添付資料番号：4.2.2.2-1

キザルチニブの膜透過性を評価するため、Caco-2 細胞単層膜を用いてキザルチニブの経細胞輸送を検討した。キザルチニブの管腔側から基底側方向の見かけの透過係数（apparent permeability coefficient: Papp）は、濃度 10 μM で 0.981 × 10^{-6} cm/sec であり、[^{3}H] プロプラノロールの Papp（23.8 × 10^{-6} cm/sec）と比較して低かった。

3.1.2 P 糖タンパクを介するキザルチニブの輸送の評価

添付資料番号：4.2.2.2-2

被験物質が P-gp の基質となる可能性を明らかにするため、MDCKII-MDR1 細胞及び野生型細胞（MDCKII 野生型細胞）を用いて、P-gp を介するキザルチニブの輸送を、濃度 3 μM で評価した。被験物質の使用器具への吸着及び溶液中での沈殿を低減するため、25 mmol/L HEPES 緩衝液を添加したハンクス平衡塩類溶液（Hank's balanced salt solution with 25 mmol/L HEPES buffer solution: HBSS-H、pH 7.4）にウシ血清アルブミン（bovine serum albumin: BSA）を濃度 4%（w/v）で添加した。

MDR1 発現細胞及び野生型細胞では、キザルチニブの管腔側から基底側、及び基底側から管腔側への経細胞輸送量がいずれも、インキュベーション時間 60～120 分で経時的に増加した。Net flux ratio が 3.6 であったことから、キザルチニブは、P-gp を介する輸送機構によって基底側から管腔側へと経細胞輸送されると判断され、MDR1 発現細胞と野生型細胞の間で輸送量に著しい差がみられた。

キザルチニブの基底側から管腔側への経細胞輸送は、P-gp のモデル阻害剤により阻害された。P-gp を介する輸送活性のモデル阻害剤である(±)-ベラパミル又はケトコナゾールの存在下（インキュベーション時間: 120 分）では、MDR1 発現細胞でのキザルチニブの経細胞輸送の Papp 比が、それぞれ 1.5 及び 2.5 であった。阻害剤非存在下（対照群、インキュベーション時間: 120 分）での Papp 比は 5.8 であった。

これらの結果は、キザルチニブが P-gp の基質であることを示唆している。

3.2 In vivo 薬物動態試験

3.2.1 マウス

3.2.1.1 マウスでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性

添付資料番号：4.2.2.2-3 及び 4.2.2.2-4

雌 nu/nu マウスを用いて、キザルチニブの薬物動態（初期の薬物動態スクリーニング試験では Pharmatek #6［油性溶媒］を溶媒として、用量比例性試験では 22% HPβCD を溶媒として投与液を調製）を検討した。マウス 9 例に、10 mg/kg のキザルチニブ塩酸塩を経口投与した。投与 24 時間後までの血漿中濃度－時間曲線が 3 本得られるように、マウス 1 例につき 2

～3 時点の血漿検体を採取し、キザルチニブの薬物濃度を分析した。追加の試験として、キザルチニブ投与液（22% HPβCD を溶媒とする）を 3 mg/kg、10 mg/kg、30 mg/kg、100 mg/kg、及び 300 mg/kg の投与量で経口投与したときの用量比例性を、同じ検体採取・分析手法を用いて評価した。

初期の薬物動態試験では、キザルチニブは良好な薬物動態特性を示した。

用量比例性試験では、キザルチニブは良好な薬物動態特性を示し、投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to 24 h: AUC_{0-24}）及び無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to infinity: AUCinf）はいずれも、3～100 mg/kg の範囲で投与量にほぼ比例して上昇した（表 2.6.4.3-1）。投与量の対数値と最高血漿中濃度（maximum plasma concentration: Cmax）、AUC_{0-24}、及び AUCinf の対数値との線形フィッティングによって、用量線形性を評価した。Cmax は 30 mg/kg まで、AUC_{0-24} は 100 mg/kg まで、AUCinf は 300 mg/kg までの投与量で良好な線形性を示した。ただし、300 mg/kg では、投与後の採血期間内に消失相に達しなかったため、AUCinf が過大評価された点に留意する必要がある。

追加の試験として、雌 nu/nu マウスを用いて、キザルチニブの薬物動態及び用量比例性を評価した。キザルチニブ塩酸塩の投与液（22% HPβCD を溶媒とする）を 0.1 及び 1.0 mg/kg の投与量で投与した。投与 24 時間後までの血漿中濃度－時間曲線が 3 本得られるように、マウス 1 例につき 2～3 時点の血漿検体を採取し、キザルチニブの薬物濃度を分析した。マウスへのキザルチニブ塩酸塩 3 mg/kg、10 mg/kg、30 mg/kg、100 mg/kg、及び 300 mg/kg 投与後のデータに、本試験で得た 0.1 及び 1.0 mg/kg 投与後のデータを併合し、薬物動態を再度解析した。

キザルチニブは、0.1 及び 1 mg/kg で用量比例性（3～100 mg/kg で得られたデータとの比較）を示した（表 2.6.4.3-1）。

マウスでは、キザルチニブ塩酸塩を経口投与したときの曝露量が、0.1～100 mg/kg の範囲で投与量に概ね比例して上昇した。

表 2.6.4.3-1　マウスにおけるキザルチニブの薬物動態パラメータ

投与経路	性別	キザルチニブ投与量（mg/kg）	Cmax（μM）	Tmax（h）	AUC_{0-24}（μM·h）	AUCinf（μM·h）	App $T_{1/2}$（h）
PO	雌	0.1[a]	0.04	1.2	0.18	0.31	4.3
		1[a]	0.37	1.3	3.20	3.26	4.3
		3[b]	1.37	2.3	11.51	11.66	3.7
		10[b]	3.77	1.5	34.58	35.04	3.6
		30[b]	13.69	1.3	156.97	168.63	NA
		100[b]	22.83	4	331.29	432.97	NA
		300[b]	27.11	4	463.75	1019.37[c]	NA

App $T_{1/2}$: 見かけの消失半減期、AUCinf: 無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、PO: 経口、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間、NA: 該当なし

[a] 添付資料番号：4.2.2.2-4 のデータ

[b] 添付資料番号：4.2.2.2-3 のデータ

[c] 採血終了時までに消失相に達しなかったため、過大評価された。

3.2.2　ラット

3.2.2.1　ラットでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性

添付資料番号：4.2.2.2-5

雌雄 SD ラットにキザルチニブ投与液を一連の投与量で経口及び静脈内投与し、薬物動態及び用量比例性を検討した。また、薬物動態評価では、バイオアベイラビリティに対する食餌の影響の評価、及び単回投与と 5 日間反復投与の比較も行った。キザルチニブ塩酸塩は、1 mg/kg を静脈内投与したほか、3 mg/kg、10 mg/kg、30 mg/kg、100 mg/kg、及び 300 mg/kg を経口投与した。投与 5 分後（静脈内投与のみ）、15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、6 時間、及び 24 時間後に血漿検体を採取し、キザルチニブを測定した。

雄への経口投与（22% HPβCD を溶媒とする）では、キザルチニブの AUC は、100 mg/kg までの投与量でほぼ用量比例性を示した。静脈内投与後にも、用量比例性が認められた。雄では、1～10 mg/kg 静脈内投与後の平均クリアランス（7.42 mL/min/kg）が低く、分布容積（3.09 L/kg）が高く、その結果として、終末相半減期（5.0 時間）が長くなった。雌では、クリアランス（4.71 mL/min/kg）が雄より低かったが、分布容積（2.51 L/kg）も雄より低く、その結果として、曝露量（1.5 倍）が雄より高かったが、終末相半減期（6.1 時間）は同程度であった。

経口投与後の結果から、雌雄ラットとも、キザルチニブの生物学的利用率（F）は高かった（投与量 3～30 mg/kg の範囲で、雄 36%～46%及び雌 41%～47%）。総曝露量は雌で雄の 1.4～2 倍であった。以上のデータから、ヒトを含む他の動物種でも薬物動態パラメータに性差が存在する可能性が示唆された。

ラット（雄）では、バイオアベイラビリティが食餌によりほぼ 100%まで上昇したことから、キザルチニブの吸収が食餌により増加することが示唆された。

単回投与後と 5 日間反復投与後のキザルチニブの血漿中濃度－時間曲線の比較では、キザルチニブの蓄積性が認められないこと、また、自らの代謝を誘導しないことが明らかになっ

た。

表 2.6.4.3-2　ラットにおけるキザルチニブの薬物動態パラメータ

投与経路	性別	投与量 (mg/kg)	Cmax (μM)	Tmax (h)	AUC_{0-24} (μM·h)	AUCinf (μM·h)	F_{0-24} (%)
PO	雄	3	0.58	1.7	4.51	4.62	36
		10	2.16	2.7	17.53	20.66	42
		30	5.16	2.0	56.82	59.56	46
		100	22.83	4.0	331.29	436.34@	80
		300	27.11	4.0	463.75	1037.27@	37
	雌	3	0.96	1.3	8.94	9.47	47
		10	2.43	2.0	26.79	29.02	42
		30	5.94	3.3	77.46	105.30	41
IV			CL (mL/min/kg)	Vz (L/kg)	AUC_{0-24} (μM·h)	AUCinf (μM·h)	$T_{1/2}$ (h)
	雄	1	7.11	3.37	4.15	4.34	5.5
		3	7.65	2.68	13.35	13.60	4.7
		10$	7.50	3.23	38.94	39.88	5.0
	雌	1	4.71	2.51	6.33	6.63	6.1

AUCinf: 無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、CL: 全身クリアランス、Cmax: 最高血漿中濃度、IV: 静脈内、PO: 経口、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間、$T_{1/2}$: 終末相の消失半減期、Vz: 終末相分布容積
* F_{0-24} は、静脈内投与後の投与量標準化 AUC_{0-24} データの平均値を用いて算出した。
N = 3、@: 過大評価された値、$: n = 2

3.2.2.2　ラットでのキザルチニブ反復投与時の薬物動態

添付資料番号：4.2.2.2-6

雌雄 SD ラットにキザルチニブ塩酸塩（5% HPβCD を溶媒とする投与液）1 又は 10 mg/kg／日を 28 日間連日経口投与したときのキザルチニブの薬物動態を検討した。投与量あたり雌雄各 9 例に、キザルチニブ塩酸塩を 1 日 1 回強制経口投与した。投与 1 及び 28 日目の投与後 24 時間にわたり、採取時点あたり雌雄各 3 例から血漿検体を採取し、キザルチニブを測定した。

キザルチニブの終末相の消失半減期（terminal elimination half-life: $T_{1/2}$）の値は、投与量及び性別による影響を受けなかったが、反復投与により延長傾向を示した。ラットでのキザルチニブの曝露量は、概ね投与量比を上回る上昇を示したほか、反復投与により上昇した。ラットでは、投与 1 及び 28 日目のいずれにおいても、キザルチニブの曝露量は概ね雌で雄と比較して高く、この傾向は 10 mg/kg／日でより顕著であった。

3.2.3　イヌ

3.2.3.1　イヌでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性

添付資料番号：4.2.2.2-7 及び 4.2.2.2-8

雌雄ビーグル犬に経口及び静脈内投与後のキザルチニブの薬物動態及び用量比例性を検討した。キザルチニブ塩酸塩は、雌雄に 1 mg/kg の投与量で静脈内投与したほか、雄に 1 mg/kg、

3 mg/kg、及び 10 mg/kg、雌に 10 mg/kg の投与量で経口投与した。投与 5 分後（静脈内投与のみ）、15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間、12 時間、及び 24 時間後に血漿検体を採取し、キザルチニブを測定した。

雄への経口投与（22% HPβCD を溶媒とする）では、キザルチニブの薬物動態特性は良好であり、1～10 mg/kg の範囲で投与量に相対的に比例した。投与量の対数値と Cmax 及び AUCinf の対数値との線形フィッティングによって、用量線形性を評価したところ、曝露量の両指標ともかなり高い用量線形性を示した。雄への静脈内投与後の結果から、クリアランス（6.6 mL/min/kg）が低く、分布容積（3.4 L/kg）が高いため、終末相半減期（5.9 時間）が長くなることが示された。経口バイオアベイラビリティは約 30%～40%と高かった。

雌雄の薬物動態パラメータの比較では、クリアランスは雌で雄より低く（雌で 4.4 mL/min/kg に対し、雄で 6.6 mL/min/kg）、その結果として、曝露量が雌で雄より高く（経口投与後の AUCinf は雌で 36.51 μM·h、雄で 17.11 μM·h）、終末相半減期が雌で雄より長いこと（雌で 8.6 時間に対し、雄で 5.9 時間）が示された。

薬物動態パラメータに性差が認められたことから、ヒトで薬物動態の性差を評価する必要があることが示唆された。

雄で溶媒の比較試験を実施したところ、5% HPβCD 及び 22% HPβCD を溶媒とする投与液はいずれも、乾燥粉末を充填したカプセル剤と比較して有意に良好であったが、5% HPβCD と 22% HPβCD を溶媒とする投与液の間には、明らかな差はみられなかった。

雄でのキザルチニブ（5% HPβCD を溶媒とする投与液）の用量比例性を解析するため、追加の薬物動態試験を実施した。3 例にキザルチニブ塩酸塩 25 mg/kg を経口投与した。投与後 24 時間にわたり血漿検体を連続採取し、キザルチニブを測定した。キザルチニブを 3 例に投与したものの、薬物動態パラメータの算出には 2 例のみを使用した。薬物動態データに本試験で得られた 25 mg/kg 投与後のデータを併合し、再解析した。

25 mg/kg 投与後のキザルチニブの血漿中曝露量は用量比例性を示した（添付資料番号：4.2.2.2-7 で認められた曝露量との比較）。キザルチニブの Cmax は 4.40 μM、Tmax は 2.0 時間、AUCinf は 58.98 μM·h であった。本試験の結果から得られたバイオアベイラビリティは約 30%であり、キザルチニブの血漿中曝露量は 1～25 mg/kg の範囲で概ね用量比例性を示した。3 mg/kg 群の血漿中曝露量は予想より高かったが、1 mg/kg 群、10 mg/kg 群、及び 25 mg/kg 群での F 推定値は 28%～37%であった（表 2.6.4.3-3）。

表 2.6.4.3-3　イヌにおける 5%又は 22% HPβCD を溶媒とする経口及び静脈内投与後のキザルチニブの薬物動態パラメータ

投与経路	性別	投与量 (mg/kg)	Cmax (μM)	Tmax (h)	AUCinf (μM·h)	F (%)
PO	雄	1[a]	0.23	1.2	1.33	28
		3[a]	1.68	1.0	9.11	65
		10* [a]	2.77	1.5	17.11	37
		25 * [b]	4.40	2.0	58.98	32
	雌	10[a]	3.95	1.2	36.51	53
IV		投与量 (mg/kg)	CL (mL/min/kg)	Vz (L/kg)	AUCinf (μM·h)	$T_{1/2}$ (h)
	雄	1[a]	6.6	3.4	4.67	5.9
	雌	1[a]	4.4	3.4	6.85	8.6

AUCinf: 無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、CL: 全身クリアランス、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 生物学的利用率、IV: 静脈内、PO: 経口、$T_{1/2}$: 終末相の消失半減期、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間、Vz: 終末相分布容積

* n = 2

[a] 添付資料番号：4.2.2.2-7 のデータ

[b] 添付資料番号：4.2.2.2-8 のデータ

3.2.4　サル

3.2.4.1　サルでのキザルチニブの薬物動態

添付資料番号：4.2.2.2-9

雌雄カニクイザルへの経口及び静脈内投与後のキザルチニブの薬物動態を検討した。雌雄サルにキザルチニブ塩酸塩（5% HPβCD を溶媒とする投与液）1 mg/kg を静脈内投与した。3～4 日間の休薬期間を設けた後、同じサルにキザルチニブ（22% HPβCD を溶媒とする投与液）3 mg/kg を単回強制経口投与した。投与 5 分（静脈内投与のみ）、15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間、12 時間、及び 24 時間後に血漿検体を採取し、キザルチニブを LC-MS/MS 法にて測定した。

カニクイザルでのキザルチニブの薬物動態パラメータを表 2.6.4.3-4 に要約する。サルでのキザルチニブの曝露量は中程度であることが示された。クリアランス（約 30 mL/min/kg; 肝血漿流量のオーダー）は高く、バイオアベイラビリティ（13%～15%）は低かった。比較的低い投与量（3 mg/kg）を経口投与したとき、キザルチニブの Cmax は約 0.16～0.17 μM であり、プロファイルに性差はみられなかった。

表 2.6.4.3-4　サルにおけるキザルチニブの薬物動態パラメータ

投与経路	性別	投与量 (mg/kg)	Cmax (μM)	Tmax (h)	AUCinf (μM·h)	F (%)
PO	雄	3	0.16	1.7	0.49	15
	雌	3	0.17	1.3	0.42	13
		投与量 (mg/kg)	CL (mL/min/kg)	Vz (L/kg)	AUCinf (μM·h)	$T_{1/2}$ (h)
IV	雄	1	28.4	5.2	1.1	2.1
	雌	1	29.7	4.5	1.1	1.8

AUCinf: 無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、CL: 全身クリアランス、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 生物学的利用率、IV: 静脈内、PO: 経口、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間、$T_{1/2}$: 終末相の消失半減期 Vz: 分布容積

4. 分布

4.1 組織分布

4.1.1 ラットでの［^{14}C］キザルチニブの組織分布及び QWBA 試験

添付資料番号：4.2.2.3-1

キザルチニブの ADME 特性を、［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を用いた SD ラットの 3 試験、すなわち、(1) 排泄及びマスバランス試験、(2) 薬物動態及び組織分布試験、並びに (3) QWBA 試験で検討した。このうち、分布の評価結果を本項に要約する。各試験では、雌雄 SD ラットに対し、5% HPβCD に溶解した［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を 30 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。

組織中放射能濃度は血中及び血漿中放射能濃度と並行して推移した。最高組織中濃度に達したのは、精巣（投与 24 時間後）を除く大半の組織で投与 2～4 時間後であった。雄では、血漿中 Tmax における濃度が高かった組織は、副腎、脳、精巣上体、腎臓、肝臓、消化管内容物、胃、及び膵臓であった。雌では、血漿中 Tmax における濃度が高かった組織は、脾臓、腸間膜リンパ節、骨髄、副腎、骨格筋、脳、卵巣、子宮、腎臓、肝臓、膀胱、消化管内容物、及び肺であった。肝臓中の放射能濃度はキザルチニブとその代謝物の代謝及びその後の胆汁排泄の指標と考えられる一方、腎臓及び膀胱中の放射能濃度はキザルチニブ代謝物の腎臓から尿中への排泄を示唆した。いずれの組織中の平均濃度も、血中／血漿中濃度と並行して低下した。投与 168 時間後の平均放射能濃度が高かった組織は、雄ラットでは脾臓、腎臓、腸間膜リンパ節、小腸、大腸、肝臓、副腎、及び精巣であり（範囲: 0.104～1.232 µg-equiv/g 組織）、雌ラットでは脾臓、副腎、小腸、腎臓、肝臓、腸間膜リンパ節、卵巣、子宮、骨髄、及び肺であった（範囲: 0.102～1.913 µg-equiv/g 組織）。その他のいずれの組織中の平均濃度も 0.1 µg-equiv/g 未満であった。

表 2.6.4.4-1　組織中の平均放射能濃度（雄 SD ラット）

		組織中の平均放射能濃度 （キザルチニブ µg-equiv/g 組織）			
組織の種類		2 h	4 h	24 h	168 h
血管／リンパ系	血液	**4.152**	3.991	0.698	ND[a]
	血漿	7.214	**7.406**	0.989	ND
	脾臓	**18.886**	17.241	7.731	1.232
	腸間膜リンパ節	**24.504**	21.867	3.731	0.549
	骨髄	**13.840**	7.319	2.390	0.075
排泄／代謝系	腎臓	25.857	**28.352**	6.635	0.763
	肝臓	55.032	**57.566**	7.607	0.321
	膀胱	**4.196**	3.915	0.182	ND
CNS	脳	0.834	**0.940**	0.249	ND
内分泌系	副腎	33.595	**42.677**	7.137	0.246
分泌系	膵臓	20.423	**24.358**	3.964	ND
生殖腺	精巣上体	4.453	**6.063**	3.015	0.045
	精巣	1.552	2.800	**3.124**	0.104
	卵巣	NA[b]	NA	NA	NA
	子宮	NA	NA	NA	NA
骨格系	骨格筋	**7.579**	5.424	1.325	ND
呼吸系	肺	**45.333**	28.486	4.206	0.029
消化管	消化管内容物	14.422	**15.107**	6.042	0.009
	大腸	**30.727**	28.369	13.044	0.130
	小腸	**174.778**	121.996	8.124	0.456
	胃	49.882	**165.779**	5.525	ND
その他	屍体	6.290	**6.456**	1.100	ND

各組織中の最高濃度を太字で示す。
[a]ND: 検出不能（検出限界未満）、検出不能値は 0 として算出した。
[b]NA: 該当なし。雄ラットでは保存しない組織。

表 2.6.4.4-2　組織中の平均放射能濃度（雌 SD ラット）

		組織中の平均放射能濃度（キザルチニブ µg-equiv/g 組織）			
組織の種類		2 h	4 h	24 h	168 h
血管／リンパ系	血液	3.394	**4.929**	1.287	ND[a]
	血漿	6.143	**8.385**	1.916	ND
	脾臓	19.052	**26.882**	16.133	1.913
	腸間膜リンパ節	12.573	**23.972**	6.595	0.278
	骨髄	11.557	**13.863**	3.952	0.135
排泄／代謝系	腎臓	21.135	**32.213**	9.416	0.653
	肝臓	48.693	**67.864**	16.403	0.591
	膀胱	4.102	**6.923**	1.345	ND
CNS	脳	0.894	**1.433**	0.975	ND
内分泌系	副腎	33.236	**56.082**	15.676	0.724
分泌系	膵臓	**36.697**	28.205	8.858	ND
生殖腺	精巣上体	NA[b]	NA	NA	NA
	精巣	NA	NA	NA	NA
	卵巣	14.585	**24.083**	5.564	0.276
	子宮	8.610	**14.087**	4.220	0.111
骨格系	骨格筋	8.725	**11.332**	2.178	ND
呼吸系	肺	27.742	**54.373**	8.793	0.102
消化管	消化管内容物	15.719	**16.050**	8.723	0.002
	大腸	**12.877**	11.746	10.233	0.074
	小腸	**105.765**	5.244	10.510	0.707
	胃	**193.976**	52.063	6.488	0.026
その他	屍体	4.126	**8.087**	1.300	0.011

各組織中の最高濃度を太字で示す。
[a]ND: 検出不能（検出限界未満）、検出不能値は 0 として算出した。
[b]NA: 該当なし。雌ラットでは保存しない組織。

QWBA 試験の結果、雌雄ラットに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を単回経口投与したとき、キザルチニブ由来放射能は投与後 24 時間を通して広範な組織分布を示した（表 2.6.4.4-3、図 2.6.4.4-1、及び図 2.6.4.4-2）。最高組織中濃度に達したのは、大半の組織で投与 2 又は 4 時間後であった。Tmax における放射能濃度が高かった組織は、胃、小腸、副腎、肝臓、腎臓髄質、脳下垂体、腎皮質、膵臓、脾臓、甲状腺、褐色脂肪組織、下顎唾液腺、胃壁、心筋、卵巣、大腸、肺、胸腺、白色脂肪組織、骨髄、リンパ節、子宮壁、及び前立腺であった。消化管内容物、並びに排泄及び代謝に関連する器官（肝臓及び腎臓）では、高濃度の放射能が検出され、胆汁排泄及び腎排泄が示唆された。消化管内容物を除く主な組織では、QWBA 試験と組織分布試験で得られた組織中濃度が一致し、消化管内容物中の放射能濃度は QWBA 試験で組織分布試験と比較して高かった。この原因は、組織摘出後の消化管洗浄中に消化管内容物が水で希釈されたことによる可能性が最も高い。

表 2.6.4.4-3　雌雄アルビノラットへの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩 30 mg/kg の単回経口投与後の組織中放射能濃度（キザルチニブ μg-equiv/g 検体）（QWBA）（1/2）

組織の種類	組織	雄 SD ラット			雌 SD ラット		
		2 h	4 h	24 h	2 h	4 h	24 h
血管／リンパ系	血液（心臓）	**3.533**	3.024	0.402	4.120	**4.330**	1.403
	骨髄（椎骨）	10.354	**11.502**	1.360	10.692	**11.534**	10.309
	リンパ節	8.789	**10.445**	1.165	12.185	**16.372**	5.383
	脾臓	**26.326**	19.805	4.045	**26.490**	25.304	22.952
	胸腺	8.241	**13.302**	1.635	11.001	**13.725**	7.273
排泄／代謝系	腎臓（皮質）	**38.328**	34.949	4.687	**33.519**	29.712	14.834
	腎臓（髄質）	22.909	**42.672**	5.545	15.647	**21.191**	7.615
	肝臓	**52.397**	51.100	5.094	59.001	**62.473**	22.508
	膀胱	**5.791**	0.403	0.773	9.658	**10.259**	4.109
	膀胱（内容物）	**7.611**	BQL	1.637	1.036	**6.912**	5.984
中枢／神経系	脳	**0.898**	0.775	BQL	0.981	**1.286**	0.544
	脊髄	**1.208**	0.849	BQL	**1.368**	1.141	0.611
内分泌系	副腎	**53.913**	47.938	4.356	**58.211**	44.493	31.257
	脳下垂体	**35.910**	27.033	2.794	32.354	**35.064**	10.745
	甲状腺	**26.158**	20.512	1.728	22.304	**29.362**	9.262
分泌系	膵臓	**29.211**	25.328	2.708	**35.209**	30.981	12.596
	唾液腺（下顎）	20.954	**22.372**	1.713	22.694	**28.822**	9.862
脂肪組織	脂肪組織（褐色）	**25.478**	25.419	3.015	26.504	**27.399**	13.701
	脂肪組織（白色）	8.455	**11.653**	0.403	**13.270**	11.437	3.310
皮膚	皮膚	**6.087**	4.397	3.380	**7.074**	6.028	3.065
生殖腺	精巣上体	2.728	**5.399**	2.610	NA	NA	NA
	前立腺	6.103	**10.167**	1.997	NA	NA	NA
	精嚢	**2.330**	2.015	0.608	NA	NA	NA
	精巣	0.999	2.435	**2.750**	NA	NA	NA
	乳腺	NA	NA	NA	7.582	BQL	BQL
	卵巣	NA	NA	NA	**22.003**	19.128	10.341
	子宮（壁）	NA	NA	NA	**11.521**	8.614	9.905
	膣	NA	NA	NA	**7.434**	4.747	5.918
骨格／筋	骨（椎骨）	0.473	**1.604**	0.581	0.294	BQL	**0.300**
	心筋	**17.085**	13.365	1.385	**16.615**	16.302	5.601
	骨格筋（背部）	6.969	**6.355**	0.499	6.654	**7.896**	2.495
呼吸系	肺	**14.097**	12.420	1.695	**16.972**	16.449	8.431
消化管	大腸	**14.829**	12.875	1.972	**14.255**	10.012	11.874
	大腸（内容物）	3.291	**874.873**	208.714	4.418	**1026.237**	623.278
	小腸	**269.055**	27.651	1.981	**635.296**	70.203	21.590
	小腸（内容物）	**1315.680**	227.038	21.129	**4170.587***	178.206	138.268
	胃	**3130.915***	298.872	5.409	**1799.664**	267.264	6.181
	胃（壁）	18.307	**20.313**	0.594	9.570	**12.898**	3.314

表 2.6.4.4-3　雌雄アルビノラットへの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩 30 mg/kg の単回経口投与後の組織中放射能濃度（キザルチニブ μg-equiv/g 検体）（QWBA）（2/2）

組織の種類	組織	雄 SD ラット			雌 SD ラット		
		2 h	4 h	24 h	2 h	4 h	24 h
眼	眼（水晶体）	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	眼（ブドウ膜）	4.393	**5.502**	0.689	**6.486**	5.461	2.623

NA: 該当なし。
各組織中の最高濃度を太字で示す。
定量下限 = 0.00075540 μCi/g/0.00333 μCi/μg = 0.227 μg-equiv/g 組織
定量上限 = 6.52476712 μCi/g/0.00333 μCi/μg = 1959.390 μg-equiv/g 組織
* 定量上限を上回る値
BQL: 定量下限未満、又は放射能濃度が定量下限未満であったため、オートラジオルミノグラフ上に組織が描出できず、データを読み込むことができなかった場合。

図 2.6.4.4-1　雄 Sprague-Dawley ラットへの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩の単回経口投与 2 時間後における放射能分布を示す代表的な全身オートラジオグラム

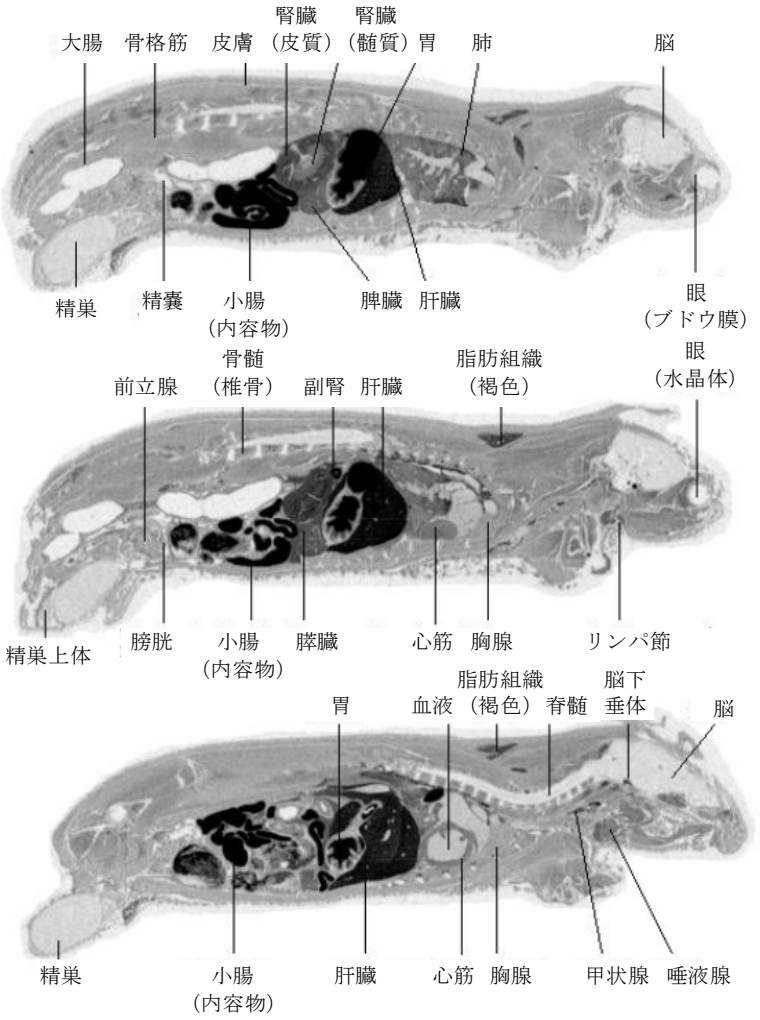
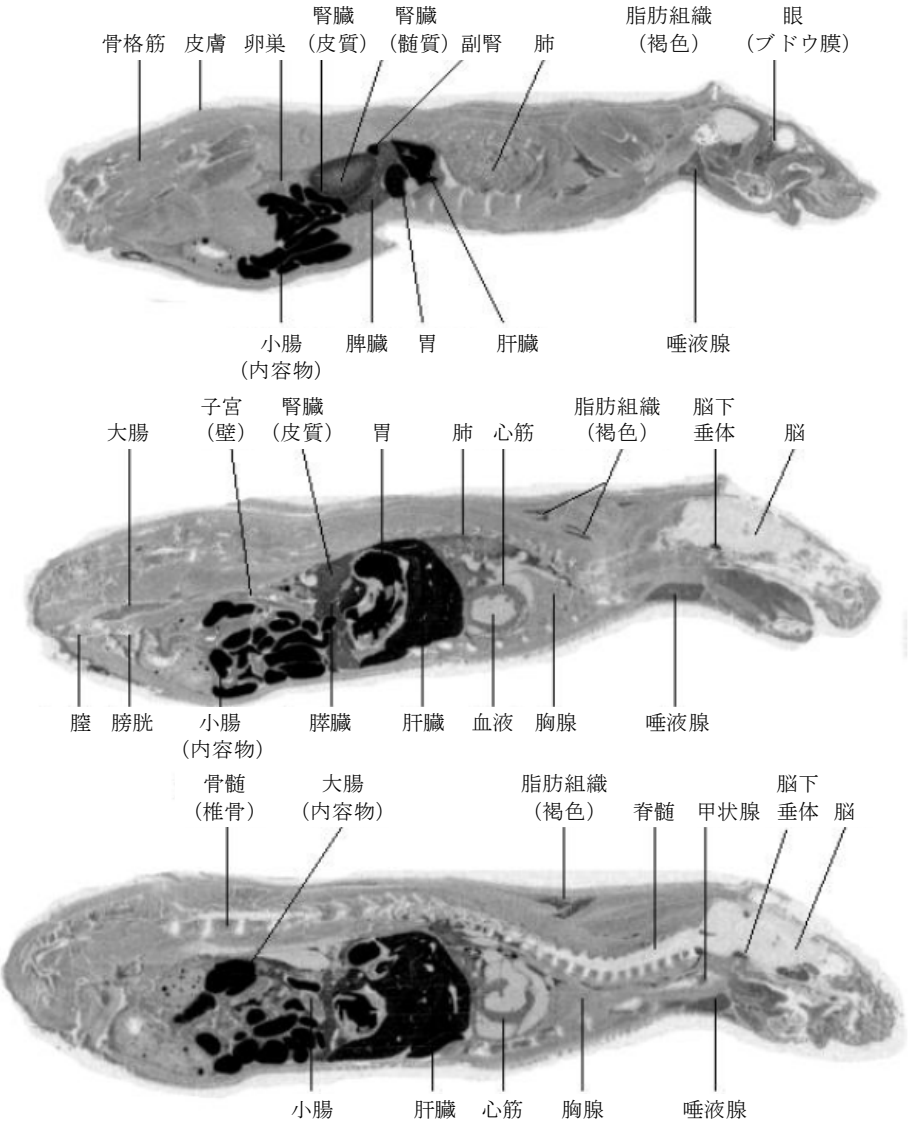


図 2.6.4.4-2　雌 Sprague-Dawley ラットへの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩の単回経口投与 2 時間後における放射能分布を示す代表的な全身オートラジオグラム



4.1.2　Long-Evans ラットでの［^{14}C］キザルチニブの組織分布試験及び臨床試験に際しての吸収線量の予測

添付資料番号：4.2.2.3-2

雄 Long-Evans ラットの QWBA 試験にて、［^{14}C］キザルチニブを単回経口投与したときの組織分布濃度プロファイルを評価した。さらに、本試験では、臨床試験に際して吸収線量を予測した。

［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を 5% HPβCD に溶解し、雄 Long-Evans ラット 6 例に 6 mg/kg（約 100 µCi/kg 体重）の投与量で単回強制経口投与した。投与 2、8、24、72、168、及び 336 時間後にそれぞれ 1 例の試験を終了し、全身オートラジオグラフィーに供した。試験終了直

前に血液検体を採取し、血液及び血漿を分析した。検体中の［^{14}C］キザルチニブを測定し、［^{14}C］キザルチニブ（100 μCi）を用いる臨床試験に際して、吸収線量の予測値を、国際放射線防護委員会の計算式に基づき算出した。

雄 Long-Evans ラットに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩 6 mg/kg を投与したとき、キザルチニブ由来放射能は投与後 72 時間を通して広範な組織分布を示した。投与 336 時間後までに排泄は完了しておらず、投与 336 時間後の時点で眼（ブドウ膜管）、髄膜、小腸、有色皮膚、副腎、脾臓、及び肝臓の組織中濃度が測定可能であった。最高組織中濃度に達したのは、大半の組織（41 組織中 31 組織）で投与 2 時間後であった（図 2.6.4.4-3 及び図 2.6.4.4-4）。

放射能の胆汁中濃度が高く、尿中濃度がそれより大幅に低かったことから、［^{14}C］キザルチニブ関連放射能の主要排泄経路は胆汁排泄であることが示唆された。

試験期間を通して放射能濃度の低下が最も遅かった組織は、有色組織であるブドウ膜であったが、有色組織である皮膚の放射能濃度は投与 336 時間後までにほぼ定量下限未満まで低下し、［^{14}C］キザルチニブ由来放射能とメラニンとの結合が可逆的であることが示唆された。

ヒトに［^{14}C］キザルチニブ投与時の ^{14}C 吸収線量を予測したところ、男性健康被験者（体重 70 kg）に放射能量 100 μCi の［^{14}C］キザルチニブを経口投与したとき、米国連邦規則集の基準値に基づくと、放射能の過剰曝露は生じないと予想された。

図 2.6.4.4-3　雄有色ラットでの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩（目標投与量 6 mg/kg）の単回経口投与 2 時間後の放射能分布を示す全身オートラジオグラム

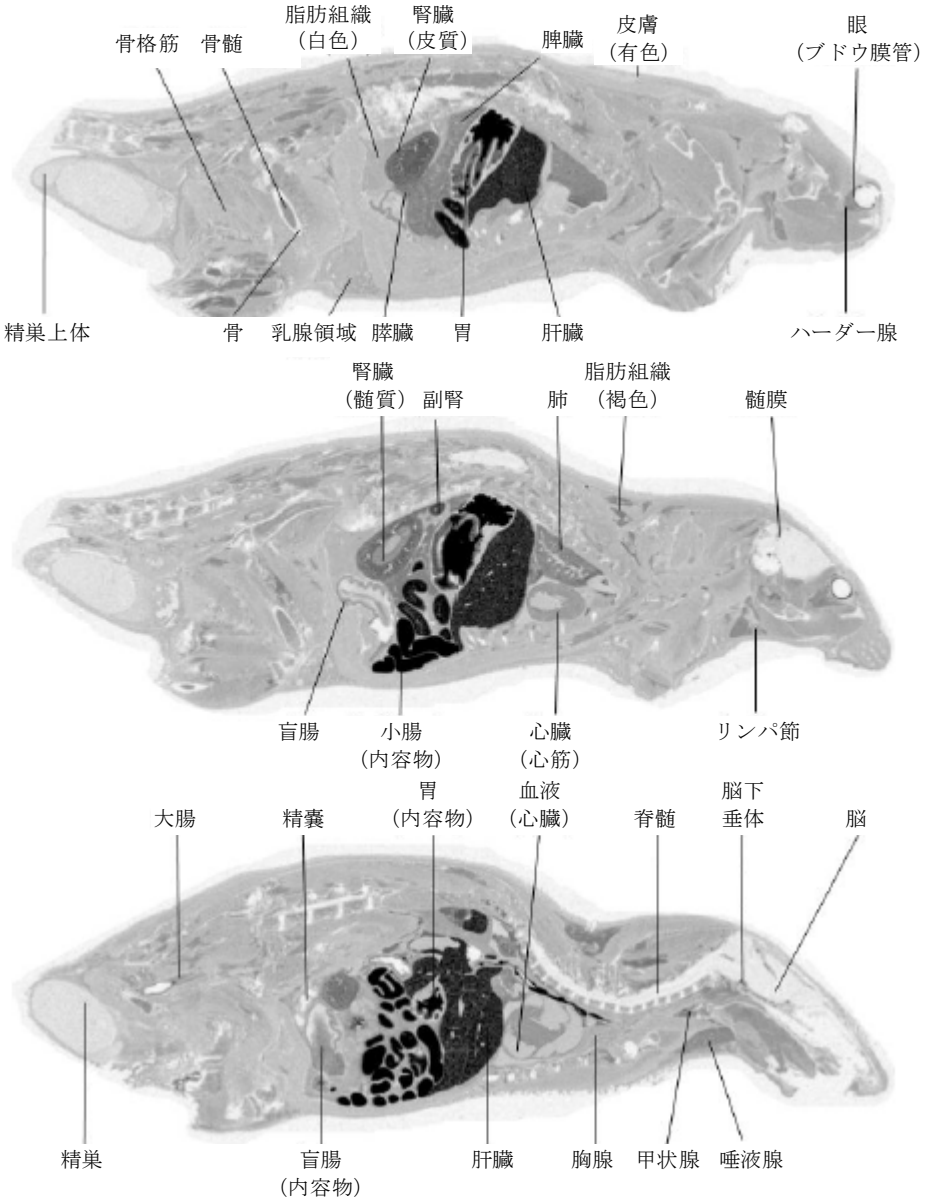
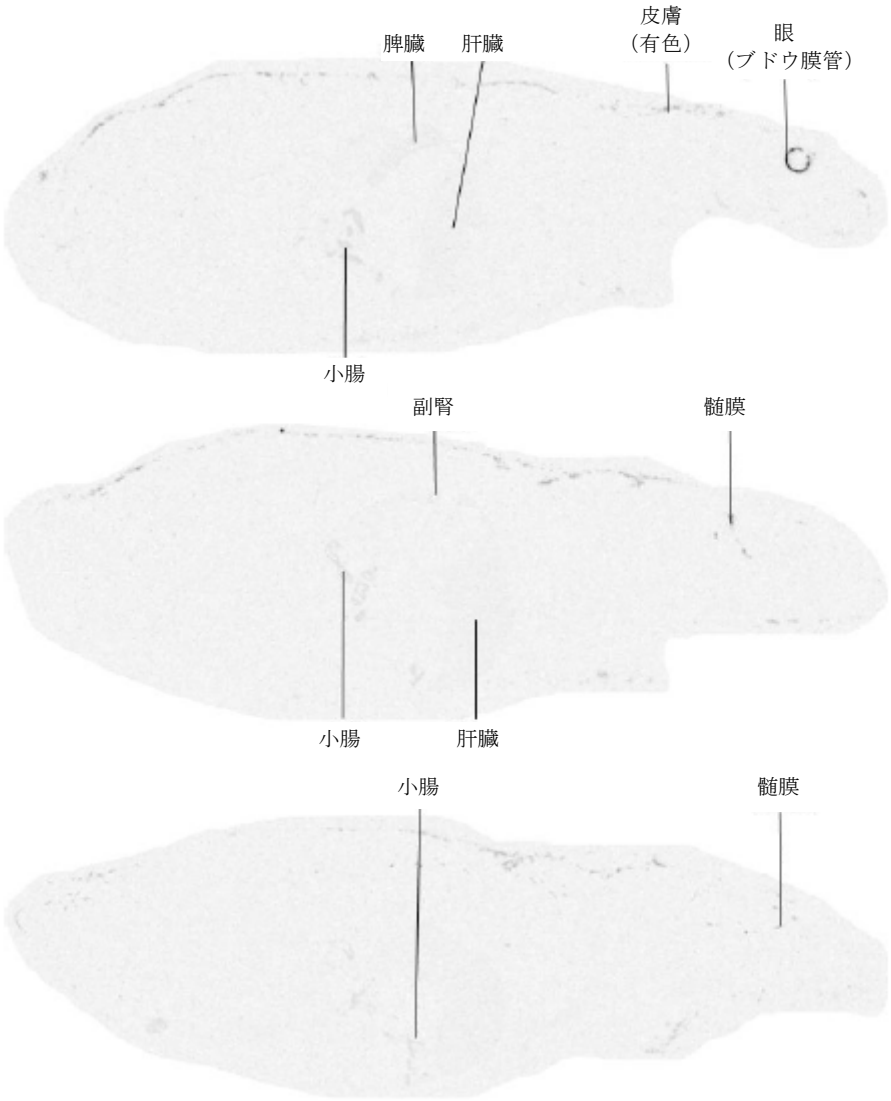


図 2.6.4.4-4　雄有色ラットでの［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩（目標投与量 6 mg/kg）の単回経口投与 336 時間後の放射能分布を示す全身オートラジオグラム



4.2　タンパク結合率試験

4.2.1　キザルチニブの血漿タンパク結合率（ヒト、サル、イヌ、ラット、及びマウス）

添付資料番号：4.2.2.3-3

C57BL/6J マウス、SD ラット、ビーグル犬、カニクイザル、及びヒトのプール凍結血漿を用いて、キザルチニブ（50 ng/mL、500 ng/mL、及び 2500 ng/mL）の PPB を超遠心法にて評価した。血漿に添加した化合物を超遠心し（約 436,000×g, 4°C, 140 分）、中間層の上部を血漿上清として得た。血漿および血漿上清中のキザルチニブ濃度を LC-MS/MS を用いて定量し、PPB を算出した。

評価したいずれの動物種でも、キザルチニブの PPB は 99%以上であった（表 2.6.4.4-4）。

表 2.6.4.4-4　キザルチニブの血漿タンパク結合率

動物種	血漿タンパク結合率（%）		
	50 ng/mL	500 ng/mL	2500 ng/mL
マウス	99.8	99.8	99.8
ラット	99.8	99.8	99.8
イヌ	99.7	99.8	99.8
サル	99.7	99.7	99.7
ヒト	99.3	99.0	99.1

4.2.2　AC886 の血漿タンパク結合率（ヒト、サル、イヌ、ラット、及びマウス）

添付資料番号：4.2.2.3-3

C57BL/6J マウス、SD ラット、ビーグル犬、カニクイザル、及びヒトのプール凍結血漿を用いて、AC886（50 ng/mL、500 ng/mL 及び 2500 ng/mL）の PPB を超遠心法にて評価した。血漿に添加した化合物を超遠心し（約 436,000×*g*, 4°C, 140 分）、中間層の上部を血漿上清として得た。血漿および血漿上清中の AC886 濃度を LC-MS/MS を用いて定量し、PPB を算出した。

評価したいずれの動物種でも、AC886 の PPB は 99%以上であった（表 2.6.4.4-5）。

表 2.6.4.4-5　AC886 の血漿タンパク結合率

動物種	血漿タンパク結合率（%）		
	50 ng/mL	500 ng/mL	2500 ng/mL
マウス	>99.9	99.9	99.9
ラット	99.8	99.9	99.9
イヌ	99.0	99.4	99.7
サル	99.5	99.5	99.5
ヒト	99.7	99.7	99.7

4.2.3　キザルチニブのヒト血漿タンパク結合率（ヒト血清アルブミン及び AAGP 分画を含む）

添付資料番号：4.2.2.3-4

総血漿タンパク、HSA 分画、及び AAGP 分画に対するキザルチニブのヒトタンパク結合率を、平衡透析法を用いた自動ハイスループットプロトコールにて試験した。ヒト血漿、HSA（300 µM）を含有する緩衝液（pH 7.4）、及び AAGP（15 µM）を含有する緩衝液に、キザルチニブを最終濃度 5 µM となるよう溶解させた。

キザルチニブのヒト PPB は 99%以上であった。HSA に対する結合率（99%超）から、キザルチニブに結合する血漿タンパクの大半は HSA と考えられる。しかし、AAGP 分画に対する結合率の評価では、両側のウェル（緩衝液側及び AAGP 側）ともキザルチニブ濃度が低く、

その原因は恐らく、キザルチニブの溶解性が低く沈殿が生じたことにあると考えられた。これらのウェル中のキザルチニブ濃度が測定不能であったため、血漿中の遊離型分率及び HSA 結合率との相互確認、並びに AAGP に対する非結合型分率の確定を行うことはできなかった。

4.3　その他の分布試験

4.3.1　ラットでの脳への分布

添付資料番号：4.2.2.3-5

雄 SD ラットに単回静脈内又は経口投与した後のキザルチニブの脳内移行性を評価した。ラットにキザルチニブ塩酸塩（22% HPβCD を溶媒とする投与液）1 mg/kg を静脈内投与、又は 10 mg/kg を経口投与した。静脈内投与 10 分後及び経口投与 2 時間後に、検体（血漿、CSF、及び脳）を採取した。

ラットでは、静脈内又は経口投与後のキザルチニブの脳内移行性は低く、脳－血漿比はそれぞれ 9.3%及び 26.4%であった。キザルチニブは、CSF 中では検出されなかった（定量下限: 3.1 nM）。

4.3.2　ヒトでの血漿中／全血中濃度比

添付資料番号：4.2.2.3-6、4.2.2.3-7、及び 4.2.2.3-8

単一ドナーから採取したヒト血液を用いて、キザルチニブの血漿中／全血中濃度比を評価した。全血にキザルチニブを最終濃度 1 μM となるよう添加し、穏やかに撹拌しながら 37°C で 45 分間インキュベートした。平衡に達したことを確認するため、インキュベーション開始 30 及び 45 分後の 2 時点で血漿を回収した。血漿検体中のキザルチニブを測定した。ヒト全血検体でのキザルチニブの血漿中／全血中濃度比は 0.92 であった。

血液検体にキザルチニブ及び AC886 を濃度 10 ng/mL、200 ng/mL、1600 ng/mL、及び 4000 ng/mL となるよう添加し、37°C で平衡に到達させた後、室温で直ちに血漿を分離し、キザルチニブ及び AC886 の血漿中濃度を測定した。濃度 10 ng/mL、200 ng/mL、1600 ng/mL、及び 4000 ng/mL の血液検体から分離した血漿中のキザルチニブ濃度はそれぞれ 6.75 ng/mL、152.63 ng/mL、1457.70 ng/mL、及び 4133.82 ng/mL であり、AC886 濃度はそれぞれ 2.94 ng/mL、71.56 ng/mL、986.92 ng/mL、及び 3080.62 ng/mL であった。血漿中／全血中濃度比の算出値は、キザルチニブがそれぞれ 1.48、1.31、1.10、及び 0.97、AC886 がそれぞれ 3.40、2.79、1.62、及び 1.30 であった。

血漿中濃度の測定値が全血への添加濃度とほぼ等しかったか低値であったことから、キザルチニブ及び AC886 は赤血球に結合又は移行すると考えられた。

5. 代謝（種間比較）

5.1 In vitro

5.1.1 ラット、イヌ、サル、及びヒト肝細胞を用いた代謝安定性試験

添付資料番号：4.2.2.4-1

ラット、イヌ、カニクイザル、及びヒト肝細胞でのキザルチニブの安定性及び代謝を試験した。生細胞密度 0.5×10^6 cells/mL の肝細胞浮遊液にキザルチニブを濃度 3 μM となるよう添加し、インキュベートした。インキュベーション開始 0、5、10、20、40、及び 60 分後にインキュベーション混合液から検体 50 μL を 2 本ずつ分取し、キザルチニブ及び代謝生成物を分析した。

肝細胞とインキュベートしたとき、キザルチニブの肝クリアランスは全 4 種の動物種で低く、未変化体の消失はほとんど又は全く認められなかった。本試験系では、キザルチニブがほとんど代謝されなかったため、代謝物分析は実施しなかった。

5.1.2 非臨床動物種及びヒトの肝ミクロソームを用いた安定性及び代謝試験

添付資料番号：4.2.2.4-2

マウス、ラット、イヌ、カニクイザル、及びヒトの肝ミクロソームでのキザルチニブの安定性及び代謝を試験した。最終濃度 0.5 mg/mL の肝ミクロソーム（プール）にキザルチニブを濃度 1 μM となるよう添加し、インキュベートした。インキュベーション開始 0、5、15、30、及び 60 分後にインキュベーション混合液から検体を分取し、キザルチニブ及び代謝生成物を分析した。

マウス、ラット、及びヒト肝ミクロソームとインキュベートしたときのキザルチニブの固有クリアランスは低値を示した。イヌ及びカニクイザルの肝ミクロソームでのクリアランスは、それぞれ中程度及び高値であった。

4 動物種（ラット、イヌ、カニクイザル、及びヒト）の肝ミクロソーム中でのキザルチニブの代謝を評価した。検討した全 4 種の動物種で *N*-脱エチル体（–26 質量単位、モルフォリン環の開環及び開裂）が認められた。*N*-脱エチル体に加えて、モルフォリン側鎖の複数の酸化的代謝物（水酸化、脱水素、ケト基の生成、及び開環）がイヌ、カニクイザル、及びヒト肝ミクロソームで認められた。モルフォリン側鎖の酸化には種差がみられ、イヌ、サル、又はヒト特異的な代謝物が認められた。また、カニクイザル及びヒト肝ミクロソームとともにインキュベートしたとき、tert-ブチルイソキサゾールの酸化体が認められた。

5.1.3 ヒト肝 S9 を用いたキザルチニブ及び AC886 の安定性試験

添付資料番号：4.2.2.4-3

ヒト肝 S9 分画でのキザルチニブの安定性及び AC886 生成、並びに AC886 の安定性を試験した。最終濃度 0.5 mg/mL のヒト肝 S9 分画（プール）に被験化合物（キザルチニブ又は AC886）を濃度 1 μM となるよう添加し、インキュベートした。インキュベーション開始 0、5、15、30、及び 60 分後にインキュベーション混合液から検体を分取し、分析した。

キザルチニブは、ヒト肝 S9 分画での固有クリアランスが低く、ヒト肝ミクロソームとのインキュベーション後と同程度であった（5.1.2 項）。代謝の程度は定量しなかったが、全測定時点でキザルチニブからの AC886 生成が確認された。AC886 も、ヒト肝 S9 分画中での固有クリアランスが低値であることが示された。

5.1.4　ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いたキザルチニブの CYP 分子種同定試験

添付資料番号：4.2.2.4-4

ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いた CYP 分子種同定試験により、キザルチニブの代謝を担う CYP 分子種を同定した。キザルチニブ（1 μM）を組換え CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9*1、CYP2C19、CYP2D6*1、CYP3A4、及び CYP3A5 分子種とともに、又は、分子種特異的な阻害剤の存在下／非存在下でヒト肝ミクロソームとインキュベートし、60 分間インキュベーション後のキザルチニブ残存率（%）の差を測定することによって、キザルチニブの代謝への各分子種の関与を評価した。インキュベーション後のキザルチニブ残存率に関して、阻害剤の有無で差がみられた場合、当該分子種が代謝に関与することを意味する。

キザルチニブの代謝を担う主な CYP 分子種は CYP3A4/5 と同定された。ヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験の結果、60 分間インキュベーション後のキザルチニブ残存率に関して、CYP3A 特異的阻害剤（ケトコナゾール）の存在下と非存在下の間で差が認められた。CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、及び CYP2D6 分子種は、キザルチニブの代謝への意味のある関与がほとんど又は全くないと判断された。

5.1.5　ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いた AC886 の CYP 分子種同定試験

添付資料番号：4.2.2.4-4

ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いた CYP 分子種同定試験により、AC886 の代謝を担う CYP 分子種を同定した。AC886（1 μM）を組換え CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9*1、CYP2C19、CYP2D6*1、CYP3A4、及び CYP3A5 分子種とともに、又は、分子種特異的な阻害剤の存在下／非存在下でヒト肝ミクロソームとインキュベートし、60 分間インキュベーション後の AC886 残存率（%）の差を測定することによって、AC886 の代謝への各分子種の関与を評価した。インキュベーション後の AC886 残存率に関して、阻害剤の有無で差がみられた場合、当該分子種が代謝に関与することを意味する。

AC886 の代謝を担う主な CYP 分子種は CYP3A4/5 と同定された。ヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験の結果、60 分間インキュベーション後の AC886 残存率に関して、CYP3A 特異的阻害剤（ケトコナゾール）の存在下と非存在下の間で差が認められた。CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、及び CYP2D6 分子種は、AC886 の代謝への意味のある関与がほとんど又は全くないと判断された。

5.1.6　ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いたキザルチニブから AC886 生成の CYP 分子種同定試験

添付資料番号：4.2.2.4-4

ヒト肝ミクロソームとともにインキュベートした試験で、キザルチニブは CYP3A4/5 の選択的な基質であると判断された（5.1.4 項）。そのため、本試験は、CYP3A4/5 がキザルチニブの AC886 への代謝に関与するか否かを検討することを目的とした。キザルチニブ（1 μM）を組換え CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9*1、CYP2C19、CYP2D6*1、CYP3A4、及び CYP3A5 分子種とともに、又は、分子種特異的な阻害剤の存在下／非存在下でヒト肝ミクロソームとインキュベートし、分子種の寄与を決定するため、5 分及び 15 分インキュベーション後の AC886 の生成の差を測定した。

キザルチニブからの AC886 生成は、CYP3A4 及び CYP3A5 のみで認められ、CYP3A 特異的阻害剤（ケトコナゾール）により阻害率 89.6%で阻害された。これらのデータから、キザルチニブからの AC886 の生成は CYP3A4/5 を介することが確認された。

5.2　In vivo

5.2.1　マウス

5.2.1.1　マウスでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態

添付資料番号：4.2.2.4-5

キザルチニブ（5% HPβCD を溶媒とする投与液）及び活性代謝物 AC886 の薬物動態を、成獣雌 nu/nu マウスで検討した。9 例に、10 mg/kg のキザルチニブ塩酸塩を経口投与した。投与 24 時間後までの血漿中濃度－時間曲線が 3 本得られるように、マウス 1 例につき 2～3 時点の血漿検体を採取し、キザルチニブ及び AC886 の薬物動態を解析した。

その結果、マウスへのキザルチニブ単回経口投与後の血漿中曝露量及び血漿中濃度推移は、キザルチニブと AC886 で同様であることが示された。Cmax は、キザルチニブが 7.99 μM に対し、AC886 が 6.14 μM であり、Tmax は、それぞれ 1.3 及び 3.0 時間であった。血漿中濃度及び総曝露量の推移を検討したところ、投与後 2 時間にはキザルチニブが AC886 と比較して高値であったが、投与後 24 時間にわたる推移はキザルチニブと AC886 で同様であった。$AUC_{0\text{-}24}$ は、キザルチニブ及び AC886 でそれぞれ 83.77 及び 80.11 μM·h であった。$T_{1/2}$ は極めて類似していた（キザルチニブ及び AC886 でそれぞれ 4.6 及び 4.2 時間）。

本試験の結果、マウスへのキザルチニブ経口投与 2～24 時間後の血漿中濃度は、キザルチニブとその主要な活性代謝物 AC886 で同程度であることが示された。キザルチニブ濃度と AC886 濃度の和である薬理活性体濃度は、投与 2～24 時間後のキザルチニブ濃度のおよそ 2 倍である。

5.2.2　ラット

5.2.2.1　ラットでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態

添付資料番号：4.2.2.4-6 及び 4.2.2.2-6

キザルチニブ（22% HPβCD を溶媒とする投与液）及び活性代謝物 AC886 の薬物動態を、雄 SD ラットで検討した。3 例にキザルチニブ塩酸塩 30 mg/kg を単回経口投与した。投与 15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、6 時間、及び 24 時間後に血漿検体を採取し、キザルチニブ及び AC886 を測定した。

その結果、キザルチニブの血漿中濃度は AC886 と比較してわずかに高いことが示された。キザルチニブの平均 Cmax は 2.68 µM であり、Tmax は 2.3 時間であった。AUCinf の平均値は 41.58 µM·h であり、$T_{1/2}$ は 8.9 時間であった。AC886 の平均 Cmax は 1.72 µM であり、Tmax は 4.7 時間であった。平均 AUCinf は 27.88 µM·h であり、$T_{1/2}$ はキザルチニブと同程度（9.5 時間）であった。

本試験の結果、ラットへの経口投与後、キザルチニブは速やかに AC886 へと代謝されるが、すべてが AC886 に代謝されるわけではないことが示された。

雌雄 SD ラットにキザルチニブ塩酸塩（5% HPβCD を溶媒とする投与液）1 又は 10 mg/kg／日を 28 日間連日経口投与し、キザルチニブとその代謝物 AC886 の薬物動態特性を検討した。投与量あたり雌雄各 9 例に、キザルチニブ塩酸塩を 1 日 1 回強制経口投与した。投与 1 及び 28 日目の投与後 24 時間にわたり、採取時点あたり雌雄各 3 例から血漿検体を採取し、キザルチニブ及び AC886 を測定した。

キザルチニブの Tmax は概ね 1～6 時間であった一方、AC886 の Tmax は 2～6 時間であり、キザルチニブが代謝物に速やかに変換されることが示された。キザルチニブと AC886 の $T_{1/2}$ に差はみられず、$T_{1/2}$ は投与量及び性別の影響を受けなかったが、反復投与によって延長傾向を示した。

AC886 の曝露量はキザルチニブの投与量に概ね比例して上昇し、キザルチニブの反復投与によってわずかに上昇した。未変化体の曝露量は、AC886 の曝露量より概ね高値であった。

ラットでは、投与 1 及び 28 日目のいずれにおいても、AC886 の曝露量は概ね雌で雄と比較して高く、この傾向は 10 mg/kg／日でより顕著であった。

5.2.2.2　ラットでの AC886 の薬物動態

添付資料番号：4.2.2.4-7

AC886 の薬物動態及びバイオアベイラビリティを、雄 SD ラットで検討した。2 例に PEG400:注射用水（3:1）溶液に溶解した AC886（1 mg/kg）を静脈内投与し、ラット 3 例に対し、22% HPβCD に溶解した AC886（10 mg/kg）を経口投与した。投与後 24 時間にわたり血漿検体を採取し、AC886 を測定した。

試験の結果、ラットへの 1 mg/kg の単回静脈内投与後、AC886 のクリアランスは 8.83 mL/min/kg、見かけの分布容積は 1.34 L/kg、見かけの半減期は 3.4 時間であることが示された。10 mg/kg の単回経口投与後、AC886 の Cmax は 0.36 µM、Tmax は 1.2 時間、バイオア

ベイラビリティは 6.9%であった。

5.2.2.3　ラットでの［^{14}C］キザルチニブの代謝物プロファイル

添付資料番号：4.2.2.3-1

キザルチニブの ADME 特性は、［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を用いた 3 試験、すなわち、(1) 排泄及びマスバランス試験と代謝物プロファイルの検討、(2) 薬物動態及び組織分布試験、並びに (3) QWBA 試験で評価した。このうち、代謝の評価結果を本項に要約する。試験方法の要約を 4.1.1 項に示す。プール血漿、尿、及び糞中の代謝物プロファイルを検討した。

血漿検体からの放射能抽出率は高く、すべての検体で血漿中放射能の 79%超が抽出された。抽出放射能の主要成分はキザルチニブであり、HPLC 上で検出された放射能の 58%超を占めた。保持時間 29.9 分のピーク（AC886 に一致）は HPLC 上で検出された放射能の 17%超を占め、いずれの測定時点（投与 2、4、及び 24 時間後）においても、AC886 以外に放射能回収量の 6.1%超を占める代謝物は血漿中から検出されなかった。

血漿中総放射能の血漿中薬物動態パラメータも算出した。キザルチニブ関連成分の総曝露量に対するキザルチニブの存在比（AUC データに基づく）は、雄で約 70%、雌で 75%であった。表 2.6.4.5-1 に総放射能、キザルチニブ、及び AC886 の薬物動態パラメータの平均値を示す。

プール尿検体の分析では、投与放射能の 1.27%（雄）及び 1.47%（雌）が尿中排泄された。尿中排泄されたキザルチニブは、投与放射能の 0.05%（雄）及び 0.09%（雌）に相当した。31.2 分（AC886 の保持時間に一致）に溶出したピークは、投与放射能の 0.58%（雄）及び 0.64%（雌）に相当した。保持時間 31.9 分の代謝物ピークは、投与放射能の 0.44%（雄）及び 0.46%（雌）に相当した。

糞中及び尿中から 20 種以上のキザルチニブ代謝物が検出された。投与放射能に対する主要代謝物の比率を、表 2.6.4.5-2 に要約する。プール糞検体の分析では、投与放射能の 89.35%（雄）及び 89.23%（雌）が糞中排泄された。糞検体からの放射能抽出率は高く、すべての検体で糞中放射能の 85%超が抽出された。抽出放射能の主要成分はキザルチニブであり、投与放射能の 25.32%（雄）及び 18.98%（雌）に相当した。保持時間 30.2 分の HPLC ピーク（AC886 に一致）は、投与放射能の 7.81%（雄）及び 9.09%（雌）に相当した。その他に、保持時間 23.4、25.7、及び 40.1 分の 3 種の主要代謝物ピークが検出された。代謝に質的な性差はみられなかった。

表 2.6.4.5-1　ラットにおける総放射能、キザルチニブ、及び AC886 の薬物動態パラメータ

性別	分析対象物質	Tmax（h）	半減期（h）	Cmax（ng-equiv/mL）	AUC_{0-24}（h·ng-equiv/mL）	AUCinf（h·ng-equiv/mL）
雄	総放射能	4.0	6.50	7512	105,142	113,497
雄	キザルチニブ	4.0	5.92	5460	75,514	80,010
雄	AC886	4.0	7.92	1617	22,963	26,174
雌	総放射能	4.0	9.75	8682	12,937	158,817
雌	キザルチニブ	4.0	9.80	6531	98,021	120,457
雌	AC886	4.0	9.90	1784	26,416	32,702

AUCinf: 無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

表 2.6.4.5-2　ラットにおける投与放射能に対する主要代謝物の比率（%）

	糞			尿	
	雄	雌		雄	雌
総放射能（投与放射能に対する比率［%］）[a]	89.35	89.23	総放射能（投与放射能に対する比率［%］）[a]	1.27	1.47
抽出率（投与放射能に対する比率［%］）[b]	81.12	80.83			
保持時間（min）			保持時間（min）		
2.5	3.50	4.25	9.7	0.03	0.03
12.0	1.79	1.83	23.9	0.03	0.04
17.3	1.57	0.59	27.1	0.02	0.01
18.7	0.80	2.98	31.2（AC886）	0.58	0.64
19.3	ND[c]	1.12	31.9	0.44	0.46
23.4	13.81	8.16	32.8	ND	ND
25.7（開環体）	4.89	6.83	33.5	ND	ND
26.8	1.99	0.69	39.1（キザルチニブ）	0.05	0.09
27.2	1.59	ND	41.5	0.11	0.17
27.9	1.43	1.96			
28.1	1.40	0.90			
30.2（AC886）[d]	7.81	9.09			
30.5	4.04	2.13			
38.5（キザルチニブ）[e]	25.32	18.98			
40.1（酸化体）	7.93	15.43			
49.1	2.98	4.20			

[a] 分析に供した検体（投与 12、24、48、及び 72 時間後の糞、並びに投与 6、12、24、48、及び 72 時間後の尿）中の総放射能の投与放射能に対する比率（%）
[b] 抽出率（投与放射能に対する比率［%］）=（検体中放射能の投与放射能に対する比率［%］）（糞中放射能の抽出率［%］）
[c] ND: 検出不能（検出限界未満）
[d] HPLC 上で AC886 標品と共溶出したことに基づき、AC886 のピークと判断した。
[e] HPLC 上でキザルチニブ標品と共溶出したことに基づき、キザルチニブのピークと判断した。

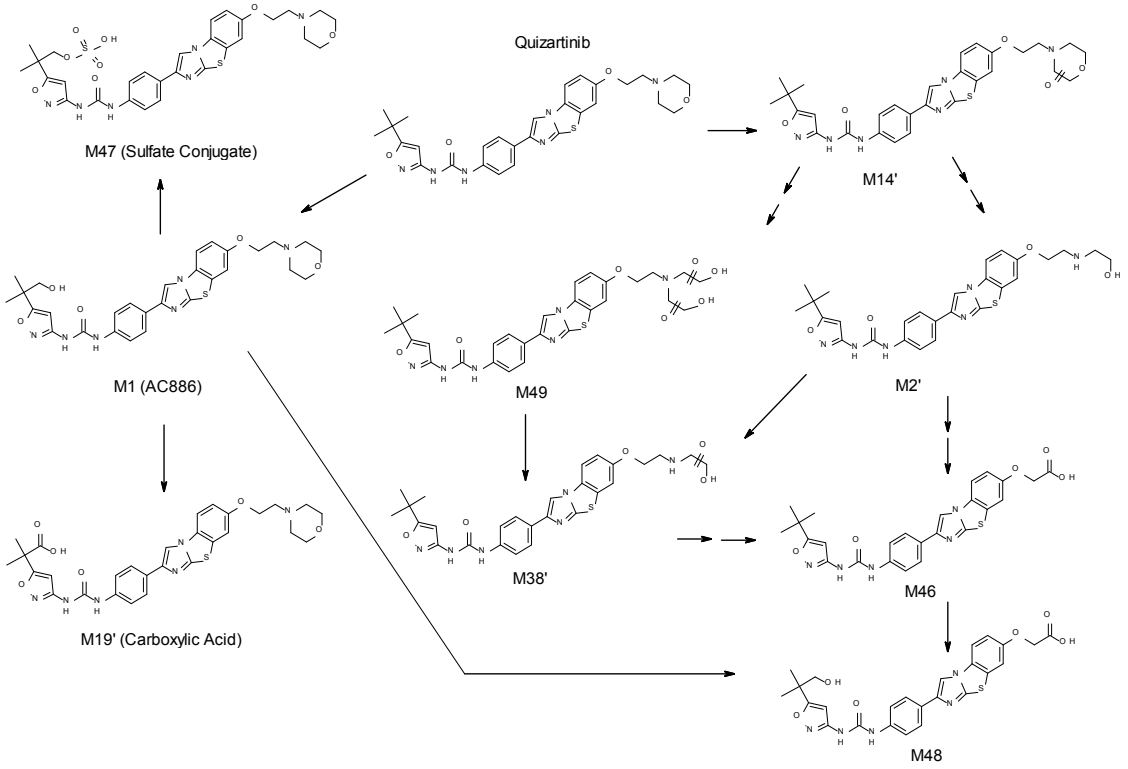
5.2.2.4　ラット胆汁中のキザルチニブの代謝物プロファイル

添付資料番号：4.2.2.4-8

雄 JVC SD ラット、及び JVC/BDC SD ラットから胆汁検体を採取した。検体採取方法を 6.2.1

項に示す。各時点で採取した胆汁検体は、多重反応モニタリング（Multiple Reaction Monitoring: MRM）、プリカーサーイオン（Precursor Ion: PCI）、及びコンスタントニュートラルロス（Constant Neutral Loss: CNL）スキャンと、Enhanced Product Ion（EPI）スキャンの併用によって分析した。キザルチニブ及び AC886（M1）以外の代謝物（二酸化体、モルフォリン環の開環体、第 II 相反応により生成する AC886 の硫酸抱合体）も検出された。推定される代謝経路（一部）を図 2.6.4.5-1 に示す。

図 2.6.4.5-1　ラット胆汁中代謝物から推定される代謝経路



キザルチニブの推定代謝経路では、イソキサゾール側鎖が酸化及び抱合を受け、モルフォリン環が酸化を受け開裂する。
二連の矢印は、2 段階以上の反応が予想されることを意味する。

5.2.3　イヌ

5.2.3.1　ビーグル犬でのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態（製剤の比較）

添付資料番号：4.2.2.4-9

複数の液体製剤及び固形製剤の薬物動態及び用量比例性を、雄ビーグル犬を用いて検討した。イヌに目標投与量（10 又は 25 mg/kg）を強制経口投与した。投与 15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間、12 時間、及び 24 時間後に血漿検体を採取し、キザルチニブとその活性代謝物 AC886 を測定した。

AC886 の血漿中濃度－時間曲線はキザルチニブと同様に推移したが、半減期は AC886 の

方が長かった。その結果、キザルチニブに対する AC886 の投与 24 時間後までの AC886 とキザルチニブの最高血漿中濃度（C_p）比（$C_{p(AC886)}/C_{p(キザルチニブ)}$）は、約 0.5 であったが、AUC 比は 30%未満であった。

5.2.3.2　イヌでの［^{14}C］キザルチニブの代謝物プロファイル

添付資料番号：4.2.2.4-10

放射性標識体（［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩）を用いて、イヌでのキザルチニブの排泄、マスバランス及び代謝物プロファイルを検討した。代謝の評価結果を本項に要約する。［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を 5% HPβCD に溶解し、雌雄ビーグル犬に 10 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。雌雄各 2 例から、投与後 168 時間にわたり尿及び糞検体を連続採取した。投与 2、4、及び 24 時間後に各動物から血液検体を採取し、各血液検体から血漿を遠心分離した。プール血漿、尿、及び糞中の代謝物プロファイルを検討した。

血漿検体からの放射能抽出率は高く、すべての検体で血漿中放射能の 95%超が抽出された。抽出放射能の主要成分はキザルチニブであり、HPLC 上で検出された放射能の 40%超を占めた。溶出時間 42 分のピーク（モルフォリン環の *N*-酸化体と推定）が、検体中の主要代謝物であり、HPLC 上で検出された放射能の 15%超を占めた。AC886 に一致するピークは HPLC 上で検出された放射能の 5%超を占め、投与 24 時間後の検体中では、血中主要代謝物であった。いずれの測定時点（投与 2、4、及び 24 時間後）においても、その他に放射能回収量の 8.2%超を占める代謝物は血漿中から検出されなかった。

キザルチニブ、AC886、溶出時間 42 分のピーク、及び総放射能の血漿中薬物動態パラメータを算出した。キザルチニブ関連成分の総曝露量に対するキザルチニブの存在比（AUC データに基づく）は、雄及び雌で約 60%であった。表 2.6.4.5-3 に、総放射能、キザルチニブ、及び AC886 の薬物動態の平均値を示す。

糞中及び尿中から 20 種以上のキザルチニブ代謝物が検出された。投与放射能に対する主要代謝物の比率を表 2.6.4.5-4 に要約する。代謝に質的な性差はみられなかった。

プール尿検体（投与 0～120 時間後）の分析では、投与放射能の 0.46%（雄）及び 0.63%（雌）が尿中排泄された。尿中排泄されたキザルチニブは、投与放射能の 0.17%（雄）及び 0.01%（雌）に相当した。AC886 に一致する HPLC ピークは、雌で投与放射能の 0.02%に相当し、雄で検出されなかった。

プール糞検体（投与 0～120 時間後）の分析では、投与放射能の 91.06%（雄）及び 85.04%（雌）が糞中排泄された。抽出放射能の主要成分はキザルチニブであり、投与放射能の 47.73%（雄）及び 21.06%（雌）に相当した。AC886 に一致する HPLC ピークは、投与放射能の 12.5%（雄）及び 13.89%（雌）に相当した。その他に、保持時間 25.7、28.1、及び 41.7 分の 3 種の主要代謝物ピークが検出された。

表 2.6.4.5-3　イヌにおける総放射能、キザルチニブ、AC886、及び溶出時間 42 分のピークの血漿中薬物動態パラメータ

性別	分析対象物質	Tmax（h）	半減期（h）	Cmax（ng-equiv/mL）	AUC_{0-24}（h·ng-equiv/mL）	AUCinf（h·ng-equiv/mL）
雄	総放射能	2.0	6.66	1569	16,659	18,380
雄	キザルチニブ	2.0	6.05	1040	9892	10,547
雄	AC886	4.0	17.75	117	2029	3335
雄	溶出時間 42 分のピーク	2.0	5.95	379	3767	3999
雌	総放射能	2.0	6.45	3513	34,973	38,217
雌	キザルチニブ	2.0	5.62	2407	21,712	22,855
雌	AC886	2.0	15.48	239	3755	5743
雌	溶出時間 42 分のピーク	2.0	6.43	735	7884	8487

AUCinf: 無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

表 2.6.4.5-4　イヌにおける投与放射能に対する主要代謝物の比率（%）

	糞			尿	
	雄	雌		雄	雌
総放射能（投与放射能に対する比率［%］）[a]	91.06	85.04	総放射能（投与放射能に対する比率［%］）[a]	0.46	0.63
抽出率（投与放射能に対する比率［%］）[b]	85.55	77.50			
保持時間（min）			保持時間（min）		
2.5	ND[c]	3.58	30.2（AC886）[d]	ND	0.02
17.3	0.19	1.36	40.1（キザルチニブ）[e]	0.17	0.01
18.7	2.85	4.04	41.5	0.04	ND
22.7	1.02	1.44	42.1	0.14	0.02
25.7	7.88	12.68			
28.1	3.54	6.37			
30.2（AC886）[d]	12.50	13.89			
34.4	2.17	2.37			
38.5	0.21	1.37			
40.1（キザルチニブ）[e]	47.73	21.06			
41.7	5.45	4.34			

[a] 分析に供した検体（投与 12、24、48、72、及び 96 時間後の糞、並びに投与 6、12、24、48、及び 72 時間後の尿）中の総放射能の投与放射能に対する比率（%）
[b] 抽出率（投与放射能に対する比率［%］）＝（検体中放射能の投与放射能に対する比率［%］）（糞中放射能の抽出率［%］）
[c] ND: 検出不能（検出限界未満）
[d] HPLC 上で AC886 標品と共溶出したことに基づき、AC886 のピークと判断した。
[e] HPLC 上でキザルチニブ標品と共溶出したことに基づき、キザルチニブのピークと判断した。

5.2.4　サル

5.2.4.1　カニクイザルでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態（製剤の比較）

添付資料番号：4.2.2.4-11

カニクイザルにキザルチニブの Gelucire カプセル剤（Gelucire 44/14）及び 5% HPβCD 水溶液を溶媒とする液体製剤を食後投与したときの薬物動態を検討した。キザルチニブ塩酸塩の Gelucire カプセル剤（2.8 mg/kg）を雄 3 例に単回経口投与し、キザルチニブ塩酸塩の 5% HPβCD 液体製剤（3 mg/kg）を雄 3 例に単回経口投与した。投与 15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間、12 時間、及び 24 時間後に血漿検体を採取し、キザルチニブ及び活性代謝物 AC886 を測定した。

2 種類の製剤をカニクイザルに投与したときのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態パラメータを、表 2.6.4.5-5 に要約する。

表 2.6.4.5-5　サルにおけるキザルチニブ及び AC886 の薬物動態パラメータ

製剤	被験物質	Cmax（μM）	Tmax（h）	AUCinf（μM·h）	$T_{1/2}$（h）
キザルチニブの Gelucire カプセル剤	キザルチニブ	0.06	2.7	0.32	5.6
	AC886	0.21	2.7	2.53	7.2
キザルチニブの 5% HPβCD 液体製剤	キザルチニブ	0.02	1.7	0.21	9.3
	AC886	0.13	4.7	1.94	7.8

AUCinf: 無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、$T_{1/2}$: 終末相の消失半減期、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間、NA: 該当なし

Gelucire カプセル剤及び 5% HPβCD 液体製剤を投与したとき、キザルチニブの Cmax（0.06 μM vs. 0.02 μM）及び AUCinf（0.32 μM·h vs. 0.21 μM·h）は、Gelucire カプセル剤の投与後の方が高値であった。Gelucire カプセル剤と 5% HPβCD 液体製剤を投与したとき、AC886 の Cmax はそれぞれ 0.21 及び 0.13 μM であり、AC886 の AUCinf はそれぞれ 2.53 及び 1.94 μM·h であった。採取したサル血液を血漿分離時まで氷中保存したときの血中 AC886 濃度は、37°C 保存条件での濃度と比較して 4 倍高かった。一方、キザルチニブ濃度には、保存温度による差はみられなかった（2.4 項）。実際の試験では、薬物動態解析用に採取した血液検体は血漿分離時まで氷中保存されたことから、AC886 の血漿中濃度が実際より高く推定された可能性がある。

5.3　その他

5.3.1　キザルチニブを投与したラットの肝臓及び腎臓組織中の代謝物プロファイル

添付資料番号：4.2.2.4-12

ラット 13 週間反復投与毒性試験では、キザルチニブ塩酸塩 10 mg/kg／日群の雄で、病理組織学的所見として、腎尿細管内に複屈折結晶が認められた（2.6.6、添付資料番号：4.2.3.2-2）。腎臓で認められた複屈折結晶の化学成分を明らかにするため、ラット 13 週間反復投与毒性試験で採取した明らかな結晶沈着組織を含まない腎臓及び肝臓を用いた（2.6.5.9.G）。30 日間の休薬期間中にキザルチニブ及び代謝物が完全に排泄されると判断したため、これらの組織検体に含まれる血液中のキザルチニブ及び代謝物をできる限り低減するため、30 日間の休薬期

間を設けた動物（溶媒対照群及びキザルチニブ 10 mg/kg／日群）から採取した組織検体を検査に供した。

肝臓及び腎臓組織のホルマリン固定切片 2 セットをホモジナイズし、有機溶媒抽出により処理した後、LC-MS/MS 法にて分析した。ホモジネート、トリプシンにより消化したホモジネート、ジメチルスルホキシド（dimethyl sulfoxide: DMSO）とともにインキュベートしたホモジネート、及び抽出後の沈殿から、それぞれ 100 µL を分取してスライドガラスに載せ、複屈折結晶を顕微鏡観察した。

偏光顕微鏡による観察では、腎ホモジネート中に結晶が認められたが、肝ホモジネート中にはみられなかった。LC-MS/MS 分析では、腎臓中の複屈折結晶は、キザルチニブと様々なキザルチニブ代謝物からなることが示唆された。

以上の結果から、キザルチニブ 10 mg/kg／日群の腎臓中の複屈折結晶はキザルチニブとその代謝物からなり、タンパク質の凝集を伴わないと判断した。

5.3.2　キザルチニブを投与したビーグル犬の肝臓及び腎臓組織中の代謝物プロファイル

添付資料番号：4.2.2.4-13

イヌ 13 週間反復投与毒性試験では、キザルチニブ塩酸塩 15 mg/kg／日群で、病理組織学的所見として、肝臓内に複屈折結晶の凝集が認められた（2.6.6、添付資料番号：4.2.3.2-4）。イヌ肝臓で認められた結晶の成分を明らかにするため、13 週間反復投与毒性試験で採取した組織検体を使用した（2.6.5.9.I）。30 日間の休薬期間中にキザルチニブ及び代謝物が完全に排泄されると判断したため、これらの組織検体における可溶性のキザルチニブ及び代謝物の含有量をできる限り低減するため、30 日間の休薬期間を設けた動物（溶媒対照群及びキザルチニブ 15 mg/kg／日群）から採取した組織検体を検査に供した。

溶媒対照群及びキザルチニブ 15 mg/kg／日群から採取した肝臓及び腎臓組織のホルマリン固定切片をホモジナイズし、有機溶媒抽出により処理した後、LC-MS/MS 法にて分析した。ホモジネート、トリプシンにより消化したホモジネート、DMSO とともにインキュベートしたホモジネート、及び抽出後の沈殿から、それぞれ 100 µL を分取してスライドガラスに載せ、複屈折結晶を顕微鏡観察した。

偏光顕微鏡による観察では、キザルチニブ群の肝ホモジネート中に複屈折結晶が認められたが、溶媒対照群の肝ホモジネート中及び両群の腎ホモジネート中には複屈折結晶はみられなかった。LC-MS/MS 分析では、肝臓中の複屈折結晶は、キザルチニブと様々なキザルチニブ代謝物からなることが示唆された。

以上の結果から、キザルチニブ 15 mg/kg／日群の肝臓中の複屈折結晶の主要成分はキザルチニブとその代謝物であり、タンパク質成分を多く含有しないと判断した。

6. 排泄

6.1 ［^{14}C］キザルチニブのマスバランス試験

6.1.1 ラットでの［^{14}C］キザルチニブのマスバランス試験

添付資料番号：4.2.2.3-1

キザルチニブの ADME 特性は、［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を用いた 3 試験、すなわち、(1) 排泄及びマスバランス試験と代謝物プロファイルの検討、(2) 薬物動態及び組織分布試験、並びに (3) QWBA 試験で評価した。このうち、排泄及び代謝の評価結果を本項に要約する。手順及び方法の要約を、4.1.1 項に示す。

マスバランス試験では、動物への投与放射能の総回収量は、尿、ケージ洗浄液、糞、組織、及び屍体中の放射能量の合計として測定した。投与放射能の平均回収率（雌雄各 3 例の回収率データの平均値）を表 2.6.4.6-1 に要約する。投与放射能の平均回収率は 94.21%（雄）及び 95.75%（雌）であり、許容できる回収率と判断した。放射能の大半が糞中排泄され、少量が尿中排泄された。組織中及び屍体中からの放射能回収率は 1%未満であった。

表 2.6.4.6-1　SD ラットにおける投与放射能の回収率

	投与量に占める比率（%）	
マトリックス	雄	雌
尿	1.53	1.68
ケージ洗浄液	2.45	0.84
糞	90.03	92.96
組織	0.21	0.23
屍体	ND[a]	0.03
合計	94.21	95.75

[a] ND: 検出不能（検出限界未満）、検出不能値は 0 として算出した。

6.1.2 イヌでの［^{14}C］キザルチニブのマスバランス試験

添付資料番号：4.2.2.4-10

放射性標識体（［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩）を用いて、イヌでのキザルチニブの分布、排泄、及びマスバランスを検討した。排泄の評価結果を本項に要約する。手順及び方法の要約を、5.2.3.2 項に示す。

血漿、尿、及びケージ洗浄液検体中の放射能は、直接 LSC にて分析した。糞及び肝ホモジネートは可溶化させた後、LSC にて分析した。血液検体は燃焼させた後、LSC にて分析した。マスバランスは、尿、糞、ケージ洗浄液、肝臓、及び血液（全身血液量に外挿）からの投与放射能の合計回収率として算出した。所定の時点ごとに雌雄別のプール尿及び糞検体を調製した。その際、各動物から各時点に採取した検体から重量比で一定割合を分取し、採取時点／雌雄別にプールした。［^{14}C］キザルチニブ及び／又は代謝物を検出・定量するため、プール検体を HPLC にて分析した。主要代謝物を質量分析法にて同定した。

マスバランス試験では、動物への投与放射能の総回収量は、尿、ケージ洗浄液、糞、血液、及び肝臓中の放射能の合計として測定した。投与放射能の平均回収率（雌雄各 2 例の回収率

データの平均値）を表 2.6.4.6-2 に要約する。投与放射能の平均回収率は 93.21%（雄）及び 89.49%（雌）であり、許容できる回収率と判断した。放射能の大半が糞中排泄され、尿中排泄率は 1%未満であった。肝臓中からの放射能回収率も 1%未満であった。

表 2.6.4.6-2　イヌでの投与放射能の回収率

	投与量に占める比率（%）	
マトリックス	雄	雌
尿	0.52	0.70
ケージ洗浄液	0.76	1.26
糞	91.86	87.26
血液	ND[a]	ND
肝臓	0.06	0.26
合計	93.21	89.49

[a] ND: 検出不能（検出限界未満）、検出不能値は 0 として算出した。

6.2　胆汁排泄

6.2.1　ラットでのキザルチニブ及び AC886 の胆汁排泄

添付資料番号：4.2.2.4-8

キザルチニブの胆汁排泄は、JVC SD ラット及び JVC/BDC SD ラットを用いて検討した。標準的な食餌の 5 時間後、5% HPβCD に溶解したキザルチニブ塩酸塩 30 mg/kg を経口投与した。投与前、及び投与 2、4、6、12、24、32、40、及び 48 時間後に JVC 及び JVC/BDC ラットの血漿検体を採取し、キザルチニブ及び AC886 を LC-MS/MS 法にて測定した。胆汁検体中のキザルチニブ及び AC886 を LC-MS/MS 法にて測定した。

投与 0～48 時間後にラット胆汁中に排泄されたキザルチニブ及び AC886 が、キザルチニブ投与量に占める平均比率は、それぞれ 6.04%及び 3.81%であり、合計 9.85%であった。

7. 薬物動態学的薬物相互作用

7.1 In vitro

7.1.1 キザルチニブによる CYP 阻害作用

添付資料番号：4.2.2.6-1 及び 4.2.2.6-2

主要な CYP 分子種に対するキザルチニブの阻害作用を、ヒト肝ミクロソーム（男女）を用いてそれぞれ検討した。

キザルチニブの CYP 阻害作用は、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、及び CYP3A4 について試験した。ヒト肝ミクロソーム（プール）を、8 濃度（0.31 µM、0.62 µM、1.25 µM、2.5 µM、5 µM、10 µM、20 µM、及び 40 µM）のキザルチニブ塩酸塩、NADPH（1 mM）、及び適切なプローブ基質とともに、37°C で 10～20 分間インキュベートした。適切な陽性及び陰性対照を置いた。インキュベーション終了時に反応を停止させ、検体中のプローブ基質代謝物の濃度を LC-MS/MS 法にて分析した。

キザルチニブは、検討したいずれのヒト CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、及び CYP3A4）も、評価した最高濃度 40 µM で阻害しなかった。

7.1.2 AC886 による CYP 阻害作用

添付資料番号：4.2.2.6-3 及び 4.2.2.6-4

一般的な薬物代謝酵素である CYP 分子種（CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、及び CYP3A4）に対する AC886 の阻害作用を、ヒト肝ミクロソーム（男女）を用いて、マルチプレックススクリーニングアッセイにて評価した。また、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、及び CYP3A4 に対する阻害作用を、個別の CYP アッセイにて評価した。ヒト肝ミクロソーム（プール）を、8 濃度（0.31 µM、0.62 µM、1.25 µM、2.5 µM、5 µM、10 µM、20 µM、及び 40 µM）の AC886 塩酸塩、NADPH（1 mM）、及び適切なプローブ基質とともに、37°C で 20 分間インキュベートした。陽性及び陰性対照を置いた。インキュベーション終了時に反応を停止させ、検体中のプローブ基質代謝物の濃度を LC-MS/MS 法にて分析した。溶媒対照条件と比較したときの代謝物生成量の減少率から、標準的な Hill の式を用いて IC_{50} 値を算出した。

CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、及び CYP2D6 の IC_{50} 値は、40 µM（評価した最高濃度）を上回ったため、算出できなかった。CYP3A4、CYP2C8、及び CYP2C19 の IC_{50} 値は、個別の CYP アッセイに基づき、26.2 µM、11.3 µM、及び 24.7 µM と算出された。CYP2C19 の IC_{50} 値は、マルチプレックス CYP アッセイに基づき、15.5 µM と算出された。

7.1.3 CYP3A4、CYP2C19、及び CYP2C8 に対する AC886 の Ki 値の決定

添付資料番号：4.2.2.6-5

CYP3A4、CYP2C19、及び CYP2C8 に対する AC886 の Ki を求めるとともに、AC886 による阻害作用が競合阻害、非競合阻害、不競合阻害のいずれに該当するかを評価した。ヒト肝ミクロソームを、8 濃度（0.31 µM、0.63 µM、1.25 µM、2.5 µM、5 µM、10 µM、20 µM、及び

40 μM［DMSO 溶液として添加］）の AC886 塩酸塩、NADPH（1 mM）、及びプローブ基質（Km の 5～0.039 倍［2 倍系列希釈］の濃度範囲）とともに、37°C で 20 分間インキュベートした。陽性及び陰性対照を置いた。インキュベーション終了時に反応を停止させ、検体中のプローブ基質代謝物の濃度を LC-MS/MS 法にて分析した。データを非線形回帰（GraphPad Prism ソフトウェア）にて解析し、全体のデータフィッティング（R^2）を用いて AC886 の阻害様式を評価した。さらに、AC886 の各濃度で得られたデータを Lineweaver-Burk プロットし、AC886 による阻害様式をプロットの収束値又は非収束性から評価した。

AC886 は CYP2C19 に対して弱い非競合阻害作用を有するが（Ki = 10.4 μM）、CYP3A4（Ki = 48.9 μM）及び CYP2C8（Ki = 60.8 μM）に対する阻害作用を示さなかった。AC886 は臨床上意味のある濃度で CYP 阻害作用を示さないと考えられる。

7.1.4　CYP 分子種に対するキザルチニブ及び AC886 の時間依存的阻害作用

添付資料番号：4.2.2.6-6 及び 4.2.2.6-7

CYP3A4、CYP2C8、及び CYP2C19 に対する AC886 の時間依存的阻害作用を評価した。ヒト肝ミクロソームを AC886 塩酸塩（10 μM）及び NADPH（1 mM）とともに 37°C でプレインキュベートし、プレインキュベーション開始 0、5、10、20、及び 30 分後に検体を分取した。その後、各 CYP 分子種の特異的基質の存在下で 10 分間インキュベートした。インキュベーション終了時に反応を停止させ、検体中のプローブ基質代謝物の濃度を LC-MS/MS 法にて分析した。

AC886 は、CYP3A4、CYP2C8、及び CYP2C19 に対する時間依存的阻害作用を示さなかった。過去の試験に一致する結果として、AC886 は 10 μM で CYP2C8 を介する代謝物生成を阻害したが、阻害作用は時間依存性を示さなかった。

追加試験を実施し、その他の分子種を含む CYP に対するキザルチニブ及び AC886 の時間依存的阻害作用を評価した。

キザルチニブ塩酸塩及び AC886 塩酸塩をヒト肝ミクロソームとともに、NADPH 生成系の存在下で、0 又は 30 分間プレインキュベートした後、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、及び CYP3A の各プローブ基質とともにインキュベートした。キザルチニブの CYP3A 阻害作用は濃度 10 μM、その他の CYP 分子種に対する阻害作用は 1 μM で評価した。AC886 の全 CYP 分子種に対する阻害作用は濃度 1 μM で評価した。キザルチニブ及び AC886 は、7 種の CYP 分子種に対し阻害作用を示さなかったか弱い阻害作用を示し、表 2.6.4.7-1 に示すように、プレインキュベーションありの条件となしの条件の間で、阻害作用に大きな差はみられなかった。

本試験では、キザルチニブ及び AC886 は臨床上意味のある濃度で CYP 分子種に対する時間依存的阻害作用を示さなかった。

表 2.6.4.7-1　ヒト肝ミクロソームの CYP 活性に対するキザルチニブ及び AC886 の阻害作用

CYP 分子種	プレインキュベーション（min）	キザルチニブ[c]	AC886[d]
CYP1A2	0	98.0	99.8
	30	100.2	98.8
CYP2B6	0	83.1	85.3
	30	74.4	78.1
CYP2C8	0	98.6	101.0
	30	97.9	94.1
CYP2C9	0	99.4	100.6
	30	100.5	99.7
CYP2C19	0	91.4	89.6
	30	91.0	93.9
CYP2D6	0	101.1	96.1
	30	99.0	100.6
CYP3A[a]	0	141.1	98.3
	30	108.5	94.3
CYP3A[b]	0	79.5	97.0
	30	71.3	83.5

データは、対照と比較したときの残存酵素活性の比率（%）として示す。
[a] ミダゾラムの 1'-水酸化活性
[b] テストステロンの 6β-水酸化活性
[c] CYP3A 阻害作用を 10 μM、その他の CYP 分子種に対する阻害作用を 1 μM で評価
[d] 1 μM で評価

7.1.5　キザルチニブの CYP 誘導作用

添付資料番号：4.2.2.6-8

新鮮ヒト肝細胞の初代培養をキザルチニブで処理し、CYP 分子種の発現に対する影響を検討した。肝臓 3 例からヒト肝細胞の新鮮培養 3 例を調製し、DMSO（0.1% v/v、溶媒対照）、フルマゼニル（25 μM、陰性対照）、3 濃度（1 μM、3 μM、又は 10 μM）のキザルチニブ塩酸塩、もしくは 3 種の既知のヒト CYP 誘導剤（すなわち、オメプラゾール［50 μM］、フェノバルビタール［750 μM］、及びリファンピン［20 μM］）を 1 日 1 回 3 日間連日処理した。処理後、Buffer RLT で肝細胞を回収し、RNA を単離した。定量逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（qRT-PCR）法にて RNA を分析し、CYP1A2、CYP2B6、及び CYP3A4 の mRNA 発現量に対するキザルチニブの影響を評価した。

全 3 例のヒト肝細胞培養で、キザルチニブは 10 μM までの濃度で、CYP1A2、CYP2B6、及び CYP3A4 の mRNA 発現量に対してほとんど又は全く影響を及ぼさなかった（発現量の増加率は、溶媒対照と比較して 2 倍未満で、かつ各陽性対照と比較して 10%未満であった）。

全 3 例のヒト肝細胞培養では、陽性対照（CYP 誘導剤）処理により、mRNA 発現量が予想通りの妥当な増加を示した。オメプラゾール及びフェノバルビタール処理により、CYP1A2 及び CYP2B6 の mRNA 発現量がそれぞれ 31.2～94.2 倍及び 8.23～61.7 倍増加した。一方、リファンピン処理により、CYP3A4 の mRNA 発現量が 4.14～84.2 倍増加した。

10 μM までのキザルチニブを培養ヒト肝細胞に 3 日間連日処理したとき、細胞形態に基づく評価（光学顕微鏡下）で細胞毒性は検出されなかった。

7.1.6　キザルチニブ及び AC886 とトランスポーターとの相互作用

添付資料番号：4.2.2.6-9 及び 4.2.2.6-10

ヒト BCRP、P-gp、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、BSEP、MATE1、又は MATE2-K による基質の輸送に対するキザルチニブ及び AC886 の阻害作用を評価した。

キザルチニブは 10 μM で、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、及び BCRP を介する輸送を阻害しなかった。キザルチニブは、P-gp による基質輸送を、正味の basal-to-apical flux に基づく評価で阻害しなかったが、基質の排出比に基づく評価で 37.9%阻害した。MATE2-K 及び BSEP を介する輸送に対するキザルチニブの阻害率は、それぞれ 35.7%及び 84.2%であった。また、OCT1 によるプローブ基質の取り込みが、キザルチニブ 10 μM の存在下で統計学的に有意に増加した（増加率 23.5%）。

AC886 は 10 μM で、OAT1、OAT3、OCT1、OATP1B1、OATP1B3、及び BSEP を介する輸送を阻害しなかった。AC886 は、P-gp による基質輸送を、正味の basal-to-apical flux に基づく評価で阻害しなかったが、基質の排出比に基づく評価で 25.9%阻害した。AC886 は、BCRP を介する輸送を、基質の正味の basal-to-apical flux に基づく評価で 29.1%阻害し、基質の排出比に基づく評価で 63.8%阻害した。AC886 は、OCT2、MATE1、及び MATE2-K を介する輸送をそれぞれ 15.7%、46.5%、及び 81.1%阻害した。

さらに、BSEP を介する輸送に対するキザルチニブの作用を濃度範囲 0.032～10 μM で検討した。キザルチニブは濃度依存的な阻害作用を示し、最大阻害率は 10 μM での 75.1%であった。IC_{50} の算出値は 4.92 μM であった。

さらに、MATE2-K を介する輸送に対する AC886 の作用を濃度範囲 0.032～10 μM で検討した。AC886 は濃度依存的な阻害作用を示し、最大阻害率は 10 μM での 42.2%であった。十分な阻害作用がみられなかったため、IC_{50} 値を算出できなかった。

7.1.7　キザルチニブの P 糖タンパクとの相互作用

添付資料番号：4.2.2.6-11

P-gp のモデル基質であるジゴキシンの経細胞輸送に対するキザルチニブの阻害作用を、MDR1 発現細胞（MDCKII-MDR1 細胞）を用いて、キザルチニブ濃度 1.00～100 μM で評価した。培地として、4%（w/v）BSA を含有する HBSS-H（pH 7.4）を用いた。被験物質の使用器具への吸着及び溶液中での沈殿を低減するため、HBSS-H（pH 7.4）に BSA を添加した。BSA の添加は、基質及び対照化合物の経細胞輸送に影響を及ぼさなかった。

ジゴキシンの Papp 比は、キザルチニブ非存在下（対照群）で 28.0 であり、最高濃度（100 μM）のキザルチニブ存在下で 5.9 まで低下した。これらの結果から、キザルチニブは P-gp を介する輸送活性を阻害すると判断した。溶解性を考慮し、P-gp を介する輸送に対する IC_{50} 値の評価には、濃度 50 μM 以下のキザルチニブ存在下で得られた結果を用いた。

P-gp を介する輸送に対するキザルチニブの IC_{50} 値は、9.55 μM と算出された。

7.1.8　AC886 の P 糖タンパクとの相互作用

添付資料番号：4.2.2.6-12

P-gp のモデル基質であるジゴキシンの経細胞輸送に対する AC886 の阻害作用を、MDR1 発現細胞（MDCKII-MDR1 細胞）を用いて、AC886 濃度 1.00～100 μM で評価した。培地として、4% (w/v) BSA を含有する HBSS-H (pH 7.4) を用いた。輸送試験中、濃度 50 及び 100 μM の AC886 存在下で若干の不溶物が観察されたため、IC_{50} 値の評価には、濃度 30 μM 以下の AC886 存在下で得られた結果を用いた。

いずれの濃度の AC886 存在下でも、ジゴキシンの基底側から管腔側への経細胞輸送の Papp 値の低下率（対照群との比較）は 30%未満であり、IC_{50} 値は 30 μM 超と推定された。

7.1.9　キザルチニブ及び AC886 とシタラビンの間の in vitro 薬物相互作用試験

添付資料番号：4.2.2.6-13

ヒト肝 S9 を用いて、キザルチニブ及び AC886 がシタラビンの代謝を阻害する可能性について検討した。

ヒト肝 S9（プール）を 6 濃度（0.1 μM、0.3 μM、1 μM、3 μM、10 μM、及び 30 μM）のキザルチニブ塩酸塩又は AC886 塩酸塩の存在下でシタラビン（50 μM）とともに 37°C で 15 分間インキュベートした。インキュベーション終了時に反応を停止させ、検体中の ara-U（シタラビンの代謝物）を LC-MS/MS 法にて測定した。シチジンデアミナーゼによるシタラビン代謝を阻害する薬剤の陽性対照としてゲムシタビンを用いた。

キザルチニブ及び AC886 は、30 μM までの濃度でシタラビンからの ara-U の生成を阻害しなかった。ゲムシタビンは ara-U の生成を阻害し、IC_{50} 値は 914 μM であった。

7.2　In vivo

In vivo 薬物相互作用試験は実施しなかった。

8. その他の薬物動態試験

その他の in vivo 薬物相互作用試験は実施しなかった。

9. 考察及び結論

一連の in vitro 及び in vivo 試験の結果に基づき、キザルチニブとその活性代謝物 AC886 は許容できる薬物動態及び ADME プロファイルを有することが示された。

9.1 吸収

キザルチニブをマウス、ラット、及びイヌに経口投与したときの AUC は、評価した用量範囲で投与量にほぼ比例した。いずれの非臨床動物種でも、曝露量は許容できるものであり、ほぼイヌ≥ラット≥マウス>サルの順に高かった。バイオアベイラビリティは、サルでラット及びイヌと比較して低く（15% vs 30%～40%）、このような種差はサルでのクリアランスが相対的に高いことに相関すると考えられる。

雄ラットでは、キザルチニブのバイオアベイラビリティが、絶食下の 42%から食餌によりほぼ 100%まで上昇したことから、キザルチニブの吸収が食餌により増加することが示唆された。

雌雄動物を用いたキザルチニブの薬物動態試験では、ラット及びイヌでの平均血漿中曝露量が雄と比較して雌で 1.4～2 倍高かったが、サルでの曝露量に性差はみられなかった。これらの試験では各群の例数（3 例）が少なかったものの、薬物動態の性差も種特異的である可能性が示唆された。

非臨床動物種及びヒトの肝ミクロソームとの in vitro インキュベーションでは、主要代謝物 AC886 が同定された。In vitro 結合アッセイ及び細胞を用いたアッセイに基づき、AC886 の活性プロファイルはキザルチニブと同様であることが示された。検討したいずれの非臨床動物種でも、AC886 は最初の採血時点（投与 15 分後）で検出され、血漿中濃度推移はキザルチニブと概ね同様であった。マウス、ラット、及びイヌでは、低用量投与後のキザルチニブに対する AC886 の曝露量比（AUC の比として評価）は、ラットで平均 36%、イヌで平均 20%（反復投与試験の結果）、マウスで約 100%であった。AC886 の $T_{1/2}$ は、マウス及びラットではキザルチニブと同程度又はキザルチニブより短かったが、イヌではキザルチニブより長かった。ラットへの経口投与後、AC886 のバイオアベイラビリティは低かった。

キザルチニブ塩酸塩静脈内投与後のクリアランスは、雄ラット及びイヌで低く（いずれも 7 mL/min/kg）、サルで高かった（28 mL/min/kg）。ラット、イヌ、及びサルでは、終末相分布容積が高値（3～5 L/kg）であった。

キザルチニブの in vitro の Caco-2 細胞単層膜透過性は中程度であった。MDR1 発現細胞（MDCKII-MDR1 細胞）を用いて、P-gp（MDR1）を介するキザルチニブの輸送を評価した。Net flux ratio が 3.6 であったことから、キザルチニブは、基底側から管腔側へと経細胞輸送されると判断した。また、キザルチニブの基底側から管腔側への経細胞輸送は、P-gp のモデル阻害剤により阻害された。これらの結果は、キザルチニブが P-gp の基質であることを示唆している。

9.2　分布

キザルチニブ及び AC886 の PPB は、検討した全 5 種の動物種（マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒト）で高かった（検討した全 5 種の動物種で≥99%）。キザルチニブの HSA に対する結合率は、総血漿タンパクに対する結合率と同程度であった。キザルチニブ及び AC886 の血漿中／全血中濃度比が 1 以下であったことから、血球に分布又は吸着されることが示唆された。

Long-Evans ラットの有色組織（ブドウ膜及び皮膚）への放射能分布から、［^{14}C］キザルチニブ由来放射能とメラニンとの結合が可逆的であることが示唆された。

ラットでは、静脈内又は経口投与後のキザルチニブの脳内移行性は低く、CSF 中では検出されなかった。ラット組織分布試験では、雌雄ラットに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を単回経口投与したとき、キザルチニブ由来放射能は投与後 24 時間を通して広範な組織分布を示したが、CNS にはほとんど移行しなかった。最高組織中濃度に達したのは、大半の組織で投与 2 又は 4 時間後であり、最も放射能濃度が高かった組織は、消化管内容物、並びに代謝及び排泄に関連する器官（肝臓及び腎臓）であった。

ラットを用いた定量的組織分布試験の結果から、体重 70 kg の男性健康被験者に［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩（100 μCi）を経口投与したとき、米国連邦規則集の基準値に基づき、放射能への過剰曝露は生じないと判断した。

9.3　代謝

マウス、ラット、及びヒト肝ミクロソームとインキュベートしたときのキザルチニブの固有クリアランスは低値を示した。イヌ及びカニクイザルの肝ミクロソームでの固有クリアランスは、それぞれ中程度及び高値であった。サルにおいてキザルチニブの in vivo クリアランスが高かった原因は、肝臓中での代謝クリアランスが他の非臨床動物種より高かったためと判断した。

肝ミクロソーム及び組換え CYP 分子種を用いた CYP 分子種同定試験では、キザルチニブ、AC886 はともに CYP3A4/5 の基質であること、また、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、又は CYP2D6 の関与はほとんど又は全くないことが示された。キザルチニブは、組換えヒト CYP3A4/5 及びヒト肝 S9 分画により活性代謝物 AC886 に変換されることが確認された。

マウスにキザルチニブ塩酸塩を単回経口投与したとき、投与 2～24 時間後の血漿中濃度はキザルチニブと AC886 で同程度であり、薬理活性体（キザルチニブ + その活性代謝物）濃度は、キザルチニブの薬物動態濃度の約 2 倍であることが示された。ラットの排泄／マスバランス試験では、血漿中の主要代謝物は AC886 であることが示された。イヌの排泄／マスバランス試験では、投与 24 時間後における血中主要代謝物は AC886 であったが、AC886 以外の代謝物（モルフォリン環の酸化体と同定）が、投与 2 及び 4 時間後に投与 24 時間後より高濃度で検出された。これらの結果から、血漿中代謝物プロファイルは、ラットとイヌの間で種差を示した。ヒトでは、［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩投与後の血漿中の主要成分が、未変化

体及び AC886 であったことから、ラットでの血漿中代謝物プロファイルはヒトでのプロファイルと類似する。ラットでの胆汁中代謝物プロファイルを検討したところ、キザルチニブの主要代謝経路では、イソキサゾール側鎖が酸化及び抱合を受け、モルフォリン環が酸化を受け開裂することが示された。この主要代謝経路はヒトにおいても認められた。

9.4　排泄

ラット及びイヌの排泄／マスバランス試験では、両動物種でのキザルチニブの主要排泄経路が糞中排泄であることが示された。［^{14}C］キザルチニブを用いたラット及びイヌ ADME 試験では、キザルチニブ関連総放射能の尿中回収率が 2%未満、糞中回収率が 87%超であった。ラットに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を経口投与したとき、投与量の約 6%及び 4%がそれぞれキザルチニブ及び AC886 として胆汁排泄された。その他に数種の代謝物が検出された。

9.5　薬物相互作用

CYP との相互作用を検討した in vitro 阻害及び誘導試験では、キザルチニブが主要なヒト CYP 分子種に対する阻害作用（CYP3A4、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、及び CYP2D6）及び誘導作用（CYP3A4、CYP2B6、及び CYP1A2）を有さないことが示された。AC886 は、CYP2C19 に対する弱い阻害作用（Ki = 10.4 μM）を有するが、その他 6 種の分子種（IC_{50} > 40 μM）を阻害しないことが明らかになった。キザルチニブ及び AC886 は、これらの分子種に対する時間依存的阻害作用を示さず、シチジンデアミナーゼによるシタラビン代謝を阻害しなかった。これらの試験の結果から、キザルチニブの投与後、代謝的に誘発される薬物－薬物相互作用が発生する可能性は低いことが示唆された。ヒトトランスポーター発現 MDCKII 細胞を用いた in vitro 試験では、キザルチニブは、濃度 10 μM で OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、及び BCRP に対する阻害作用を示さず、MATE2-K に対する弱い阻害作用及び BSEP に対する阻害作用を示した。AC886 は、濃度 10 μM で OAT1、OAT3、OCT1、OATP1B1、及び OATP1B3 に対する阻害作用を示さず、OCT2、MATE1、MATE2-K、及び BCRP に対する弱い阻害作用を示した。しかし、BSEP を除く上記の評価したいずれのトランスポーターに対するキザルチニブ及び AC886 の IC_{50} 値も、10 μM 超であった。P-gp を介する輸送に対するキザルチニブ及び AC886 の IC_{50} 値は、それぞれ 9.55 μM 及び 30 μM 超であった。

9.6　結論

以上のように、キザルチニブの吸収、分布、代謝、及び排泄を詳細に評価した。キザルチニブ経口投与後の曝露量は、評価した非臨床動物種（ラット、マウス、及びイヌ）で概ね用量に比例した増加を示した。評価した非臨床動物種では、キザルチニブは主要活性代謝物 AC886 に代謝された。キザルチニブ及び AC886 の代謝に関与する主な分子種は CYP3A4/5 と考えられる。キザルチニブ及び AC886 の PPB は高く（検討した全動物種［ヒトを含む］で≥99%）、キザルチニブは、非臨床動物種で、AML 治療薬としての標的組織である血球及び

骨髄を含む各種組織に広く分布する。非臨床動物種でもヒトと同様、キザルチニブは主に腎臓以外の経路で排泄される。キザルチニブは、in vitro 評価で P-gp の基質及び阻害薬であることが示唆されているが、主要な CYP 分子種に対して誘導作用及び意味のある阻害作用を示さない。キザルチニブは、ほとんどの動物種（ヒトを含む）で高い in vitro 代謝安定性を示した。キザルチニブの全般的な ADME プロファイルから、キザルチニブの薬理作用及び毒性を 4 種の非臨床動物種で評価すること、また、キザルチニブを AML の治療薬として使用することの妥当性が示された。

10. 参考文献一覧

1. Guidance for Industry: Bioanalytical Methods Validation (draft revision 1). September, 2013. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (FDA), (CDER) (CVM).

目次

2.6.5.1. 薬物動態試験：一覧表 **4**
2.6.5.2. 分析方法及びバリデーション試験 **8**
2.6.5.2.A. トキシコキネティクスのバリデーション 8
2.6.5.2.B. 薬物動態試験に用いた分析法 11
2.6.5.2.C. 投与液 12
2.6.5.2.D. 血漿から血球への移行性 14
2.6.5.3. 薬物動態試験：吸収：単回投与 **16**
2.6.5.3.A. キザルチニブの Caco-2 細胞単層膜透過性 16
2.6.5.3.B. P 糖タンパクを介するキザルチニブの輸送 17
2.6.5.3.C. マウスでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性 18
2.6.5.3.D. ラットでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性 19
2.6.5.3.E. イヌでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性 20
2.6.5.3.F. イヌでのキザルチニブの薬物動態：投与液の比較 21
2.6.5.3.G. サルでのキザルチニブの薬物動態 22
2.6.5.4. 薬物動態試験：吸収：反復投与 **23**
2.6.5.4.A. ラットでのキザルチニブの反復投与薬物動態 23
2.6.5.5. 薬物動態試験：分布 **24**
2.6.5.5.A. ラットでの［^{14}C］キザルチニブの組織分布及び QWBA 試験 24
2.6.5.5.B. ラットでの［^{14}C］キザルチニブの組織分布試験及び臨床試験に際しての吸収線量の予測 31
2.6.5.6. 薬物動態試験：タンパク結合 **39**
2.6.5.6.A. キザルチニブの血漿タンパク結合率（マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒト）39
2.6.5.6.B. AC886 の血漿タンパク結合率（マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒト） 40
2.6.5.6.C. キザルチニブのヒト血漿タンパク結合率 41
2.6.5.7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 **42**
2.6.5.8. 薬物動態試験：その他の分布試験 **43**
2.6.5.8.A. ラットでの脳への分布 43
2.6.5.8.B. ヒトでの血漿中／全血中濃度比 44
2.6.5.8.C. ヒトでの血漿中／全血中濃度比 45
2.6.5.8.D. ヒトでの血漿中／全血中濃度比 46
2.6.5.9. 薬物動態試験：代謝：In vivo **47**
2.6.5.9.A. マウスでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態 47
2.6.5.9.B. ラットでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態 48
2.6.5.9.C. ラットでの AC886 の薬物動態 49
2.6.5.9.D. ラットでのキザルチニブの反復投与薬物動態 50

2.6.5.9.E. イヌでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態（製剤の比較） 52
2.6.5.9.F. サルでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態（製剤の比較） 55
2.6.5.9.G. キザルチニブを投与したラットの腎臓組織中の代謝物プロファイル 56
2.6.5.9.H. イヌでの［^{14}C］キザルチニブの代謝物プロファイル 57
2.6.5.9.I. キザルチニブを投与したイヌの肝臓及び腎臓組織中の代謝物プロファイル 59
2.6.5.9.J. ラットでの［^{14}C］キザルチニブの代謝物プロファイル 62
2.6.5.10. 薬物動態試験：代謝：In vitro 64
2.6.5.10.A. ラット、イヌ、サル、及びヒト肝細胞を用いた代謝安定性試験 64
2.6.5.10.B. マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒトの肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験 65
2.6.5.10.C. ヒト肝 S9 を用いたキザルチニブ及び AC886 の安定性試験 66
2.6.5.10.D. ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いたキザルチニブの CYP 分子種同定試験 67
2.6.5.10.E. ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いた AC886 の CYP 分子種同定試験 68
2.6.5.10.F. ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いたキザルチニブから AC886 生成の CYP 分子種同定試験 69
2.6.5.11. 薬物動態試験：推定代謝経路 70
2.6.5.11.A. ラット胆汁中代謝物から推定される代謝経路 70
2.6.5.12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 72
2.6.5.12.A. キザルチニブによる CYP 阻害作用 72
2.6.5.12.B. AC886 による CYP 阻害作用 73
2.6.5.12.C. CYP3A4、CYP2C19、及び CYP2C8 に対する AC886 の Ki 値 74
2.6.5.12.D. CYP 分子種に対するキザルチニブ及び AC886 の時間依存的阻害作用 75
2.6.5.12.E. CYP 分子種に対するキザルチニブ及び AC886 の時間依存的阻害作用（追加試験） 76
2.6.5.12.F. キザルチニブの CYP 誘導作用 77
2.6.5.12.G. キザルチニブ及び AC886 とシタラビンの間の in vitro 薬物相互作用試験 79
2.6.5.12.H. キザルチニブ及び AC886 とトランスポーターとの相互作用 80
2.6.5.12.I. キザルチニブ及び AC886 とトランスポーターとの相互作用 83
2.6.5.12.J. キザルチニブの P 糖タンパクとの相互作用 84
2.6.5.12.K. AC886 の P 糖タンパクとの相互作用 85
2.6.5.13. 薬物動態試験：排泄 86
2.6.5.13.A. ラットでの［^{14}C］キザルチニブのマスバランス試験 86
2.6.5.13.B. イヌでの［^{14}C］キザルチニブのマスバランス試験 88
2.6.5.14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中 89
2.6.5.15. 薬物動態試験：薬物相互作用 91

2.6.5.16. 薬物動態試験：その他.....92

2.6.5.1. 薬物動態試験：一覧表

				Test Article: Quizartinib dihydrochloride		
Type of Study	**Test System**	**Analyte**	**Method of Admin.**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Absorption						
Caco-2 cell permeability	Caco-2 Cells	Quizartinib	In vitro	Daiichi Sankyo Co., Ltd.	4.2.2.2-1	4.2.2.2
P-gp substrate assessment	MDCKII-MDR1 and MDCKII Wild Type Cells	[^{14}C] Quizartinib	In vitro	[redacted]	4.2.2.2-2	4.2.2.2
Single dose pharmacokinetics	Mouse/nu/nu	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.2-3	4.2.2.2
Single dose pharmacokinetics	Mouse/nu/nu	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.2-4	4.2.2.2
Single dose pharmacokinetics	Rat/SD	Quizartinib	Intravenous Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.2-5	4.2.2.2
Repeated dose pharmacokinetics	Rat/SD	Quizartinib	Oral (gavage)	[redacted]	4.2.2.2-6	4.2.2.2
Single dose pharmacokinetics	Dog/Beagle	Quizartinib	Intravenous Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.2-7 ‡	4.2.2.2
Single dose pharmacokinetics	Dog/Beagle	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.2-8 §	4.2.2.2
Single dose pharmacokinetics	Cynomolgus Monkey	Quizartinib	Intravenous Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.2-9 ¶	4.2.2.2
Tissue Distribution						
Tissue distribution	Rat/SD	[^{14}C] Quizartinib	Oral (gavage)	[redacted]	4.2.2.3-1	4.2.2.3
Quantitative tissue distribution and whole body autoradiography	Rat/Long Evans	[^{14}C] Quizartinib	Oral (gavage)	[redacted]	4.2.2.3-2	4.2.2.3
Plasma Protein Binding						
Plasma protein binding	Mouse, Rat, Dog, Monkey, Human	Quizartinib AC886	In vitro	[redacted]	4.2.2.3-3	4.2.2.3

				Test Article: Quizartinib dihydrochloride		
Type of Study	**Test System**	**Analyte**	**Method of Admin.**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Plasma protein binding	Human	Quizartinib	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.3-4 ††	4.2.2.3
Other Tissue Distribution						
Brain penetration	Rat/SD	Quizartinib	Intravenous Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.3-5	4.2.2.3
Erythrocyte binding	Human blood	Quizartinib	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.3-6	4.2.2.3
Blood partitioning	Human blood	Quizartinib, AC886	In vitro	[redacted]	4.2.2.3-7	4.2.2.3
Blood partitioning	Human blood	Quizartinib, AC886	In vitro	Daiichi Sankyo Co., Ltd.	4.2.2.3-8	4.2.2.3
Metabolism						
Single dose pharmacokinetics	Mouse/nu/nu	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-5	4.2.2.4
Single dose pharmacokinetics	Rat/SD	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-6	4.2.2.4
Single dose pharmacokinetics	Rat/SD	AC886	Intravenous Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-7	4.2.2.4
Repeated dose pharmacokinetics	Rat/SD	Quizartinib	Oral (gavage)	[redacted]	4.2.2.2-6	4.2.2.4
Single dose pharmacokinetics; comparison of formulations	Dog/Beagle	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-9 ¶	4.2.2.4
Single dose pharmacokinetics; comparison of formulations	Cynomolgus Monkey	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-11 ¶	4.2.2.4
In vivo metabolite profiling in kidney homogenates	Rat/SD	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-12 ‡‡	4.2.2.4
In vivo metabolite profiling in liver homogenates	Dog/Beagle	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-13 ‡‡	4.2.2.4
In vivo metabolite profiling in rats	Rat/SD	Quizartinib	Oral (gavage)	[redacted]	4.2.2.3-1	4.2.2.4
In vivo metabolite profiling in dogs	Dog/Beagle	Quizartinib	Oral (gavage)	[redacted]	4.2.2.4-10	4.2.2.4
Metabolic stability of quizartinib	Hepatocytes Rat, Dog, Monkey, Human	Quizartinib	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-1 ††	4.2.2.4

				Test Article: Quizartinib dihydrochloride		
Type of Study	**Test System**	**Analyte**	**Method of Admin.**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Metabolic stability of quizartinib	Liver microsomes Mouse, Rat, Dog, Monkey, Human	Quizartinib	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-2	4.2.2.4
Metabolic stability of quizartinib and AC886	Liver S9 fraction Human	Quizartinib AC886	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-3	4.2.2.4
Reaction phenotyping of quizartinib and AC886	Human liver microsomes, recombinant human CYP enzymes	Quizartinib AC886	In vitro	[redacted]	4.2.2.4-4	4.2.2.4
Metabolic Pathways in Rats	Rat/SD	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-8	4.2.2.4
Excretion						
Mass balance study in rats	Rat/SD	Quizartinib	Oral (gavage)	[redacted]	4.2.2.3-1	4.2.2.5
Mass balance study in dogs	Dog/Beagle	Quizartinib	Oral (gavage)	[redacted]	4.2.2.4-10	4.2.2.5
Excretion into bile	Rat/SD	Quizartinib	Oral (gavage)	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.4-8	4.2.2.5
Pharmacokinetic Drug Interactions						
CYP inhibition/induction by in liver microsomes and hepatocytes	Human	Quizartinib	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.6-1 †	4.2.2.6
CYP2B6 and CYP2C8 inhibition in liver microsomes	Human	Quizartinib	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.6-2	4.2.2.6
CYP inhibition in liver microsomes	Human	AC886	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.6-3	4.2.2.6
CYP2B6 and CYP2C8 inhibition in liver microsomes	Human	AC886	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.6-4	4.2.2.6
Inhibition constant (K_I) determination for CYP3A4, 2C19 and 2C8 in liver microsomes	Human	AC886	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.6-5	4.2.2.6
Time-dependent inhibition of CYP3A4, 2C19 and 2C8 in liver microsomes	Human	AC886	In vitro	Ambit Biosciences Corp.	4.2.2.6-6	4.2.2.6
Time-dependent inhibition of CYP Enzymes by AC886 (additional study)	Human	AC886	In vitro	[redacted]	4.2.2.6-7	4.2.2.6

				Test Article: Quizartinib dihydrochloride		
Type of Study	**Test System**	**Analyte**	**Method of Admin.**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
CYP induction	Human Hepatocytes	Quizartinib	In vitro	[redacted]	4.2.2.6-8	4.2.2.6
In vitro DDI with cytarabine	Human liver S9	Quizartinib, AC886	In vitro	Daiichi Sankyo Co., Ltd.	4.2.2.6-13	4.2.2.6
P-gp inhibition assessment	MDCKII-MDR1 Cells	Quizartinib	In vitro	[redacted]	4.2.2.6-11	4.2.2.6
P-gp inhibition assessment	MDCKII-MDR1 Cells	AC886	In vitro	[redacted]	4.2.2.6-12	4.2.2.6
Transporter assay	MDCKII cells and Sf9 insect cell vesicles expressing transporters	Quizartinib, AC886	In vitro	[redacted]	4.2.2.6-9	4.2.2.6
BCRP and P-gp inhibition	MDCKII cells expressing BCRP and P-gp	Quizartinib, AC886	In vitro	Daiichi Sankyo Co., Ltd.	4.2.2.6-10	4.2.2.6
Other						
No studies conducted						

BCRP: breast cancer resistance protein; CYP: cytochrome P450; DDI: drug-drug interaction; MDCK: Madin Darby canine kidney; MDR1: multidrug resistance 1; P-gp: P-glycoprotein; SD: Sprague-Dawley.
†Report prepared by Ambit Biosciences Corp.; Induction assay conducted by [redacted].
‡ Analysis and report prepared by Ambit Biosciences Corp.; In-life studies performed at [redacted] and [redacted]
§ Analysis and report prepared by Ambit Biosciences Corp.; In-life studies performed at [redacted]
¶ Analysis and report prepared by Ambit Biosciences Corp.; In-life studies performed at [redacted]
†† Report prepared by Ambit Biosciences Corp.; Assay conducted at [redacted].
‡‡ Analysis and report prepared by Ambit Biosciences Corp.; In-life studies performed at [redacted].

2.6.5.2. 分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2.A. トキシコキネティクスのバリデーション

Species/ Sample Matrix	Analyte	Calibration Range (ng/mL)	Type of Assay (instrument)	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	Attachment Number
Rat / plasma	Quizartinib	5 to 1000	LC-MS/MS (API4000)	Extraction: Phenomenex Strata-X-C 96-well extraction plate Validation Type: Full Internal Standard: AC279 Selectivity: Acceptable (6 individual plasma) Calibration curve: RE±15% (±20% at LLOQ) $r^2 \geq 0.99$ Quality control samples: Intra-assay: precision CV ≤ 15% (≤20% at LLOQ); accuracy −15% ≤ RE ≤ 15% (−20% ≤ RE ≤ 20% at LLOQ) Inter-assay: precision CV ≤ 15%; accuracy −15% ≤ RE ≤ 15% Freeze/Thaw Cycles (−80°C): Stable for 3 cycles Short term stability room temperature: 3 h Long Term Storage Stability (−80°C): 135 days Post-preparative stability (4°C): 3 days Standard solution stability (−20°C) 1.00 mg/mL: 147 days 50 ng/mL: 133 days Dilution reproducibility: 100-fold Assay carry-over: not observed	4.2.2.1-1
Rat / plasma	Quizartinib, AC886	5 to 1000	LC-MS/MS (API4000)	Extraction: Phenomenex Strata-X-C 96-well extraction plate Validation Type: Full Internal Standard: AC279, AC220-d4, AC886-d4 Quizartinib Selectivity: Acceptable (6 individual plasma) Calibration curve: RE±15% (±20% at LLOQ) $r^2 \geq 0.99$ Quality control samples: Intra-assay: precision CV ≤ 15% (≤20% at LLOQ); accuracy −15% ≤ RE ≤ 15% (−20% ≤ RE ≤ 20% at LLOQ)	4.2.2.1-2 / 4.2.2.1-3 / 4.2.2.1-4

Species/ Sample Matrix	Analyte	Calibration Range (ng/mL)	Type of Assay (instrument)	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	Attachment Number
				Inter-assay: precision CV ≤ 15%; accuracy −15% ≤ RE ≤ 15% Freeze/Thaw Cycles (−80°C): Stable for 3 cycles Short term stability room temperature: 20 h Long Term Storage Stability (−80°C): 204 days Post-preparative stability (4°C): 4 days Standard solution stability (4°C) 1.02 mg/mL: 54 days 100 µg/mL: 50 days; 50 ng/mL: 47 days Dilution reproducibility: 100-fold Assay carry-over: not observed AC886 Selectivity: Acceptable (6 individual plasma) Calibration curve: RE±15% (±20% at LLOQ) $r^2 \geq 0.99$ Quality control samples: Intra-assay: precision CV ≤ 15% (≤20% at LLOQ); accuracy −15% ≤ RE ≤ 15% (−20% ≤ RE ≤ 20% at LLOQ) Inter-assay: precision CV ≤ 15%; accuracy −15% ≤ RE ≤ 15% Freeze/Thaw Cycles (−80°C): Stable for 3 cycles Short term stability room temperature: 20 h Long Term Storage Stability (−80°C): 204 days Post-preparative stability (4°C): 5 days Standard solution stability (4°C) 1.03 mg/mL: 54 days; 100 µg/mL: 50 days; 50 ng/mL: 47 days Dilution reproducibility: 100-fold Assay carry-over: not observed	
Dog / plasma	Quizartinib	5 to 1000	LC-MS/MS (API4000)	Extraction: Phenomenex Strata-X-C 96-well extraction plate Validation Type: Partial Internal Standard: AC279 Selectivity: Acceptable (6 individual plasma) Calibration curve: RE±15% (±20% at LLOQ) $r^2 \geq 0.99$ Quality control samples:	4.2.2.1-5

Species/ Sample Matrix	Analyte	Calibration Range (ng/mL)	Type of Assay (instrument)	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	Attachment Number
				Intra-assay: precision CV ≤ 15% (≤20% at LLOQ); accuracy −15% ≤ RE ≤ 15% (−20% ≤ RE ≤ 20% at LLOQ) Inter-assay: precision CV ≤ 15%; accuracy −15% ≤ RE ≤ 15% Freeze/Thaw Cycles (−80°C): Stable for 3 cycles Short term stability room temperature: 3 h Long Term Storage Stability (−80°C): 36 days Post-preparative stability (4°C): 3 days Dilution reproducibility: 100-fold Assay carry-over: not observed	
Monkey / plasma	Quizartinib, AC886	1 to 1000	LC-MS/MS (Quattro LC)	Extraction: liquid-liquid extraction Validation Type: Full Internal Standard: AC279 Quizartinib/AC886 Selectivity: Acceptable (6 individual plasma) Calibration curve: RE±15% (±20% at LLOQ) $r \geq 0.99$ Quality control samples: Intra-assay: precision CV ≤ 15% (≤20% at LLOQ); accuracy −15% ≤ RE ≤ 15% (−20% ≤ RE ≤ 20% at LLOQ) Inter-assay: precision CV ≤ 15%; accuracy −15% ≤ RE ≤ 15% Recovery: 117% Matrix effect: DEV ≤ 15% Freeze/Thaw Cycles (−80°C): Stable for 3 cycles Short term stability room temperature: 24 h Long Term Storage Stability (−20°C and −70°C): 34 days Post-preparative stability (room temperature): 81 h Dilution reproducibility: 1000-fold Assay carry-over: not observed	4.2.2.1-6

CV: coefficient of variation; DEV: deviation; LC-MS/MS: liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLOQ: lower limit of quantitation;
r : coefficient of determination; RE: relative error.

2.6.5.2.B. 薬物動態試験に用いた分析法

Attachment Number	Species	Matrix	Analyte	Volume (µL)	IS
4.2.2.2-3	Mouse	Plasma	Quizartinib	25	AB300000 or AC010279
4.2.2.2-4	Mouse	Plasma	Quizartinib	20	AC012168
4.2.2.4-5	Mouse	Plasma	Quizartinib, AC886	20	AC012168
4.2.2.2-5	Rat	Plasma	Quizartinib	20 or 25	AB300000 or AC010279
4.2.2.4-6	Rat	Plasma	Quizartinib, AC886	20	AC012168
4.2.2.4-11	Rat	Plasma	AC886	20	AC012168
4.2.2.2-6	Rat	Plasma	Quizartinib, AC886	50	AC010279
4.2.2.2-7	Dog	Plasma	Quizartinib	25 or 50	AB300000 or AC010279
4.2.2.2-8	Dog	Plasma	Quizartinib	20	AC010279
4.2.2.4-9	Dog	Plasma	Quizartinib, AC886	20	AC012168
4.2.2.2-9	Monkey	Plasma	Quizartinib	20 or 25	AC010279
4.2.2.4-11	Monkey	Plasma	Quizartinib, AC886	25	AC012168

2.6.5.2.C. 投与液

Species/ Sample Matrix	Analyte	Validation Range	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	Attachment Number
Solution/5% HPβCD in purified water	Quizartinib	0.05 mg/mL to 10 mg/mL	HPLC-UV		Precision (%CV) 0.05 mg/mL: 0.6% 10 mg/mL: 1.9% Accuracy 0.05 mg/mL: 103% 10 mg/mL: 101% Room temperature stability Stable for 1 day 4°C stability Stable for 8 days	4.2.2.1-7
Solution/5% HPβCD in purified water	Quizartinib	0.03 mg/mL to 10 mg/mL	HPLC-UV		Precision (%CV) 0.03 mg/mL: 0.8% 10 mg/mL: 1.0% Accuracy 0.03 mg/mL: 102% 10 mg/mL: 100% 20°C−25°C Stability (0.03 mg/mL) Stable for 25 h 2°C−8°C stability (0.03 mg/mL) Stable for 8 days	4.2.2.1-8
Solution/22% (w/v) HPβCD in purified water	Quizartinib	0.5 mg/mL to 60 mg/mL	HPLC-UV		Precision (%CV) 0.5 mg/mL: 1.8% 1.0 mg/mL: 1.2% 60 mg/mL: 0.3% Accuracy 0.5 mg/mL: 103% 1.0 mg/mL: 102% 60 mg/mL: 99.3% Room temperature stability Stable for 4 days 4°C stability Stable for 7 days	4.2.2.1-9

Species/ Sample Matrix	Analyte	Validation Range	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	Attachment Number
Solution/5% and 22% (w/v) HPβCD in purified water	Quizartinib	5% (w/v) HPβCD: 0.1 mg/mL to 10 mg/mL 22% (w/v) HPβCD:0.9 mg/mL to 60 mg/mL	HPLC-UV		Precision (%CV) 5% (w/v) HPβCD 0.1 mg/mL: 0.4% 10 mg/mL: 1.1% 22% (w/v) HPβCD: 0.9 mg/mL: 0.6% 60 mg/mL: 0.3% Accuracy 5% (w/v) HPβCD: 0.1 mg/mL: 102% 10 mg/mL: 104% 22% (w/v) HPβCD: 0.9 mg/mL: 94.0% 60 mg/mL: 108% Room temperature stability Stable for 24 h 4°C stability Stable for 24 h, 87 days	4.2.2.1-10
Solution/5% (w/w) HPβCD in purified water	Quizartinib and 5 impurities: (AB200631, AC016678, AC016679, AC016928, and AC012917)	Quizartinib : 0.04 to 0.3 mg/mL each impurities: 0.002 to 0.04 mg/mL	HPLC-UV		Precision (%CV, inter-day) Quizartinib 1.0 mg/mL: 1.723% Quizartinib 1.0 mg/mL spiked with 2% of each impurity: 1.432% Quizartinib 1.0 mg/mL spiked with 4% of each impurity: 1.518% Accuracy (inter-day) Quizartinib 1.0 mg/mL: 94.9% Quizartinib 1.0 mg/mL spiked with 2% of each impurity: 101.7% Quizartinib 1.0 mg/mL spiked with 4% of each impurity: 97.0% Room temperature stability Stable for 14 days 4°C stability Stable for 8 days at refrigerated	4.2.2.1-11

2.6.5.2.D. 血漿から血球への移行性

Test Article: Quizartinib dihydrochloride
AC886 dihydrochloride

Attachment Number			4.2.2.1-12								
Study System			**In vitro**								
Test System			Test articles at 20, 200, and 2000 ng/mL were spiked to each blood obtained from the rat, dog, and monkey and were kept either on ice or at 37°C. Plasma was separated 0 (just after), 5, 10, 30, 60, and 120 min after addition of each test article into blood. Plasma concentrations of quizartinib and AC886 were quantified by LC-MS/MS method.								
Species/ Sample Matrix			**Rat, dog and monkey / Plasma**								
Species	**Test substance**	**Time (min)**	**Plasma concentrations (ng/mL)**								
			20 ng/mL[b)]			**200 ng/mL[b)]**			**2000 ng/mL[b)]**		
			37°C	**On ice**	**Ratio[c)]**	**37°C**	**On ice**	**Ratio[c)]**	**37°C**	**On ice**	**Ratio[c)]**
Rat	Quizartinib	0	28.6 ± 1.3 [a)]	27.8 ± 0.7	97.2	290 ± 7	337 ± 8	116.2	2790 ± 20	2740 ± 40	98.2
		5	26.7 ± 0.6	26.1 ± 1.3	97.8	275 ± 2	330 ± 13	120.0	2770 ± 40	2760 ± 120	99.6
		10	27.4 ± 1.0	27.9 ± 0.3	101.8	276 ± 7	338 ± 15	122.5	2760 ± 30	2720 ± 30	98.6
		30	26.6 ± 1.7	27.4 ± 1.0	103.0	279 ± 6	339 ± 9	121.5	2810 ± 40	2710 ± 30	96.4
		60	26.6 ± 0.4	26.9 ± 0.5	101.1	282 ± 4	332 ± 9	117.7	2770 ± 30	2710 ± 60	97.8
		120	26.5 ± 0.5	27.0 ± 0.2	101.9	283 ± 2	363 ± 17	128.3	2800 ± 60	2680 ± 40	95.7
	AC886	0	25.4 ± 1.5	25.1 ± 0.9	98.8	279 ± 12	283 ± 12	101.4	2730 ± 60	2990 ± 330	109.5
		5	22.0 ± 1.3	23.3 ± 2.8	105.9	261 ± 8	271 ± 5	103.8	2650 ± 40	2780 ± 40	104.9
		10	21.3 ± 2.7	25.9 ± 1.4	121.6	255 ± 8	277 ± 5	108.6	2540 ± 60	2790 ± 60	109.8
		30	23.0 ± 1.0	24.9 ± 0.9	108.3	255 ± 2	283 ± 5	111.0	2620 ± 20	2770 ± 140	105.7
		60	23.9 ± 0.8	25.7 ± 1.3	107.5	253 ± 15	276 ± 11	109.1	2600 ± 30	2800 ± 10	107.7
		120	24.0 ± 2.1	24.1 ± 1.3	100.4	258 ± 2	270 ± 10	104.7	2700 ± 90	2800 ± 50	103.7
Dog	Quizartinib	0	27.8 ± 0.7	26.8 ± 0.1	96.4	273 ± 8	259 ± 3	94.9	2840 ± 70	2700 ± 90	95.1
		5	27.5 ± 0.8	25.6 ± 0.3	93.1	283 ± 9	253 ± 3	89.4	2860 ± 40	2670 ± 40	93.4
		10	28.3 ± 1.2	27.6 ± 1.2	97.5	285 ± 0	251 ± 4	88.1	2800 ± 60	2580 ± 50	92.1
		30	28.2 ± 1.2	26.4 ± 0.3	93.6	278 ± 8	234 ± 6	84.2	2810 ± 50	2500 ± 30	89.0
		60	28.6 ± 0.9	26.2 ± 0.8	91.6	282 ± 10	235 ± 4	83.3	2810 ± 40	2550 ± 60	90.7
		120	27.3 ± 1.2	25.2 ± 1.1	92.3	279 ± 1	242 ± 4	86.7	2840 ± 100	2490 ± 90	87.7
	AC886	0	16.9 ± 1.4	13.7 ± 1.1	81.1	153 ± 11	144 ± 2	94.1	1730 ± 60	1120 ± 40	64.7
		5	17.8 ± 1.3	14.8 ± 0.4	83.1	156 ± 4	149 ± 7	95.5	1760 ± 40	1080 ± 30	61.4
		10	17.3 ± 2.0	14.1 ± 0.8	81.5	161 ± 4	164 ± 13	101.9	1740 ± 50	1120 ± 40	64.4
		30	16.3 ± 0.7	12.9 ± 0.8	79.1	172 ± 4	154 ± 4	89.5	1830 ± 70	1230 ± 20	67.2
		60	16.9 ± 0.7	13.1 ± 0.3	77.5	177 ± 9	157 ± 4	88.7	1860 ± 80	1300 ± 40	69.9
		120	18.8 ± 0.7	13.9 ± 0.6	73.9	162 ± 4	147 ± 6	90.7	1810 ± 30	1350 ± 20	74.6
Monkey	Quizartinib	0	17.2 ± 0.6	18.1 ± 0.8	105.2	137 ± 3	191 ± 4	139.4	2130 ± 70	2110 ± 20	99.1
		5	16.2 ± 0.4	20.7 ± 0.9	127.8	128 ± 2	201 ± 4	157.0	2020 ± 60	2230 ± 30	110.4

											Test Article: Quizartinib dihydrochloride AC886 dihydrochloride
Attachment Number						4.2.2.1-12					
		10	16.7 ± 0.5	19.6 ± 0.6	117.4	132 ± 2	195 ± 4	147.7	2070 ± 20	2130 ± 30	102.9
		30	16.3 ± 0.8	19.8 ± 0.1	121.5	133 ± 3	194 ± 7	145.9	2070 ± 30	2190 ± 60	105.8
		60	16.2 ± 0.5	18.0 ± 0.3	111.1	130 ± 3	193 ± 3	148.5	2070 ± 20	2140 ± 60	103.4
		120	16.6 ± 0.5	19.4 ± 0.4	116.9	136 ± 2	193 ± 2	141.9	2070 ± 20	2160 ± 30	104.3
	AC886	0	BLQ	7.82 ± 0.21	NC	21.1 ± 0.7	66.9 ± 0.7	317.1	285 ± 13	1150 ± 40	403.5
		5	BLQ	8.94 ± 0.13	NC	20.4 ± 0.8	85.1 ± 0.9	417.2	272 ± 5	1210 ± 40	444.9
		10	BLQ	7.49 ± 0.33	NC	20.3 ± 0.3	74.2 ± 1.2	365.5	267 ± 8	1090 ± 40	408.2
		30	BLQ	7.12 ± 0.23	NC	20.8 ± 2.0	70.8 ± 1.8	340.4	266 ± 4	1090 ± 70	409.8
		60	BLQ	7.11 ± 0.13	NC	18.5 ± 0.7	72.0 ± 1.2	389.2	261 ± 9	1080 ± 40	413.8
		120	BLQ	8.25 ± 0.54	NC	19.8 ± 1.8	80.0 ± 2.0	404.0	257 ± 5	1110 ± 50	431.9

BLQ: Below the limit of quantitation; NC: Not calculated.
a) Mean ± SD (n = 3).
b) The concentrations spiked into blood.
c) The ratio of the mean concentrations on ice to those at 37°C.

2.6.5.3. 薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3.A. キザルチニブの Caco-2 細胞単層膜透過性

			Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.2-1**		
Study System	**In vitro**		
Test System	**Caco-2 cells**		
	Apical to basolateral transport of test substances across Caco-2 cell monolayers		
Test substance	**Concentration**	**Assay**	**Papp ($\times 10^{-6}$ cm/s)**
Quizartinib	10 μM	LC-MS/MS	0.981 ± 0.153
[^{3}H]Propranolol	26.9 nM	LSC	23.8 ± 5.1
[^{14}C]Mannitol	9.09 μM	LSC	0.682 ± 0.167
Additional information: Incubation time was 2 h. The mean donor concentration of 5.67 μM at 0, 1 and 2 h of quizartinib was used as the concentration of the test compound on the donor side of quizartinib because the adsorption of quizartinib was observed in the experiment. For [^{3}H]propranolol and [^{14}C]mannitol, the measured concentrations of the test solutions were used as the concentration of the test compound on the donor side because the adsorption was not significant for both compounds.			

Papp: Apparent permeability coefficient; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LSC: liquid scintillation counting.
The Papp values are presented as the mean ± SD (N = 3).

2.6.5.3.B. P 糖タンパクを介するキザルチニブの輸送

					Test Article: Quizartinib dihydrochloride and [^{14}C] Quizartinib dihydrochloride		
Attachment Number	**4.2.2.2-2**						
Study System	**In vitro**						
Test System	**MDCKII-MDR1 and MDCKII Wild Type Cells**						
	Transport of test substances across cell monolayers						
Test substance	**Concentration (µM)**	**Inhibitor**	**Cell Type**	**Papp (Ap to Bl) (× 10^{-6} cm/s)**	**Papp (Bl to Ap) (× 10^{-6} cm/s)**	**Papp ratio**	**Net flux ratio**
[^{14}C]Quizartinib	3.00	-	MDR1	1.70 ± 0.13	8.02 ± 0.20	4.7	3.6
		-	Wild type	3.09 ± 0.18	3.90 ± 0.41	1.3	
[^{14}C]Quizartinib	3.00	-	MDR1	1.02 ± 0.07	5.97 ± 0.12	5.8	3.9
		-	Wild type	1.79 ± 0.09	2.70 ± 0.26	1.5	
		(±)-Verapamil (200 µM)	MDR1	3.52 ± 0.20	5.41 ± 0.55	1.5	1.1
		(±)-Verapamil (200 µM)	Wild type	4.04 ± 0.48	5.69 ± 0.81	1.4	
		Ketoconazole (50.0 µM)	MDR1	1.10 ± 0.05	2.76 ± 0.42	2.5	1.5
		Ketoconazole (50.0 µM)	Wild type	1.53 ± 0.19	2.53 ± 0.39	1.7	
^{3}H-Digoxin	1.00	-	MDR1	0.28 ± 0.03	10.66 ± 0.61	37.9	15.2
		-	Wild type	2.38 ± 0.35	5.85 ± 0.39	2.5	
		(±)-Verapamil (200 µM)	MDR1	1.35 ± 0.12	2.31 ± 0.29	1.7	1.7
		(±)-Verapamil (200 µM)	Wild type	5.83 ± 0.13	5.85 ± 0.54	1.0	
		Ketoconazole (50.0 µM)	MDR1	1.45 ± 0.22	6.47 ± 0.12	4.5	3.2
		Ketoconazole (50.0 µM)	Wild type	2.93 ± 0.66	4.23 ± 0.26	1.4	
Additional information: In order to reduce the potential for the adsorption of the test substance on the apparatuses and the precipitation of the test substance in the solutions, 4% (w/v) BSA was added to the HBSS-H buffer (pH 7.4). Sampling times were 30, 60, 90, and 120 min.							

Ap: Apical; Bl: Basolateral; BSA: Bovine serum albumin; HBSS-H: Hank's balanced salt solution with 25 mmol/L HEPES buffer solution; MDCKII: Madin Darby canine kidney strain II; MDR1; multidrug resistance 1; Papp: Apparent permeability coefficient.
The Papp values are presented as the mean ± SD (N = 3).

2.6.5.3.C. マウスでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性

							Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.2-4**		**4.2.2.2-3**				
Species/Strain	**Mouse/nu/nu**		**Mouse/nu/nu**				
Gender (M/F) / Number of animals	**F/3 per group**		**F/3 per group**				
Vehicle/Formulation	**22% HPβCD**		**22% HPβCD**				
Method of Administration	**Oral (gavage)**		**Oral (gavage)**				
Sample	**Plasma**		**Plasma**				
Analyte	**Quizartinib**		**Quizartinib**				
Assay	**LC-MS/MS**		**LC-MS/MS**				
Dose (mg/kg)	**0.1**	**1**	**3**	**10**	**30**	**100**	**300**
PK parameters	**Mean (SD)**		**Mean (SD)**				
Tmax (h)	1.167 (0.764)	1.333 (0.577)	2.333 (1.528)	1.5 (0.866)	1.333 (0.577)	4 (0)	4 (2)
Cmax (µM)	0.044 (0.009)	0.365 (0.106)	1.37 (0.021)	3.769 (0.374)	13.686 (1.278)	22.83 (4.849)	27.11 (1.07)
AUCinf (µM·h)	0.313 (0.038)	3.256 (1.065)	11.658 (1.195)	35.041 (4.215)	168.634 (12.362)	432.965 (146.599)	1019.367† (NA)‡
AUC_{0-24} (µM·h)	0.184 (0.018)	3.198 (1.035)	11.505 (1.127)	34.575 (3.885)	156.967 (10.373)	331.291 (44.376)	463.75 (28.182)
$T_{1/2}$ (h)	4.3	4.3	3.7	3.6	NA	NA	NA
Additional information: Sampling times: 15, 30 min, 1, 2, 4, 6 and 24 h, post-dose; Initial PK screen in the study (4.2.2.2-3) was conducted with 10 mg/kg quizartinib in Pharmatek #6 oil-based dosing vehicle – data not reported.							

AUCinf: Area under the plasma concentration-time curve up to infinity; AUC_{0-24}: AUC up to 24 h; Cmax: Maximum plasma concentration; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA: Not applicable; NR: Not reported; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life.
† AUCinf is overestimated at 300 mg/kg due to failure to reach descending slope by the end of sampling period (24 h).
‡ n = 2

2.6.5.3.D. ラットでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性

Test Article: Quizartinib dihydrochloride												
Attachment Number	**4.2.2.2-5**											
Species	**Rat/Sprague-Dawley**											
Feeding Condition	**Fasted**											
Sample	**Plasma**											
Analyte	**Quizartinib**											
Assay	**LC-MS/MS**											
Vehicle/Formulation	**22% HPβCD**								**22% HPβCD**			
Method of Administration	**Oral (gavage)**								**Intravenous**			
Gender (M/F) / Number of animals	**M/3 per group**					**F/3 per group**			**M/3**			**F/3**
Dose (mg/kg)	**3**	**10**	**30**	**100**	**300**	**3**	**10**	**30**	**1**	**3**	**10 (n = 2)**	**1**
PK parameters	**Mean (SD)**								**Mean**			
Tmax (h)	1.667 (0.577)	2.667 (1.155)	2 (0)	4 (0)	4 (2)	1.333 (0.577)	2 (0)	3.333 (2.309)	NA	NA	NA	NA
Cmax (µM)	0.576 (0.138)	2.162 (0.496)	5.155 (0.911)	22.83 (4.849)	27.11 (1.07)	0.962 (0.397)	2.434 (0.712)	5.939 (2.521)	NA	NA	NA	NA
AUCinf (µM·h)	4.621 (1.809)	20.66 (2.431)	59.557 (10.742)	436.338† (148.392)	1037.267† (465.584)	9.472 (3.163)	29.015 (9.938)	105.299 (48.764)	4.34	13.60	39.88	6.63
AUC_{0-24} (µM·h)	4.51	17.53	56.82	331.29	463.75	8.94	26.79	77.46	4.15	13.35	38.94	6.33
$T_{1/2}$ (h)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.5	4.7	5.0	6.1
F (%)	36	42	46	80	37	47	42	41	NA	NA	NA	NA
CL(mL/min/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7.11	7.65	7.50	4.71
Vz (L/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.37	2.68	3.23	2.51

Additional information:
Sampling times: 5(iv only), 15, 30 min, 1, 2, 4, 6 and 24 h, post-dose; F_{0-24} (%) calculated with the average dose normalized AUC_{0-24} iv data.

AUCinf: Area under the plasma concentration-time curve up to infinity; AUC_{0-24}: AUC up to 24 h; CL: Total body clearance; Cmax: Maximum plasma concentration; F: Absolute bioavailability; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA: Not applicable; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life; Vz: Volume of distribution based on the terminal phase.
† AUCinf is overestimated due to failure to reach descending slope by the end of sampling period (24 h).

2.6.5.3.E. イヌでのキザルチニブの薬物動態及び用量比例性

						Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.2-7**					
Species	**Dog/Beagle**					
Sample	**Plasma**					
Analyte	**Quizartinib**					
Assay	**LC-MS/MS**					
Vehicle/Formulation	**5 – 22% HPβCD**				**NR**	
Method of Administration	**Oral (gavage)**				**Intravenous**	
Gender (M/F) / Number of animals	**M/3**	**M/3**	**M/2**	**F/3**	**M/3**	**F/3**
Dose (mg/kg)	**1**	**3**	**10**	**10**	**1**	**1**
PK parameters	**Mean (SD)**					
Tmax (h)	1.167 (0.764)	1 (0)	1.5 (NA)	1.167 (0.764)	NA	NA
Cmax (µM)	0.233 (0.045)	1.678 (0.2)	2.773 (NA)	3.954 (1.169)	NA	NA
AUCinf (µM·h)	1.325 (0.134)	9.112 (0.543)	17.114 (NA)	36.506 (18.147)	4.667 (1.067)	6.849 (0.577)
AUC_{0-24} (µM·h)	1.298 (0.152)	8.565 (0.61)	14.717 (NA)	25.939 (7.073)	4.496 (1.048)	6.026 (0.112)
(Time for calculation) (h)	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24
$T_{1/2}$ (h)	NR	NR	NR	NR	5.9	8.6
CL (mL/min/kg)	NA	NA	NA	NA	6.559 (1.328)	4.351 (0.35)
Vz (L/kg)	NA	NA	NA	NA	3.366 (0.579)	3.361 (0.794)
F (%)	28	65	37	53	NA	NA

Additional information:
Sampling times: 5 min (iv only), 15, 30 min, 1, 2, 4, 8, 12 and 24 h post-dose.
The 3 mg/kg dose group in study NR0014 was observed to be out of line with the 1 and 10 mg/kg dose groups.
A vehicle comparison in study NR0014 showed no discernable difference between 5% HPβCD and 22% HPβCD, but both performed significantly better than the dry powder in a capsule.

AUCall: Area under the plasma concentration-time curve up to 24 h; AUCinf: AUC up to infinity; CL: Total body clearance; Cmax: Maximum plasma concentration; F: Absolute bioavailability; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA: Not applicable; NR: Not reported; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life; Vz: Volume of distribution based on the terminal phase.

2.6.5.3.F. イヌでのキザルチニブの薬物動態：投与液の比較

				Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.2-8**			
Species	**Dog/Beagle**			
Feeding condition	**Fasted and Fed**			
Method of Administration	**Oral (gavage)**			
Sample	**Plasma**			
Analyte	**Quizartinib**			
Assay	**LC-MS/MS**			
Gender (M/F) / Number of animals	**M/2**	**M/3**	**M/6**	**M/2**
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**	**22% HPβCD**	**5% or 22% HPβCD**	**22% HPβCD**
Dose (mg/kg)	**25**	**1‡**	**3‡**	**10‡**
PK parameters	**Mean (SD)**			
Tmax (h)	2.000 (NA)	1.167 (0.764)	1.000 (0.548)	1.500 (NA)
Cmax (µM)	4.395 (NA)	0.233 (0.045)	1.233 (0.375)	2.773 (NA)
AUCinf (µM·h)	58.978 (NA)	1.325 (0.134)	7.459 (2.985)	17.112 (NA)
AUC_{0-12} (µM·h)	25.303 (NA)	0.966 (0.129)	4.724 (1.176)	9.522 (NA)
AUC_{0-24} (µM·h)	36.118 (NA)	1.298 (0.152)	5.998 (1.602)	14.715 (NA)
F (%)	32	29	45	33
$T_{1/2}$ (h)	NR	NR	NR	NR
Additional information: Sampling times: 15, 30 min, 1, 2, 4, 8, 12 and 24 h post-dose; F% was calculated using AUC_{0-24}; Considerable contribution to the AUC was seen from the terminal portion of the curve, so data were fit over 0-12 h for comparison.				

AUCinf: Area under the plasma concentration-time curve up to infinity; AUC_{0-a}: AUC up to time a; Cmax: Maximum plasma concentration; F: Absolute bioavailability; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA: Not applicable; NR: Not reported; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life.
‡ Historical data from 4.2.2.2-7, reanalyzed in WinNonlin using a non-compartmental model and linear trapezoidal fit.

2.6.5.3.G. サルでのキザルチニブの薬物動態

				Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.2-9**			
Species	**Cynomolgus Monkey**			
Feeding condition	**Fasted**			
Sample	**Plasma**			
Analyte	**Quizartinib**			
Assay	**LC-MS/MS**			
Gender (M/F) / Number of animals	**M/3**	**M/3†**	**F/3**	**F/3†**
Method of Administration	**Intravenous**	**Oral Gavage**	**Intravenous**	**Oral Gavage**
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**	**22% HPβCD**	**5% HPβCD**	**22% HPβCD**
Dose (mg/kg)	**1**	**3**	**1**	**3**
PK parameters	**Mean (SD)**			
Tmax (h)	NA	1.667 (0.577)	NA	1.333 (0.577)
Cmax(µM)	NA	0.156 (0.111)	NA	0.172 (0.137)
AUCinf (µM·h)	1.09 (0.235)	0.494 (0.334)	1.051 (0.285)	0.421 (0.248)
$T_{1/2}$ (h)	2.096 (0.156)	4.257 (1.515)	1.756 (0.031)	1.648 (0.544)
CL (mL/min/kg)	28.358 (6.943)	NA	29.738 (7.493)	NA
Vz, (L/kg)	5.203 (1.68)	NA	4.512 (1.104)	NA
F (%)	NA	15.1	NA	13.4
Additional information: Sampling times: 5 min (iv only), 15, 30 min, 1, 2, 4, 8, 12 and 24 h post-dose.				

AUCinf: Area under the plasma concentration-time curve up to infinity; CL: Total body clearance; Cmax: Maximum plasma concentration; F: Absolute bioavailability; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA: Not applicable; NR: Not reported; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life; Vz: Volume of distribution based on the terminal phase.
† Oral dose administered to same three monkeys following a 3 to 4-day washout period after completion of intravenous protocol.

2.6.5.4. 薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.5.4.A. ラットでのキザルチニブの反復投与薬物動態

								Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.2-6**							
Species	**Rat/Sprague-Dawley**							
Feeding Condition	**Fed**							
Sample	**Plasma**							
Analyte	**Quizartinib**							
Assay	**LC-MS/MS**							
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**							
Method of Administration	**Oral (gavage)**							
Gender (M/F)/Number of animals	**M/9 per group (3 per each sampling times)**				**F/9 per group (3 per each sampling times)**			
Dose (mg/kg)	**1**		**10**		**1**		**10**	
Day	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**
PK parameters								
Tmax (h)	4.00	6.00	4.00	6.00	6.00	1.00	4.00	4.00
Cmax (ng/mL)	66.1	141	1330	2008	69.3	136	1885	2858
AUCinf (ng·h/mL)	1087	NR	18,347	NR	1113	2202	27,919	NR
AUClast (ng·h/mL)	925	2184	15,727	32,705	954	1780	23,380	46,694
$T_{1/2}$ (h)	8.27	NR	7.84	NR	7.92	9.96	8.30	NR
Accumulation ratios: Day 28/Day 1								
Cmax ratio Day 28/Day 1	2.14		1.51		1.97		1.52	
AUClast ratio Day 28/Day 1	2.36		2.08		1.87		2.00	
Additional information: Sampling times: 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 12 and 24 h, post-dose; NR: Values not reported because AUCinf was extrapolated by more than 20% or Rsq was <0.800.								

2.6.5.5. 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.A. ラットでの［^{14}C］キザルチニブの組織分布及び QWBA 試験

							Test Article: [^{14}C] Quizartinib dihydrochloride	
Attachment number				**4.2.2.3-1**				
Species				**Rat/Sprague-Dawley**				
Gender (M/F)/Number of animals				**M/13, F/13(tissue distribution); M/3, F/3 (QWBA)**				
Feeding condition				**Fasted**				
Vehicle/Formulation				**5% HPβCD**				
Method of administration				**Oral gavage**				
Dose (mg/kg)				**30**				
Radionuclide				**[^{14}C] Quizartinib**				
Specific Activity				**59 mCi/mmol**				
Assay				**Liquid scintillation counting, QWBA**				
Tissue Distribution								
System Class Tissue/organ	**Mean (SD) Radioactivity Concentration in Tissue (Quizartinib µg-equiv/g tissue)**							
	2 h		**4 h**		**24 h**		**168 h**	
	M/3	**F/3**	**M/3**	**F/3**	**M/3**	**F/3**	**M/4**	**F/4**
Vascular/Lymphatic								
Blood	4.152 (0.475)	3.394 (0.566)	3.991 (0.457)	4.929 (0.921)	0.698 (0.051)	1.287 (0.618)	ND	ND
Plasma	7.214 (0.659)	6.143 (0.915)	7.406 (0.680)	8.385 (1.611)	0.989 (0.090)	1.916 (1.136)	ND	ND
Spleen	18.886 (1.982)	19.052 (3.198)	17.241 (0.298)	26.882 (5.021)	7.731 (1.525)	16.133 (9.736)	1.232 (0.257)	1.913 (0.523)
Mesenteric lymph nodes	24.504 (2.956)	12.573 (3.171)	21.867 (1.650)	23.972 (6.318)	3.731 (0.623)	6.595 (3.804)	0.549 (0.410)	0.278 (0.200)
Bone marrow	13.840 (3.839)	11.557 (1.462)	7.319 (2.376)	13.863 (2.520)	2.390 (0.341)	3.952 (2.484)	0.075 (0.149)	0.135 (0.271)
Excretory/Metabolic								
Kidney	25.857 (2.919)	21.135 (3.095)	28.352 (0.887)	32.213 (2.393)	6.635 (1.311)	9.416 (4.443)	0.763 (0.498)	0.653 (0.325)
Liver	55.032 (6.657)	48.693 (10.046)	57.566 (8.719)	67.864 (6.787)	7.607 (1.579)	16.403 (8.226)	0.321 (0.056)	0.591 (0.130)
Urinary bladder	4.196 (1.424)	4.102 (1.040)	3.915 (1.140)	6.923 (1.379)	0.182 (0.316)	1.345 (1.264)	ND	ND

System Class Tissue/ organ	Mean (SD) Radioactivity Concentration in Tissue (Qizartinib µg-equiv/g tissue)							
	2 h		4 h		24 h		168 h	
	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/4	F/4
CNS								
Brain	0.834 (0.079)	0.894 (0.143)	0.940 (0.035)	1.433 (0.211)	0.249 (0.024)	0.975 (0.765)	ND	ND
Endocrine								
Adrenals	33.595 (2.338)	33.236 (5.356)	42.677 (4.880)	56.082 (8.527)	7.137 (1.500)	15.676 (9.276)	0.246 (0.114)	0.724 (0.087)
Secretory								
Pancreas	20.423 (1.585)	36.697 (34.896)	24.358 (13.904)	28.205 (6.629)	3.964 (0.732)	8.858 (4.296)	ND	ND
Reproductive								
Epididymis	4.453 (0.613)	NA	6.063 (1.558)	NA	3.015 (0.384)	NA	0.045 (0.006)	NA
Testes	1.552 (0.067)	NA	2.800 (0.565)	NA	3.124 (0.158)	NA	0.104 (0.015)	NA
Ovaries	NA	14.585 (1.409)	NA	24.083 (5.448)	NA	5.564 (4.058)	NA	0.276 (0.061)
Uterus	NA	8.610 (1.345)	NA	14.087 (3.573)	NA	4.220 (3.199)	NA	0.111 (0.035)
Skeletal								
Skeletal muscle	7.579 (1.323)	8.725 (3.103)	5.424 (4.646)	11.332 (1.265)	1.325 (0.067)	2.178 (2.193)	ND	ND
Respiratory								
Lung	45.333 (27.728)	27.742 (5.865)	28.486 (4.949)	54.373 (12.056)	4.206 (1.054)	8.793 (4.652)	0.029 (0.057)	0.102 (0.070)
Alimentary Gland								
GI contents	14.422 (5.473)	15.719 (2.053)	15.107 (6.085)	16.050 (4.938)	6.042 (1.827)	8.723 (1.327)	0.009 (0.011)	0.002 (0.005)
Large intestine	30.727 (28.324)	12.877 (5.469)	28.369 (11.265)	11.746 (17.746)	13.044 (7.139)	10.233 (1.923)	0.130 (0.198)	0.074 (0.147)
Small intestine	174.778 (58.227)	105.765 (23.535)	121.996 (25.308)	5.244 (2.525)	8.124 (0.136)	10.510 (4.881)	0.456 (0.311)	0.707 (0.161)
Stomach	49.882 (43.746)	193.976 (147.281)	165.779 (20.216)	52.063 (32.538)	5.525 (4.004)	6.488 (3.929)	ND	0.026 (0.051)
Residual								
Carcass	6.290 (1.210)	4.126 (2.338)	6.456 (0.496)	8.087 (3.700)	1.100 (0.270)	1.300 (0.756)	ND	0.011 (0.021)
System Class Tissue/organ	**Mean (SD) Percentage of Administered Dose in Tissue**							
	2 h		4 h		24 h		168 h	
	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/4	F/4
Vascular/Lymphatic								
Plasma	0.94 (0.09)	0.80 (0.12)	0.97 (0.08)	1.09 (0.22)	0.14 (0.01)	0.27 (0.15)	ND	ND
Blood	0.86 (0.11)	0.70 (0.12)	0.83 (0.09)	1.02 (0.20)	0.16 (0.01)	0.29 (0.13)	ND	ND
Spleen	0.14 (0.02)	0.15 (0.04)	0.16 (0.02)	0.22 (0.06)	0.06 (0.01)	0.14 (0.09)	0.01 (<0.005)	0.02 (<0.005)

System Class Tissue/organ	Mean (SD) Percentage of Administered Dose in Tissue							
	2 h		4 h		24 h		168 h	
	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/4	F/4
Mesenteric lymph nodes	0.07 (0.02)	0.08 (0.07)	0.10 (0.03)	0.11 (0.05)	0.02 (<0.005)	0.03 (0.02)	<0.005 (<0.005)	<0.005 (<0.005)
Bone marrow	0.01 (0.01)	<0.005 (<0.005)	<0.005 (<0.005)	0.01 (<0.005)	<0.005 (<0.005)	<0.005 (<0.005)	<0.005 (<0.005)	<0.005 (<0.005)
Excretory/Metabolic								
Kidney	0.80 (0.11)	0.69 (0.09)	0.90 (0.10)	1.01 (0.09)	0.20 (0.04)	0.30 (0.14)	0.03 (0.02)	0.02 (0.01)
Liver	5.50 (0.80)	5.22 (1.07)	6.21 (1.08)	7.49 (1.11)	1.29 (0.14)	2.65 (1.13)	0.06 (0.02)	0.10 (0.02)
Urinary bladder	0.01 (<0.005)	0.01 (<0.005)	0.01 (<0.005)	0.01 (<0.005)	<0.005 (<0.005)	<0.005 (<0.005)	ND	ND
CNS								
Brain	0.02 (<0.005)	0.03 (<0.005)	0.03 (<0.005)	0.05 (0.01)	0.01 (<0.005)	0.03 (0.02)	ND	ND
Endocrine								
Adrenals	0.03 (0.01)	0.05 (<0.005)	0.04 (0.01)	0.09 (0.02)	0.01 (<0.005)	0.03 (0.02)	<0.005 (<0.005)	<0.005 (<0.005)
Secretory								
Pancreas	0.14 (0.02)	0.25 (0.25)	0.17 (0.11)	0.20 (0.04)	0.02 (<0.005)	0.05 (0.03)	ND	ND
Reproductive								
Epididymis	0.04 (0.01)	NA	0.06 (0.03)	NA	0.03 (<0.005)	NA	<0.005 (<0.005)	NA
Testes	0.06 (<0.005)	NA	0.11 (0.02)	NA	0.13 (0.01)	NA	<0.005 (<0.005)	NA
Ovaries	NA	0.03 (0.01)	NA	0.04 (<0.005)	NA	0.01 (0.01)	NA	<0.005 (<0.005)
System Class Tissue/organ	**Mean (SD) Percentage of Administered Dose in Tissue**							
	2 h		**4 h**		**24 h**		**168 h**	
	M/3	**F/3**	**M/3**	**F/3**	**M/3**	**F/3**	**M/4**	**F/4**
Uterus	NA	0.09 (0.05)	NA	0.18 (0.06)	NA	0.06 (0.07)	NA	<0.005 (<0.005)
Skeletal								

System Class Tissue/organ	Mean (SD) Percentage of Administered Dose in Tissue							
	2 h		4 h		24 h		168 h	
	M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3	M/4	F/4
Skeletal muscle	11.16 (2.01)	12.78 (4.55)	7.97 (6.83)	16.61 (2.06)	2.18 (0.10)	3.45 (3.38)	ND	ND
Respiratory								
Lung	0.74 (0.41)	0.64 (0.05)	0.64 (0.09)	1.12 (0.20)	0.08 (0.01)	0.22 (0.14)	<0.005 (<0.005)	<0.005 (<0.005)
Alimentary Gland								
Large intestine	1.66 (1.73)	0.71 (0.37)	0.91 (0.25)	2.41 (0.51)	0.70 (0.41)	0.59 (0.11)	0.02 (0.03)	0.01 (0.02)
Small intestine	16.04 (7.95)	9.12 (1.83)	13.78 (4.14)	9.46 (4.36)	0.74 (0.08)	1.25 (0.68)	0.06 (0.05)	0.08 (0.01)
Stomach	1.20 (0.96)	4.83 (3.93)	4.23 (0.70)	1.37 (0.83)	0.18 (0.13)	0.19 (0.10)	ND	<0.005 (<0.005)
Total (all tissues) †	82.40 (1.45)	88.90 (9.64)	75.99 (10.06)	73.99 (2.63)	22.78 (5.90)	32.90 (11.26)	0.20 (0.06)	0.23 (0.04)
Residual								
Carcass	11.62 (3.00)	5.35 (2.79)	13.89 (9.32)	16.20 (6.07)	2.06 (0.37)	3.82 (1.73)	ND	0.03 (0.07)

QWBA						
System Class Tissue/organ	**Concentration of Radioactivity in Tissue (Quizartinib µg-equiv/g sample)**					
	2 h		**4 h**		**24 h**	
	M/1	**F/1**	**M/1**	**F/1**	**M/1**	**F/1**
Vascular/Lymphatic						
Blood (cardiac)	3.533	4.120	3.024	4.330	0.402	1.403
Bone marrow (vertebra)	10.354	10.692	11.502	11.534	1.360	10.309
Lymph nodes	8.789	12.185	10.445	16.372	1.165	5.383
Spleen	26.326	26.490	19.805	25.304	4.045	22.952
Thymus	8.241	11.001	13.302	13.725	1.635	7.273
Excretory/Metabolic						
Kidney (cortex)	38.328	33.519	34.949	29.712	4.687	14.834
Kidney (medulla)	22.909	15.647	42.672	21.191	5.545	7.615
Liver	52.397	59.001	51.100	62.473	5.094	22.508
System Class Tissue/organ	**Concentration of Radioactivity in Tissue (Quizartinib µg-equiv/g sample)**					
	2 h		**4 h**		**24 h**	
	M/1	**F/1**	**M/1**	**F/1**	**M/1**	**F/1**
Urinary bladder	5.791	9.658	0.403	10.259	0.773	4.109
Urinary bladder (contents)	7.611	1.036	BLQ	6.912	1.637	5.984
CNS						
Brain	0.898	0.981	0.775	1.286	BLQ	0.544
Spinal cord	1.208	1.368	0.849	1.141	BLQ	0.611
Endocrine						
Adrenal gland	53.913	58.211	47.938	44.493	4.356	31.257
Pituitary gland	35.910	32.354	27.033	35.064	2.794	10.745
Thyroid gland	26.158	22.304	20.512	29.362	1.728	9.262
Secretory						
Pancreas	29.211	35.209	25.328	30.981	2.708	12.596
Salivary gland (mandibular)	20.954	22.694	22.372	28.822	1.713	9.862
Adipose						
Adipose (brown)	25.478	26.504	25.419	27.399	3.015	13.701

System Class Tissue/organ	Concentration of Radioactivity in Tissue (Quizartinib µg-equiv/g sample)					
	2 h		4 h		24 h	
	M/1	F/1	M/1	F/1	M/1	F/1
Adipose (white)	8.455	13.270	11.653	11.437	0.403	3.310
Dermal						
Skin	6.087	7.074	4.397	6.028	3.380	3.065
Reproductive						
Epididymis	2.728	NA	5.399	NA	2.610	NA
Prostate gland	6.103	NA	10.167	NA	1.997	NA
Seminal vesicles	2.330	NA	2.015	NA	0.608	NA
Testis	0.999	NA	2.435	NA	2.750	NA
Mammary gland	NA	7.582	NA	BLQ	NA	BLQ
Ovary	NA	22.003	NA	19.128	NA	10.341
Uterus (wall)	NA	11.521	NA	8.614	NA	9.905
Vagina	NA	7.434	NA	4.747	NA	5.918
Skeletal						
Bone (vertebra)	0.473	0.294	1.604	BLQ	0.581	0.300
Myocardium	17.085	16.615	13.365	16.302	1.385	5.601
Skeletal muscle (dorsal)	6.969	6.654	6.355	7.896	0.499	2.495
Respiratory Tract						
Lung	14.097	16.972	12.420	16.449	1.695	8.431
Alimentary Canal						
Large intestine	14.829	14.255	12.875	10.012	1.972	11.874
Large intestine (contents)	3.291	4.418	874.873	1026.237	208.714	623.278
Small intestine	269.055	635.296	27.651	70.203	1.981	21.590
Small intestine (contents)	1315.680	4170.587 ‡	227.038	178.206	21.129	138.268
Stomach	3130.915 ‡	1799.664	298.872	267.264	5.409	6.181
Stomach (wall)	18.307	9.570	20.313	12.898	0.594	3.314
Ocular						
Eye (lens)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Eye (uvea)	4.393	6.486	5.502	5.461	0.689	2.623

Additional information:
Non-detected values were calculated as 0. For samples marked as BLQ, value was below the lower limit of quantitation (LLOQ; 0.227 µg-equiv/g tissue) or was not sampled because the tissue could not be visualized on the autoradioluminograph due to BLQ radioactivity.

BLQ: Below the limit of quantitation; CNS: Central nervous system; GI: Gastrointestinal; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; NA: Not applicable; ND: Not detected (below limit of detection); QWBA: Quantitative whole body autoradiography.
† Plasma value was not included in total.
‡ Value is above the upper limit of quantitation (1959.390 µg-equiv/g tissue).

2.6.5.5.B. ラットでの［^{14}C］キザルチニブの組織分布試験及び臨床試験に際しての吸収線量の予測

						Test Article [^{14}C] Qizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.3-2**					
Species	**Rats/Long-Evans, partially pigmented**					
Gender (M/F)/Number of animals	**M/6 (1/time point)**					
Feeding condition	**Fasted**					
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**					
Method of administration	**Oral (gavage)**					
Dose (mg/kg)	**6**					
Radionuclide	**[^{14}C] Quizartinib**					
Specific Activity	**59 mCi/mmol**					
Analyte/Assay (unit)	**QWBA**					
Sampling time	**2, 8, 24, 72, 168, 336 h**					
Body Weights and Dosing	**Animal Weight (g)**	**Amount of Formulation Administered (g)**	**µCi Administered**	**µCi/kg**	**Test Article Administered (mg)**	**Test Article Administered (mg/kg)**
Mean (SD)	219.8 (7.7)	1.1020 (0.0184)	17.6 (0.3)	80.0 (3.8)	1.32 (0.02)	6.01 (0.28)
	Tissue Radioactivity Concentrations (µg-quiv/g)					
Tissue/organs	**2 h**	**8 h**	**24 h**	**72 h**	**168 h**	**336 h**
Blood	1.449	0.463	0.062	0.014	0	0
Plasma	2.807	0.935	0.108	0.024	0	0
Blood (cardiac)	2.090	0.775	0.101	BLQ	BLQ	BLQ
Bone Marrow	6.252	2.667	0.328	0.131	BLQ	BLQ
Lymph Node	3.881	2.524	0.335	0.158	BLQ	BLQ
Spleen	8.740	4.115	0.574	0.505	0.147	0.098
Thymus	3.414	2.522	0.365	0.149	BLQ	BLQ
Bile (in duct)	94.000	8.273	1.236	0.705	BLQ	BLQ
Kidney Cortex	12.352	6.256	0.848	0.532	0.095	BLQ
Kidney Medulla	11.289	5.399	0.761	0.365	0.058	BLQ
Liver	27.634	10.255	1.014	0.832	0.126	0.053
Urinary Bladder	2.317	2.121	0.154	BLQ	BLQ	BLQ

	Tissue Radioactivity Concentrations (µg-equiv/g)					
Tissue/organs	**2 h**	**8 h**	**24 h**	**72 h**	**168 h**	**336 h**
Urinary Bladder (contents)	7.646	4.772	0.075	0.082	BLQ	BLQ
Brain (cerebrum)	0.268	0.119	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Brain (cerebellum)	0.269	0.132	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Brain (medulla)	0.246	0.134	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Meninges	1.707	6.264	10.353	7.825	7.518	1.671
Spinal Cord	0.281	0.119	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Adrenal Gland	20.618	8.543	0.965	0.381	0.144	0.103
Pituitary Gland	10.727	4.647	0.525	0.589	BLQ	BLQ
Thyroid	9.549	6.426	0.405	0.286	BLQ	BLQ
Harderian Gland	8.687	16.397	6.495	0.865	0.055	BLQ
Mammary Gland Region	3.952	1.664	0.330	0.166	BLQ	BLQ
Pancreas	10.906	4.116	0.320	0.070	BLQ	BLQ
Salivary Gland	7.182	3.214	0.302	0.103	BLQ	BLQ
Adipose (brown)	8.778	4.353	0.465	0.234	BLQ	BLQ
Adipose (white)	3.785	1.352	0.108	0.065	BLQ	BLQ
Skin (pigmented)	1.802	2.229	1.043	0.498	1.032	0.240
Skin (non-pigmented)	2.472	1.560	0.171	BLQ	BLQ	BLQ
Epididymis	1.049	1.610	0.919	0.434	0.055	BLQ
Prostate Gland	1.178	0.760	0.169	BLQ	BLQ	BLQ
Seminal Vesicles	1.224	0.710	0.095	BLQ	BLQ	BLQ
Testis	0.509	0.753	0.537	0.315	BLQ	BLQ
Bone	0.177	0.183	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Heart (myocardium)	6.597	3.250	0.444	0.159	BLQ	BLQ
Skeletal Muscle	3.354	1.538	0.167	BLQ	BLQ	BLQ
Lung	9.396	3.024	0.242	0.088	BLQ	BLQ
Cecum	5.145	17.754	0.191	0.322	BLQ	BLQ
Cecum (contents)	7.011	612.595 †	16.936	27.103	BLQ	BLQ
Esophagus	4.912	1.624	0.497	0.163	BLQ	BLQ
Large Intestine	4.438	25.460	1.065	1.069	BLQ	BLQ
Large Intestine (contents)	BLQ	585.482 †	14.448	38.191	BLQ	BLQ

Tissue Radioactivity Concentrations (μg-equiv/g)						
Tissue/organs	**2 h**	**8 h**	**24 h**	**72 h**	**168 h**	**336 h**
Oral Mucosa	1.751	1.388	0.231	0.075	BLQ	BLQ
Small Intestine	135.634	6.991	1.114	2.246	0.085	0.325
Small Intestine (contents)	616.649 †	31.884	3.355	1.020	BLQ	BLQ
Stomach (gastric mucosa)	22.980	3.090	0.587	0.130	BLQ	BLQ
Stomach (contents)	694.985 †	8.304	1.697	0.319	BLQ	BLQ
Eye (uveal tract)	10.106	18.505	34.601	39.858	26.504	22.729
Eye (lens)	BLQ	BLQ	BLQ	0.081	BLQ	BLQ

Tissue to Blood AUC_{all} Ratios of Radioactivity		
Tissue/organs	**AUCall**	**Ratio (Tissue/Blood)**
Adipose (brown)	103.491	5.85
Adipose (white)	35.028	1.98
Adrenal Gland	262.417	14.83
Blood (cardiac)	17.693	1.00
Bone	1.257	0.07
Bone Marrow	67.985	3.84
Brain (cerebellum)	1.472	0.08
Brain (cerebrum)	1.429	0.08
Brain (medulla)	1.386	0.08
Cecum	229.714	12.98
Epididymis	85.202	4.82
Esophagus	57.328	3.24
Eye (lens)	2.916	0.16
Eye (uveal tract)	9628.751	544.21
Harderian Gland	487.875	27.57
Heart (myocardium)	80.162	4.53
Kidney Cortex	188.224	10.64
Kidney Medulla	157.961	8.93
Large Intestine	357.548	20.21
Liver	336.447	19.02
Lung	80.704	4.56

Tissue to Blood AUCall Ratios of Radioactivity		
Tissue/organs	**AUCall**	**Ratio (Tissue/Blood)**
Lymph Node	57.800	3.27
Mammary Gland Region	48.656	2.75
Meninges	2103.168	118.87
Oral Mucosa	31.464	1.78
Pancreas	100.820	5.70
Pituitary Gland	124.961	7.06
Prostate Gland	14.424	0.82
Salivary Gland	76.218	4.31
Seminal Vesicles	13.466	0.76
Skeletal Muscles	31.670	1.79
Skin (non-pigmented)	28.416	1.61
Skin (pigmented)	257.343	14.54
Small Intestine	855.317	48.34
Spinal Cord	1.481	0.08
Spleen	162.589	9.19
Stomach (gastric mucosa)	147.814	8.35
Testis	35.063	1.98
Thymus	56.654	3.20
Thyroid	128.706	7.27
Urinary Bladder	33.831	1.91
Additional information: The highest tissue concentrations in most tissues (31 of 41) of rats occurred at 2 hours		

Pharmacokinetic Parameters and Predicted Exposure in Human Males Given a Single 100 µCi Oral Dose of [^{14}C] Quizartinib (based on a 70 kg male human)								
Tissue/organs	**Cmax (µg-equiv/g)**	**$T_{1/2}$ (h)**	**Tmax (h)**	**AUCall (µg-equiv·h/g)**	**AUC (µCi·h/g)**	**D_{rat} (rem)**	**D_{man} (mrem)**	**D_{man} (mSv)**
Adipose (brown) ‡	8.778	14.5 ‡	2	103.491	1.4447	0.152	2.709	0.027
Adipose (white) ‡	3.785	13.3 ‡	2	35.028	0.4836	0.051	0.907	0.009
Adrenal Gland ‡	20.618	104.3 ‡	2	262.417	3.7047	0.389	6.946	0.069

	Pharmacokinetic Parameters and Predicted Exposure in Human Males Given a Single 100 µCi Oral Dose of [^{14}C] Quizartinib (based on a 70 kg male human)							
Tissue/organs	**Cmax (µg-equiv/g)**	**$T_{1/2}$ (h)**	**Tmax (h)**	**AUCall (µg-equiv·h/g)**	**AUC (µCi·h/g)**	**D_{rat} (rem)**	**D_{man} (mrem)**	**D_{man} (mSv)**
Blood (cardiac)	2.090	5.1	2	17.693	0.2458	0.026	0.461	0.005
Bone ‡ §	0.183	ND ‡	8	1.257	0.0168 §	0.002	0.031	0
Bone Marrow ‡	6.252	13.7 ‡	2	67.985	0.9408	0.099	1.764	0.018
Brain (cerebellum) ‡ §	0.269	ND ‡	2	1.472	0.0196 §	0.002	0.037	0
Brain (cerebrum) ‡ §	0.268	ND‡	2	1.429	0.0190 §	0.002	0.036	0
Brain (medulla) ‡ §	0.246	ND‡	2	1.386	0.0185 §	0.002	0.035	0
Cecum ‡	17.754	15.2‡	8	229.714	3.1560	0.331	5.918	0.059
Epididymis	1.610	33.9	8	85.202	1.1716	0.123	2.197	0.022
Esophagus	4.912	21.0	2	57.328	0.8300	0.087	1.556	0.016
Eye (lens) ‡ §	0.081	ND ‡	72	2.916	0.0389 §	0.004	0.073	0.001
Eye (uveal tract) ‡ ¶	39.858	348.2 ‡	72	9628.751	280.5529 ¶	29.458	526.037	5.260
Harderian Gland	16.397	21.3	8	487.875	6.5259	0.685	12.236	0.122
Heart ‡	6.597	14.0 ‡	2	80.162	1.1113	0.117	2.084	0.021
Kidney Cortex	12.352	44.5	2	188.224	2.5902	0.272	4.857	0.049
Kidney Medulla	11.289	38.4	2	157.961	2.1484	0.226	4.028	0.040
Large Intestine ‡	25.460	18.2‡	8	357.548	5.1402	0.540	9.638	0.096
Liver	27.634	69.0	2	336.447	4.5552	0.478	8.541	0.085
Lung ‡	9.396	11.5 ‡	2	80.704	1.0952	0.115	2.054	0.021
Lymph Node ‡	3.881	15.9 ‡	2	57.800	0.8188	0.086	1.535	0.015
Mammary Gland Region ‡	3.952	17.1 ‡	2	48.656	0.7033	0.074	1.319	0.013
Meninges	10.353	122.0	24	2103.168	31.9558	3.355	59.917	0.599
Oral Mucosa	1.751	15.6	2	31.464	0.4419	0.046	0.829	0.008
Pancreas	10.906	10.3	2	100.820	1.3578	0.143	2.546	0.025
Pituitary Gland ‡	10.727	19.2 ‡	2	124.961	1.8831	0.198	3.531	0.035
Prostate Gland	1.178	7.8	2	14.424	0.2175	0.023	0.408	0.004

Pharmacokinetic Parameters and Predicted Exposure in Human Males Given a Single 100 µCi Oral Dose of [^{14}C] Quizartinib (based on a 70 kg male human)								
Tissue/organs	**Cmax (µg-equiv/g)**	**$T_{1/2}$ (h)**	**Tmax (h)**	**AUCall (µg-equiv·h/g)**	**AUC (µCi·h/g)**	**D_{rat} (rem)**	**D_{man} (mrem)**	**D_{man} (mSv)**
Salivary Gland ‡	7.182	12.3 ‡	2	76.218	1.0403	0.109	1.951	0.020
Seminal Vesicles	1.224	5.9	2	13.466	0.1902	0.020	0.357	0.004
Skeletal Muscles	3.354	5.1	2	31.670	0.4384	0.046	0.822	0.008
Skin (non-pigmented)	2.472	5.6	2	28.416	0.3970	0.042	0.744	0.007
Skin (pigmented) ‡	2.229	138.6 ‡	8	257.343	4.0701	0.427	7.632	0.076
Small Intestine ‡	135.634	52.1 ‡	2	855.317	11.7268	1.231	21.988	0.220
Spinal Cord ‡ §	0.281	ND ‡	2	1.481	0.0197 §	0.002	0.037	0
Spleen	8.740	114.8	2	162.589	2.3837	0.250	4.470	0.045
Stomach	22.980	15.3	2	147.814	2.0086	0.211	3.766	0.038
Testis	0.753	53.2	8	35.063	0.7894	0.083	1.480	0.015
Thymus ‡	3.414	15.9‡	2	56.654	0.8009	0.084	1.502	0.015
Thyroid ‡	9.549	14.5 ‡	2	128.706	1.7954	0.189	3.366	0.034
Urinary Bladder	2.317	5.3	2	33.831	0.4666	0.049	0.875	0.009

Predicted Whole Body Exposure in Human Males Given a Single 100 µCi Oral Dose of [^{14}C] Quizartinib (based on a 70 kg male human)							
Tissue/organs	**Dose Equivalent in Rats (rem)**	**Dose Equivalent in Human (rem)**	**Dose Equivalent in Human (mrem)**	**Dose Equivalent in Human (mSv)**	**Weighing Factor**	**Weighted Effective Dose Equivalent in Human (mrem)**	**Weighted Effective Dose Equivalent in Human (mSv)**
Lung	0.115	0.002	2.054	0.021	0.12	0.2464	0.0025
Stomach	0.211	0.004	3.766	0.038	0.12	0.4519	0.0045
Colon (Large Intestine used)	0.540	0.010	9.638	0.096	0.12	1.1566	0.0116
Bone Marrow	0.099	0.002	1.764	0.018	0.12	0.2117	0.0021
Breast (Mammary Gland Region)	0.074	0.001	1.319	0.013	0.12	0.1582	0.0016
Gonads (Testis)	0.083	0.001	1.480	0.015	0.08	0.1184	0.0012
Thyroid	0.189	0.003	3.366	0.034	0.04	0.1347	0.0013
Esophagus	0.087	0.002	1.556	0.016	0.04	0.0623	0.0006

Predicted Whole Body Exposure in Human Males Given a Single 100 mcCi Oral Dose of [^{14}C] Quizartinib (based on a 70 kg male human)							
Tissue/organs	**Dose Equivalent in Rats (rem)**	**Dose Equivalent in Human (rem)**	**Dose Equivalent in Human (mrem)**	**Dose Equivalent in Human (mSv)**	**Weighing Factor**	**Weighted Effective Dose Equivalent in Human (mrem)**	**Weighted Effective Dose Equivalent in Human (mSv)**
Urinary Bladder	0.049	0.001	0.875	0.009	0.04	0.0350	0.0003
Liver	0.478	0.009	8.541	0.085	0.04	0.3416	0.0034
Bone Surface (Bone)	0.002	0	0.031	0	0.01	0.0003	0
Skin (Skin-pigmented)	0.427	0.008	7.632	0.076	0.01	0.0763	0.0008
Brain (Cerebellum)	0.002	0	0.037	0	0.01	0.0004	0
Salivary Glands	0.109	0.002	1.951	0.020	0.01	0.0195	0.0002
Adrenal Glands	0.389	0.007	6.946	0.069	0.0092	0.0639	0.0006
Extrathoracic Tissue (Eye Uveal Tract used)	29.458	0.526	526.037	5.260	0.0092	4.8395	0.0484
Gall Bladder (Meninges used)	3.355	0.060	59.917	0.599	0.0092	0.5512	0.0055
Heart	0.117	0.002	2.084	0.021	0.0092	0.0192	0.0002
Kidneys (Cortex used)	0.272	0.005	4.857	0.049	0.0092	0.0447	0.0004
Lymphatic Nodes	0.086	0.002	1.535	0.015	0.0092	0.0141	0.0001
Muscle (Skeletal Muscle)	0.046	0.001	0.822	0.008	0.0092	0.0076	0.0001
Oral Mucosa	0.046	0.001	0.829	0.008	0.0092	0.0076	0.0001
Pancreas	0.143	0.003	2.546	0.025	0.0092	0.0234	0.0002
Prostate Gland	0.023	0	0.408	0.004	0.0092	0.0038	0
Small Intestine	1.231	0.022	21.988	0.220	0.0092	0.2023	0.0020
Spleen	0.250	0.004	4.470	0.045	0.0092	0.0411	0.0004
Thymus	0.084	0.002	1.502	0.015	0.0092	0.0138	0.0001
Human Committed Effective Dose (SUM)					1.000	8.8455	0.0885

Additional information:
Plasma and blood concentrations were determined by LSC.
A prediction of human ^{14}C dosimetry for [^{14}C] quizartinib showed that an oral radioactive dose of 100 μCi of [^{14}C] quizartinib dihydrochloride given to male human volunteers (weighing 70 kg) is not expected to result in an over-exposure to radiation according to the CFR.

AUCall: Area under the plasma concentration-time curve for all time points; BLQ: Below the limit of quantitation; Cmax: Maximum plasma concentration; D: Absorbed tissue dose; D_{rat}: Tissue exposure or mean absorbed tissue dose in rats; D_{man}: Tissue exposure or mean absorbed tissue dose in human; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life.
† Value is above the upper limit of quantitation.
‡ Values for these tissues/organs are obtained from insufficient data points and/or the resulting r^2 values fall outside acceptance criteria (≥0.85), thus these values should be considered an estimate.

§ Unable to determine AUCinf so AUCall used for prediction.
¶ Tissue with highest exposure before weighing.

2.6.5.6. 薬物動態試験：タンパク結合

2.6.5.6.A. キザルチニブの血漿タンパク結合率（マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒト）

		Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.3-3**	
Study System	**In vitro**	
Target entity, Test system and method	**Plasma, Ultracentrifugation**	
Assay	**LC-MS/MS**	
Analyte	**Quizartinib**	
Species	**Conc. Tested (ng/mL)**	**% Bound (SD)**
Mouse	50	99.84 (0.01)
	500	99.83 (0.01)
	2500	99.75 (0.02)
Rat	50	99.82 (0.06)
	500	99.81 (0.05)
	2500	99.78 (0.04)
Dog	50	99.67 (0.17)
	500	99.76 (0.04)
	2500	99.76 (0.08)
Monkey	50	99.74 (0.03)
	500	99.73 (0.04)
	2500	99.67 (0.12)
Human	50	99.32 (0.17)
	500	98.96 (0.09)
	2500	99.08 (0.16)

LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

2.6.5.6.B. AC886 の血漿タンパク結合率（マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒト）

		Test Article: AC886 dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.3-3**	
Study System	**In vitro**	
Target entity, Test system and method	**Plasma, Ultracentrifugation**	
Assay	**LC-MS/MS**	
Analyte	**AC886**	
Species	**Conc. Tested (ng/mL)**	**% Bound (SD)**
Mouse	50	> 99.90 (NA)
	500	99.94 (0.01)
	2500	99.92 (0.01)
Rat	50	99.80 (0.10)
	500	99.86 (0.01)
	2500	99.87 (0.02)
Dog	50	98.99 (0.94)
	500	99.39 (0.74)
	2500	99.71 (0.09)
Monkey	50	99.51 (0.03)
	500	99.45 (0.11)
	2500	99.50 (0.05)
Human	50	99.68 (0.05)
	500	99.72 (0.04)
	2500	99.66 (0.11)

LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA: Not applicable.

2.6.5.6.C. キザルチニブのヒト血漿タンパク結合率

			Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.3-4**		
Study System	**In vitro**		
Target entity, Test system and method	**Human plasma, 300 µM HSA solution, 15 µM AAGP solution, equilibrium dialysis using an high throughput protocol**		
Analyte	**Quizartinib**		
Species	**Conc. Tested (µM)**	**n**	**% Bound**
Human Proteins			
HSA	5	2	99.8
AAGP	5	2	Value not obtained.
Plasma	5	2	99.4
Additional information: Poor solubility of quizartinib in the buffer and AAGP wells precluded the determination of a definitive fraction unbound against AAGP and confirmation of binding values from the AAGP free compartment (buffer wells). Mean % Recovery was 110% for HSA and 51.7% for PPB.			

AAGP: α1-acid glycoprotein; HSA: Human serum albumin; PPB: Plasma protein binding.

2.6.5.7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当する試験は実施していない。

2.6.5.8. 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8.A. ラットでの脳への分布

		Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.3-5**	
Species	**Rat/Sprague-Dawley**	
Gender (M/F)/Number of animals	**M/NR**	
Feeding Condition	**Fasted**	
Vehicle/Formulation	**22% HPβCD**	
Assay	**LC-MS/MS**	
Analyte	**Quizartinib**	
Method of Administration	**Intravenous**	**Oral (gavage)**
Dose (mg/kg)	1	10
Sample Time Post-Dose (min)	10	120
B/P (%)	9.3	26.4
Additional information: Samples consisted of plasma, CSF, and brains collected at times indicated per route of administration. Brain levels were corrected for blood contamination assuming 10% blood in the brain by volume. Quizartinib was not detected in CSF and poorly penetrates the brain following iv and oral administration.		

B/P: Brain-to-plasma concentration ratio; CSF: Cerebrospinal fluid; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NR: Not reported.

2.6.5.8.B. ヒトでの血漿中／全血中濃度比

	Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.3-6**
Type of Study	**Blood/Plasma partitioning**
Study System	**Human Whole Blood †**
Concentration	**1.0 µM**
Condition	**37°C, 45 min**
Assay	**LC-MS/MS**
Analyte	**Quizartinib**
Tabulated result	**P/B = 0.92 ± 0.02**
Additional information: From 14 mL of whole blood approximately 3 mL of red cells were yielded when pelleted by centrifugation.	

LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; P/B: Plasma to blood ratio.
† Collected from a single donor.

2.6.5.8.C. ヒトでの血漿中／全血中濃度比

Test Article: Quizartinib dihydrochloride and AC886 dihydrochloride									
Attachment Number	4.2.2.3-7								
Study System	In vitro								
Test System	Test articles at 10, 200, 1600 and 4000 ng/mL were spiked to human blood and allowed to reach equilibrium at 37°C. The samples were then moved to and incubated at room temperature or on ice from 0 to 60 min prior to plasma processing. Plasma concentrations of quizartinib and AC886 were quantified by LC-MS/MS method.								
Species/Sample Matrix	Human/Plasma								
Test Substance	**Time (min)**	**Plasma concentration (ng/mL)**							
		10 ng/mL		**200 ng/mL**		**1600 ng/mL**		**4000 ng/mL**	
		RT	**On ice**	**RT**	**On ice**	**RT**	**On ice**	**RT**	**On ice**
Quizartinib	0	6.75	6.67	152.63	153.20	1457.70	1543.65	4133.82	4428.69
	5	6.70	8.89	159.30	194.12	1538.99	1573.49	4196.09	4644.18
	10	6.67	9.62	150.34	215.39	1505.78	1655.86	4228.20	4639.08
	15	6.60	9.89	153.63	216.42	1487.53	1687.63	4260.36	4727.00
	20	6.64	10.07	156.50	225.44	1513.01	1636.96	4309.26	4644.93
	30	6.70	10.42	151.74	229.41	1497.26	1691.42	4313.00	4779.09
	60	6.79	10.63	157.07	230.66	1525.94	1722.66	4262.22	4698.05
AC886	0	2.94	3.01	71.56	74.76	986.92	1095.66	3080.62	3441.90
	5	3.01	4.81	74.12	109.94	1044.51	1217.44	3134.68	3708.73
	10	3.14	5.42	69.32	129.43	1050.10	1308.10	3194.10	3813.60
	15	3.04	5.89	73.62	132.83	1048.21	1307.19	3293.65	3808.39
	20	3.06	5.94	75.50	143.19	1051.98	1339.60	3301.97	3840.65
	30	3.09	6.48	72.83	152.53	1048.74	1374.37	3280.44	3890.71
	60	3.15	7.24	79.07	171.15	1082.74	1413.84	3347.50	4013.35

a Mean. RT: room temperature.

2.6.5.8.D. ヒトでの血漿中／全血中濃度比

			Test Article: Quizartinib dihydrochloride **AC886 dihydrochloride**
Attachment Number	**4.2.2.3-8**		
Study System	**In vitro**		
Test System	The blood:plasma partition ratio of quizartinib and AC886 were calculated using data from the study MS-2012-007. The samples containing both quizartinib and AC886 at 10, 200, 1600 and 4000 ng/mL were prepared in human blood and allowed to reach equilibrium at 37°C for 20 min to 80 min. The samples were moved to and incubated at room temperature for 0 h prior to plasma processing conducted at room temperature. The plasma concentration was measured using a validated assay.		
Species/Sample Matrix	**Human/ Blood**		
Test Substance	**Nominal blood concentration[a] (ng/mL)**	**Measured plasma concentration[a] (ng/mL)**	**Blood:plasma partition ratio**
Quizartinib	10	6.75	1.48
	200	152.63	1.31
	1600	1457.70	1.10
	4000	4133.82	0.97
AC886	10	2.94	3.40
	200	71.56	2.79
	1600	986.92	1.62
	4000	3080.62	1.30

[a]Values are reported in the study 4.2.2.3-7.

2.6.5.9. 薬物動態試験：代謝：In vivo

2.6.5.9.A. マウスでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態

		Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.4-5**	
Species/Strain	**Mouse/nu/nu**	
Gender (M/F)/Number of animals	**F/3**	
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**	
Method of Administration	**Oral**	
Sample (e.g. Whole blood, plasma, serum etc.)	**Plasma**	
Dose (mg/kg) †	**10**	
Assay	**LC-MS/MS**	
Analyte	**Quizartinib**	**AC886 ‡**
PK parameters	**Mean (SD)**	
Tmax (h)	1.333 (0.577)	3.000 (2.646)
Cmax (µM)	7.991 (0.315)	6.138 (0.106)
AUCinf (µM·h)	85.821 (14.22)	81.786 (7.286)
AUC_{0-24} (µM·h)	83.774 (13.765)	80.107 (6.576)
$T_{1/2}$ (h)	4.6	4.2
Additional information: Sampling times: 15, 30 min, 1, 2, 4, 6 and 24 h post-dose.		

AUCinf: Area under the plasma concentration-time curve up to infinity; AUC_{0-24}: AUC up to 24 h; Cmax: Maximum plasma concentration; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life.
† Dosage of quizartinib.
‡ AC886 is a major biologically active oxidative metabolite of quizartinib.

2.6.5.9.B. ラットでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態

		Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.4-6**	
Species	**Rat/Sprague-Dawley**	
Gender (M/F)/Number of animals	**M/3**	
Vehicle/Formulation	**22% HPβCD**	
Method of Administration	**Oral**	
Sample	**Plasma**	
Dose (mg/kg) †	**30**	
Assay	**LC-MS/MS**	
Analyte	**Quizartinib**	**AC886 ‡**
PK parameters	**Mean (SD)**	
Tmax (h)	2.3 (1.5)	4.7 (1.2)
Cmax (µM)	2.68 (1.90)	1.72 (1.10)
AUCinf (µM·h)	41.58 (25.89)	27.88 (14.46)
AUC_{0-24} (µM·h)	35.28 (23.68)	21.81 (10.15)
$T_{1/2}$ (h)	8.9 (4.4)	9.5 (3.8)
Additional information: Sampling times: 15, 30 min, 1, 2, 4, 6 and 24 h, post-dose.		

AUCinf: Area under the plasma concentration-time curve up to infinity; AUC_{0-24}: AUC up to 24 h; Cmax: Maximum plasma concentration; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life.
† Dosage of quizartinib.
‡ AC886: major biologically active oxidative metabolite of quizartinib.

2.6.5.9.C. ラットでの AC886 の薬物動態

			Test Article: AC886
Attachment number	**4.2.2.4-7**		
Species	**Rat/Sprague-Dawley**		
Feeding condition	**Fasted**		
Sample (e.g. Whole blood, plasma, serum etc.)	**Plasma**		
Analyte	**AC886**		
Assay	**LC-MS/MS**		
Gender (M/F)/Number of animals	**M/3**	**M/2**	
Method of Administration	**Oral (gavage)**	**Intravenous**	
Dose (mg/kg)	**10**	**1**	
Vehicle/Formulation	**22% HPβCD**	**3:1 PEG400:H2O (water for injection)**	
PK parameters	**Mean (SD)**		
Tmax (h)	1.17 (0.76)	NA	
Cmax (µM)	0.36 (0.07)	NA	
AUCinf (µM·h)	2.27 (0.28)	3.29 (NA)	
AUC_{0-24} (µM·h)	2.25 (0.28)	3.28 (NA)	
CL (mL/min/kg)	NA	8.83 (NA)	
F (%)	6.89 (0.85)	NA	
$T_{1/2}$ (h)	3.70 (0.55)	3.40 (NA)	
Vd (L/kg)	NA	1.34 (NA)	
Additional information: Sampling times: 5 (iv only), 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, and 24 h post-dose. F% was calculated using average iv AUCinf and oral AUCinf. The absolute bioavailability of AC886 following a single 10 mg/kg oral dose was 6.9%.			

AUCinf: Area under the plasma concentration-time curve up to infinity; AUC_{0-24}: AUC up to 24 h; CL: Total body clearance; Cmax: Maximum plasma concentration; F: Absolute bioavailability; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA: Not applicable; PEG400: Polyethylene glycol 400; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life; Vd: Volume of distribution.

2.6.5.9.D. ラットでのキザルチニブの反復投与薬物動態

Test Article: Quizartinib dihydrochloride																
Attachment Number	**4.2.2.2-6**															
Species	**Rat/Sprague-Dawley**															
Feeding Condition	**Fed**															
Sample	**Plasma**															
Analyte	**Quizartinib and AC886**															
Assay	**LC-MS/MS**															
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**															
Method of Administration	**Oral (gavage)**															
Analyte	**Quizartinib**								**AC886**							
Gender (M/F)/Number of animals	**M/9 per group**				**F/9 per group**				**M/9 per group**				**F/9 per group**			
Dose (mg/kg)	**1**		**10**		**1**		**10**		**1**		**10**		**1**		**10**	
Day	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**
PK parameters																
Tmax (h)	4.00	6.00	4.00	6.00	6.00	1.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	6.00	2.00	2.00	4.00	4.00
Cmax (ng/mL)	66.1	141	1330	2008	69.3	136	1885	2858	50.3	73.7	659	733	70.3	126	708	940
AUCinf (ng·h/mL)	1087	NR	18,347	NR	1113	2202	27,919	NR	743	1489	9302	15,137	958	1789	10,563	NR
AUClast (ng·h/mL)	925	2184	15,727	32,705	954	1780	23,380	46,694	647	1193	8601	12,156	885	1629	9704	15,947
$T_{1/2}$ (h)	8.27	NR	7.84	NR	7.92	9.96	8.30	NR	7.90	9.97	5.96	9.69	6.17	6.52	6.27	NR
Accumulation ratios: Day 28/Day 1																
Cmax ratio Day 28/Day 1	2.14		1.51		1.97		1.52		1.47		1.11		1.80		1.33	
AUClast ratio Day 28/Day 1	2.36		2.08		1.87		2.00		1.84		1.41		1.84		1.64	
Accumulation ratios: AC886/quizartinib																

Test Article: Quizartinib dihydrochloride																
Attachment Number	4.2.2.2-6															
PK parameter ratio	**Cmax(AC886)/Cmax(quizartinib)**								**AUClast(AC886)/AUClast(quizartinib)**							
Day	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**
AC886/quizartinib ratio	0.761	0.522	0.496	0.365	1.01	0.926	0.376	0.329	0.700	0.546	0.547	0.372	0.928	0.915	0.415	0.342
Additional information: Sampling times: 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 12 and 24 h, post-dose; Blood sampling: Blood was taken from 3 rats per group at each sampling point; NR: Values not reported because AUCinf was extrapolated by more than 20% or Rsq was <0.800.																

2.6.5.9.E. イヌでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態（製剤の比較）

Test Article: Quizartinib dihydrochloride								
Attachment number	**4.2.2.4-9**							
Species	**Dog/Beagle**							
Method of Administration	**Oral (gavage)**							
Sample	**Plasma**							
Assay	**LC-MS/MS**							
Analyte	**Quizartinib**							
Vehicle/Formulation	**22% HPβCD†**	**5% HPβCD/(5 mg Quizartinib /1 mL 5% HPβCD)**			**5% eHPβCD/(5 mg Quizartinib /1 mL 5% HPβCD, lyophilized)**		**2.5% eHPβBCD/(5 mg Quizartinib/1 mL 2.5% HPβCD, lyophilized)**	
Form	**Liquid**	**Liquid**	**Liquid**	**Liquid**	**Liquid**		**Liquid**	
Gender (M/F)/Number of animals	**M/2**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**		**M/3**	
Feeding condition	**Fasted**	**Fasted**	**Fed**	**Pentagastrin**	**Fasted**		**Fasted**	
Dose (mg/kg)	**10.00**	**25.00**	**10.00**	**10.00**	**10.00**		**10.00**	
PK parameters	**Mean (SD)**							
Tmax (h)	1.5 (NA)	1.33 (0.58)	2.33 (1.53)	1.33 (0.58)	2.67 (1.16)		1.67 (0.58)	
Cmax (µM)	2.773 (NA)	4.51 (2.38)	1.35 (0.36)	2.10 (0.14)	3.18 (1.80)		1.98 (1.46)	
AUCinf (µM·h)	17.114 (NA)	26.90 (7.46)	11.61 (1.98)	14.37 (1.85)	17.28 (4.75)		18.63 (18.36)	
AUCall (µM·h)	14.717 (NA)	25.42 (7.32)	10.76 (2.01)	13.64 (2.08)	17.08 (4.67)		12.08 (7.37)	
Percent (%) ‡	100	173	73	93	116		82	
Vehicle/Formulation	**ME/75 mg Quizartinib, 282 mg Mannitol, 22.8 mg Explotab**				**MEC/75 mg Quizartinib, 206 mg Mannitol, 22.8 mg Explotab, 76 mg Citric Acid**			
Form	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**
Gender (M/F)/Number of animals	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**
Feeding condition	**Fasted**	**Fasted**	**Fed**	**Pentagastrin**	**Fasted**	**Fasted**	**Fed**	**Pentagastrin**
Dose (mg/kg)	**10.00**	**25.00**	**10.00**	**10.00**	**10.00**	**25.00**	**10.00**	**10.00**
PK parameters	**Mean (SD)**							
Tmax(h)	1.33 (0.58)	1.33 (58)	2.67 (1.16)	1.33 (58)	1.67 (0.58)	2.33 (1.53)	5.00 (6.08)	2.00 (0)
Cmax (µM)	0.40 (0.28)	0.69 (0.19)	0.86 (0.18)	0.59 (0.18)	0.88 (0.89)	0.87 (0.66)	0.81 (0.20)	1.06 (0.12)
AUCinf (µM·h)	2.36 (1.96)	4.63 (NA)	7.50 (1.37)	4.21 (1.23)	7.02 (NA)	3.87 (NA)	8.08 (3.87)	7.13 (NA)
AUCall (µM·h)	2.26 (1.98)	3.83 (1.42)	7.15 (1.33)	4.05 (1.18)	5.01 (4.98)	4.88 (2.65)	7.28 (3.16)	7.30 (1.28)

Percent (%) ‡	15	26	49	27	34	33	49	50
Vehicle/Formulation	**SLF-Gelucire LF/100 mg Quizartinib, 0.7 mL Gelucire 44/14**		**55% Gelucire LF/55 mg Quizartinib, 0.5 mL Gelucire 44/14**		**63% Gelucire LF/63 mg Quizartinib, 0.5 mL Gelucire 44/14**		**GHM (SHM) Gelucire hot melt/60 mg Quizartinib, 37.5 mg Gelucire 44/14, 112.5 mg PEG 6000, 10 mg Silicon dioxide, 117.5 mg Mannitol, 37.5 mg Explotab**	
Analyte	**Quizartinib**	**AC886§**	**Quizartinib**	**AC886§**	**Quizartinib**	**AC886§**	**Quizartinib**	**AC886§**
Form	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**
Gender (M/F)/Number of animals	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**
Feeding condition	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**
Dose of quizartinib (mg/kg)	**21.50**	**21.50**	**10.00**	**10.00**	**7.60**	**7.60**	**10.00**	**10.00**
PK parameters	**Mean (SD)**							
Tmax (h)	3.33 (1.16)	4.00 (0)	2.00 (0)	3.33 (1.16)	1.83 (1.89)	3.33 (1.16)	10.00 (12.17)	17.33 (11.55)
Cmax (µM)	3.18 (0.79)	0.323 (0.195)	1.36 (0.92)	0.158 (0.064)	0.98 (0.15)	0.152 (0.052)	0.99 (0.57)	0.244 (0.266)
AUCinf (µM·h)	25.23 (8.63)	2.257 (0.856)	8.53 (6.46)	1.564 (0.842)	5.50 (1.77)	1.198 (0.294)	8.55 (NA)	Missing
AUCall (µM·h)	23.04 (7.20)	1.881 (0.877)	8.06 (6.03)	1.24 (0.59)	5.26 (1.71)	1.093 (0.331)	8.09 (4.02)	1.771 (1.787)
Percent (%)‡ (quizartinib)	157	NA	55	NA	36	NA	55	NA
Percent (%)¶ (AC886)	NA	8	NA	15	NA	21	NA	22
Vehicle/Formulation	**LME (eHPβCD capsule)/(70 mg Quizartinib + 140 mg HPBCD, precomplexed and lyophilized), 119 mg Mannitol, 21 mg Explotab**		**MEP/70 mg Quizartinib, 275.5 mg Mannitol, 22.8 mg Explotab, 11.4 mg Pluronic F68**		**SHM/Hot Melt Granulation, 50 mg Quizartinib, 31% PEG6000, 43.3% Mannitol, 12% Explotab**		**SLF-Gelucire/PEG LF/Liquid Fill, 75% Gelucire 44/14, 25% PEG6000**	
Analyte	**Quizartinib**	**AC886§**	**Quizartinib**	**AC886§**	**Quizartinib**	**AC886§**	**Quizartinib**	**AC886§**
Form	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**
Gender (M/F)/Number of animals	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**
Feeding condition	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**
Dose of quizartinib (mg/kg)	**10.20**	**10.20**	**11.00**	**11.00**	**10.00**	**10.00**	**7.90**	**7.90**
PK parameters	**Mean (SD)**							
Tmax (h)	2.67 (1.16)	2.67 (1.16)	2.33 (1.53)	3.00 (1.73)	1.67 (0.58)	2.67 (1.16)	1.00 (0.87)	1.67 (0.58)
Cmax (µM)	1.52 (0.54)	0.316 (0.082)	0.61 (0.58)	0.098 (0.083)	1.22 (0.16)	0.281 (0.059)	0.49 (0.29)	0.056 (0.011)
AUCinf (µM·h)	9.16 (2.36)	2.054 (0.033)	6.19 (NA)	0.772 (0.631)	8.32 (1.46)	4.63 (4.589)	1.60 (NA)	0.365 (NA)

AUCall (µM·h)	8.84 (2.18)	1.923 (0.125)	3.77 (3.39)	0.657 (0.556)	7.38 (0.65)	1.809 (0.404)	3.43 (3.25)	0.566 (0.379)
Percent (%)‡ (quizartinib)	60	NA	26	NA	50	NA	23	NA
Percent (%)¶ (AC886)	NA	22	NA	17	NA	25	NA	17
Vehicle/Formulation	**SLF-Gelucire LF/Liquid Fill, 50 mg Quizartinib, 470 mg Gelucire 44/14**		**SM/75 mg micronized Quizartinib, 282 mg mannitol, 22.8 mg Explotab**		**SWG/Wet Granulation, 75 mg Quizartinib, 226 mg Mannitol, 14 mg PVP, 35 mg Explotab**			
Analyte	**Quizartinib**	**AC886§**	**Quizartinib**	**AC886§**	**Quizartinib**	**AC886§**		
Form	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**	**Capsule**		
Gender (M/F)/Number of animals	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**	**M/3**		
Feeding condition	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**	**Fasted**		
Dose of quizartinib (mg/kg)	**10.00**	**10.00**	**10.00**	**10.00**	**10.00**	**10.00**		
PK parameters	**Mean (SD)**							
Tmax (h)	1.33 (0.58)	2.00 (0)	3.33 (1.16)	2.67 (1.16)	1.67 (0.58)	9.33 (12.70)		
Cmax (µM)	3.03 (0.35)	0.33 (0.012)	1.00 (0.82)	0.245 (0.205)	0.70 (0.20)	0.189 (0.09)		
AUCinf (µM·h)	16.89 (4.12)	4.044 (2.999)	6.67 (5.86)	2.326 (2.568)	4.12 (1.41)	0.989 (NA)		
AUCall (µM·h)	16.00 (3.10)	2.354 (0.657)	6.20 (5.30)	1.494 (1.272)	5.35 (2.48)	1.486 (0.995)		
(time for calculation) (h)	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24	0-24		
Percent (%)‡ (quizartinib)	109	NA	42	NA	36	NA		
Percent (%)¶ (AC886)	NA	15	NA	24	NA	28		
Additional information: Sampling times: 15, 30 min, 1, 2, 4, 8, 12 and 24 h post-dose; PK parameters were calculated with WinNonlin v5.2 using a noncompartmental model and linear trapezoidal estimation.								

AUCall: Area under the plasma concentration-time curve for all time points; AUCinf: AUC up to infinity; Cmax: Maximum plasma concentration; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA: Not applicable; PEG: Polyethylene glycol; PVP: Polyvinyl pyrrolidone; Pentagastrin: gastric acid modifying agent; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations.
†Historical control, 4.2.2.2-7.
‡Comparison of quizartinib PK parameters to reference liquid formulation (22% HPβCD) in Attachment No. 4.2.2.2-7.
§AC886 from quizartinib.
¶ Comparison of AUC for AC886 to AUC for quizartinib.

2.6.5.9.F. サルでのキザルチニブ及び AC886 の薬物動態（製剤の比較）

				Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.4-11**			
Species	**Cynomolgus Monkey**			
Feeding condition	**Fed**			
Method of Administration	**Oral (gavage)**			
Sample	**Plasma**			
Assay	**LC-MS/MS**			
Gender (M/F)/Number of animals	**M/3**		**M/3**	
Vehicle/Formulation	**Gelucire capsule/18 mg Quizartinib/mL Gelucire**		**5% HPBCD/3 mg Quizartinib/mL in 5% HPBCD solution**	
Dose (mg/kg) †	**2.8**		**3**	
Analyte	**Quizartinib**	**AC886 ‡**	**Quizartinib**	**AC886 ‡**
PK parameters	**Mean (SD)**		**Mean (SD)**	
Tmax (h)	2.7 (1.2)	2.7 (1.2)	1.7 (0.6)	4.7 (3.1)
Cmax (µM)	0.06 (0.05)	0.21 (0.12)	0.02 (0.01)	0.13 (0.04)
AUCinf (µM·h)	0.32 (0.27)	2.53 (1.00)	0.21 (0.04)	1.94 (0.22)
$T_{1/2}$ (h)	5.6 (1.1)	7.2 (0.4)	9.3 (2.0)	7.8 (0.9)
Additional information: Sampling times: predose, 15, 30 min, 1, 2, 4, 8, 12 and 24 h, post-dose; PK parameters calculated using noncompartmental model in WinNonlin v5.2.				

AUCinf: Area under the plasma concentration-time curve up to infinity; Cmax: Maximum plasma concentration; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life.
† Dosage of quizartinib.
‡ AC886: major biologically active oxidative metabolite, rapidly and extensively converted from quizartinib.

2.6.5.9.G. キザルチニブを投与したラットの腎臓組織中の代謝物プロファイル

		Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.4-12**	
Species/Strain	**Rat/Sprague-Dawley**	
Samples	**Kidney Homogenates †**	
Assay	**LC-MS/MS**	
Analyte	**Quizartinib and phase I and II metabolites**	
Metabolite identified in rat kidney homogenate	**Change in mass**	**LC-RT (min)**
Parent	NA	11.97
M1	P+16	9.06
M1’	P+16	12.55
M3	P−2	12.55
M4’	P+16	12.55
M6	P+30	11.00
M6’	P+30	12.55
M11’	P+32	9.71
M14’	P+14	16.68
M15	P+28	12.55
M19’	P+30	9.23
M21’	P+18	12.55
M28	P−87	12.86
M31	P−85	9.98
M37	P+32	11
M37’	P+32	11.65
M37’’	P+32	12.65
M37’’’	P+32	13.8
Additional Information: Birefringent crystals in the kidney appeared to be comprised of quizartinib and various quizartinib metabolites. Two metabolic pathways for quizartinib are proposed, including oxidation of the tert-butyl isoxazole and oxidation followed by subsequent ring opening of the morpholino group.		

LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LC-RT: Liquid chromatography retention time; NA: Not applicable.
† Kidney samples were obtained in animals given 10 mg/kg/day of quizartinib in the 13-week repeated dose toxicity study in rats (Attachment No. 4.2.3.2-2).

2.6.5.9.H. イヌでの［^{14}C］キザルチニブの代謝物プロファイル

Test Article: [^{14}C] Quizartinib dihydrochloride	
Attachment number	**4.2.2.4-10**
Species	**Dog/Beagle**
Gender (M/F)/Number of animals	**M/2, F/2**
Feeding condition	**Fed**
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**
Method of Administration	**Oral (gavage)**
Dose (mg/kg)	**10**
Radionuclide	**[^{14}C]Quizartinib**
Assay	**HPLC/RAD**
Specific Activity	**59 mCi/mmol**

HPLC/RAD Sample†	Sampling Period (h)	Total Percentage of Dose in Pooled Sample		Compound Percentage of Dose in Pooled Sample ‡									
				Parent §		30.2 min peak AC886 ¶		25.7 min peak		41.7 min peak		28.1 min peak	
		M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2
Feces ††	6-12	NA	1.30	NA	0.45	NA	0.15	NA	0.04	NA	0.13	NA	0.10
	12-24	20.38	42.40	13.33	18.58	2.47	9.19	0.46	6.84	3.65	1.78	ND	3.27
	24-48	56.49	21.92	33.98	1.85	8.90	3.89	6.62	5.54	1.55	2.37	2.99	2.50
	48-72	6.90	6.98	0.33	ND	1.13	0.65	0.81	0.25	0.25	ND	0.41	0.32
	72-96	1.26	2.87	ND	0.19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.11	0.19
	96-120	0.53	2.03	0.09	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.06	0.04	ND
	Total ‡‡	85.55	77.50	47.73	21.06	12.50	13.89	7.88	12.68	5.45	4.34	3.54	6.37

Sample †	Sampling Period (h)	Total Percentage of Dose in Pooled Sample		Compound Percentage of Dose in Pooled Sample ‡							
				Parent §		42.1 min peak		41.5 min peak		30.2 min peak AC886	
		M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2	M/2	F/2
Urine	0-6	NA	0.03	NA	<0.005	NA	<0.005	NA	ND	NA	ND
	6-12	NA	0.15	NA	<0.005	NA	0.01	NA	ND	NA	0.01
	0-12	0.13	NA	0.05	NA	0.05	NA	0.01	NA	ND	NA
	12-24	0.15	0.18	0.07	ND	0.05	<0.005	0.02	ND	ND	0.01
	24-48	0.12	0.16	0.05	0.01	0.05	ND	0.01	ND	ND	ND
	48-72	0.07	0.10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Total ‡‡	0.46	0.63	0.17	0.01	0.14	0.02	0.04	ND	ND	0.02

Test Article: [^{14}C] Quizartinib dihydrochloride							
Attachment number				4.2.2.4-10			
Sample †	**Sampling Time (h)**	**Total Radioactivity in Pooled Sample (µg-equiv/g)**		**Amount of Compound in Pooled Sample (µg-equiv/g) §§**			
				Parent §		**29.9 min peak AC886 ¶**	
		M/2	**F/2**	**M/2**	**F/2**	**M/2**	**F/2**
Plasma	2	1.569	3.513	1.040	2.407	0.116	0.239
	4	1.081	2.248	0.642	1.408	0.117	0.217
	24	0.164	0.322	0.075	0.141	0.051	0.089

Plasma PK parameters for Total Radioactivity, Quizartinib, AC886 and 42-min Peak

Sex	**Analyte**	**Tmax (h)**	**$T_{1/2}$(h)**	**Cmax (ng-equiv/mL)**	**AUC_{0-24} (h·ng-equiv/mL)**	**AUCinf (h·ng-equiv/mL)**
Male	Total Radioactivity	2.0	6.66	1569	16,659	18,380
Male	Quizartinib	2.0	6.05	1040	9892	10,547
Male	AC886	4.0	17.75	117	2029	3335
Male	42-min Peak	2.0	5.95	379	3767	3999
Female	Total Radioactivity	2.0	6.45	3513	34,973	38,217
Female	Quizartinib	2.0	5.62	2407	21,712	22,855
Female	AC886	2.0	15.48	239	3755	5743
Female	42-min Peak	2.0	6.43	735	7884	8487

AUCinf: Area under the curve up to infinity; AUC_{0-24}: AUC up to 24 h; Cmax: Maximum plasma concentration; HPLC/RAD: High-performance liquid chromatography/Radioactivity detection; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: liquid chromatography-tandem mass spectrometry; ND: Not detected (below limit of detection); Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life.

Note: Only major and identified metabolites are presented in table. Non-detected values were calculated as 0.

† Pooled samples were prepared by combining a fixed percentage of individual animal samples from each time point.

‡ Percentage of compound in peak = (% administered dose in sample) x (% high performance liquid chromatography [HPLC] distribution).

§ Peak was assigned as [^{14}C]Quizartinib based on HPLC co-elution with quizartinib standard.

¶ Peak was assigned as [^{14}C]AC886 based on HPLC co-elution with AC886 standard.

†† For feces, the percentage of dose refers to the extractable percentage of dose.

‡‡ Total = Sum of values for 12-24, 24-48, 48-72, 72-96 and 96-120 hour, 6-12, 12-24, 24-48, 48-72, 72-96 and 96-120 hour, 0-12, 12-24, 24-48 and 48-72 hour, 0-6, 6-12, 12-24, 24-48 and 48-72 hour pooled samples of male feces, female feces, male urine and female urine, respectively.

§§ µg-equiv/g in peak = (µg-equiv/g in pooled plasma) × (HPLC distribution).

2.6.5.9.l. キザルチニブを投与したイヌの肝臓及び腎臓組織中の代謝物プロファイル

			Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.4-13**		
Species/Strain	**Dog/Beagle**		
Samples	**Liver Homogenates †**		
Assay	**LC-MS/MS and LC- UV/MS**		
Analyte	**Quizartinib and various Quizartinib metabolites**		
Dose (mg/kg/day)	**15**		
Metabolite identified in dog liver homogenate	**Change in mass**	**LC-RT (min)**	**Structure Elucidated by MS/MS**
Parent	NA	11.40	Yes
M-1	P+16	6.93	Yes
M-1'	P+16	12.22	Yes
M-2	P−26	15.36	Yes
M-3	P−2	12.22	Yes
M-4	P+16	10.15	Yes
M-4'	P+16	12.22	Yes
M-6	P+30	9.84	---
M-6'	P+30	12.22	---
M-6''	P+30	15.54	---
M-6''''	P+30	26.95	---
M-8	P+14	9.84	---
M-11	P+32	7.49	Yes
M-11'	P+32	9.80	Yes
M-12	P+32	12.22	Yes
M-12'	P+32	13.10	Yes
M-13	P+48	8.99	Yes
M-14	P+14	10.99	Yes
M-14'	P+14	18.55	Yes
M-15	P+28	12.35	Yes
M-16	P+44	11.80	Yes
M-17	P+44	12.16	---

			Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	4.2.2.4-13		
Metabolite identified in dog liver homogenate	**Change in mass**	**LC-RT (min)**	**Structure Elucidated by MS/MS**
M-18	P+30	9.80	---
M-19	P+30	7.09	Yes
M-19'	P+30	9.76	Yes
M-20	P+18	6.29	Yes
M-20'	P+18	9.29	Yes
M-20''	P+18	12.29	Yes
M-21	P+18	10.15	Yes
M-21'	P+18	12.22	Yes
M-22	P+80	8.30	Yes
M-22'	P+80	9.56	Yes
M-23	P+2	6.22	Yes
M-23'	P+2	11.54	Yes
M-24	P+176	6.44	---
M-25	P+305	12.22	Yes
M-26	P−53	18.60	---
M-27	P−101	12.26	---
M-28	P−87	12.26	---
M-29	P−334	5.94	---
M-29'	P−334	9.84	---
M-30	P+46	5.79	Yes
M-30'	P+46	8.95	Yes
M-31	P−85	12.26	Yes
M-32	P−98	12.31	Yes
M-33	P−115	12.26	---
M-34	P−37	11.77	Yes
M-35	P+31	9.84	Yes
M-36	P−128	5.78	Yes
M-36'	P−128	9.71	Yes

			Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.4-13**		
Metabolite identified in dog liver homogenate	**Change in mass**	**LC-RT (min)**	**Structure Elucidated by MS/MS**
M-37	P+32	11	---
M-37'	P+32	11.65	---
M-37''	P+32	12.65	---
M-37'''	P+32	13.8	---
Additional information: Birefringent crystals in the liver appeared to be comprised of quizartinib and various quizartinib metabolites. Two metabolic pathways for quizartinib are proposed, including oxidation of the tert-butyl isoxazole and oxidation followed by subsequent ring opening of the morpholino group.			

---: not determined.
LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LC-RT: Liquid chromatography retention time; LC-UV/MS: Liquid chromatography-tandem UV detection and mass spectrometry; MS/MS: Tandem mass spectrometry.
† Liver samples were obtained in animals given 15 mg/kg/day of quizartinib in the 13-week repeated dose toxicity study in rats (Attachment No. 4.2.3.2-4).

2.6.5.9.J. ラットでの［^{14}C］キザルチニブの代謝物プロファイル

													Test Article: [^{14}C] Quizartinib dihydrochloride
Attachment number							**4.2.2.3-1**						
Species							**Rat/Sprague-Dawley**						
Gender (M/F)/Number of animals							**M/4, F/4**						
Feeding condition							**Fasted**						
Vehicle/Formulation							**5% HPβCD**						
Method of Administration							**Oral (gavage)**						
Dose (mg/kg)							**30**						
Radionuclide							**[^{14}C] Quizartinib**						
Assay							**HPLC/RAD**						
Specific Activity							**59 mCi/mmol**						
HPLC/RAD Sample †	**Sampling Period (h)**	**Total Percentage of Dose in Pooled Sample**		**Compound Percentage of Dose in Pooled Sample ‡**									
				Parent §		**40.1 min peak Oxidation**		**23.4 min peak Not Identified**		**30.2 min peak AC886**		**25.7 min peak Ring Opening**	
		M/4	**F/4**	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**
Feces ††	0-12	10.07	0.16	6.17	0.13	0.13	0.01	1.92	0.02	0.12	ND	0.64	ND
	12-24	47.22	34.42	14.42	14.46	6.93	4.09	6.43	5.36	5.81	1.55	2.24	1.31
	24-48	20.71	39.03	3.76	2.70	0.86	11.33	4.59	0.92	1.88	7.54	2.01	5.52
	48-72	3.12	7.12	0.97	1.68	ND	ND	0.87	1.86	ND	ND	ND	ND
	Total ‡‡	81.12	80.73	25.32	18.98	7.93	15.43	13.81	8.16	7.81	9.09	4.89	6.83
Sample †	**Sampling Period (h)**	**Total Percentage of Dose in Pooled Sample**		**Compound Percentage of Dose in Pooled Sample ‡**									
				Parent §		**31.2 min peak ¶ AC886**		**31.9 min peak**		**41.5 min peak**			
		M/4	**F/4**	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**		
Urine	6-12	0.26	0.32	0.01	0.02	0.11	0.14	0.10	0.09	0.02	0.02		
	12-24	0.64	0.53	0.02	0.04	0.31	0.19	0.20	0.17	0.07	0.07		
	24-48	0.31	0.53	0.02	0.04	0.12	0.26	0.12	0.15	0.03	0.08		
	48-72	0.07	0.10	ND	ND	0.04	0.05	0.03	0.05	ND	ND		
	Total ‡‡	1.27	1.47	0.05	0.09	0.58	0.64	0.44	0.46	0.11	0.17		

Test Article: [^{14}C] Quizartinib dihydrochloride							
Attachment number				4.2.2.3-1			
Sample †	**Sampling Time (h)**	**Total Radioactivity in Pooled Sample (µg-equiv/g)**		**Amount of Compound in Pooled Sample (µg-equiv/g) §§**			
				Parent §		**29.9 min peak AC886 ¶**	
		M/4	**F/4**	**M//4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**
Plasma	2	6.800	6.436	5.097	5.155	1.183	1.196
	4	7.512	8.682	5.460	6.531	1.617	1.784
	24	0.891	2.096	0.526	1.587	0.281	0.440
Additional information:							

PK Parameters of Total Radioactivity, Quizartinib and AC886

Sex	Analyte	Tmax (h)	$T_{1/2}$ (h)	Cmax (ng-equiv/mL)	AUC_{0-24} (h·ng-equiv/mL)	AUCinf (h·ng-equiv/mL)
Male	Total Radioactivity	4.0	6.50	7512	105,142	113,497
Male	Quizartinib	4.0	5.92	5460	75,514	80,010
Male	AC886	4.0	7.92	1617	22,963	26,174
Female	Total Radioactivity	4.0	9.75	8682	12,937	158,817
Female	Quizartinib	4.0	9.80	6531	98,021	120,457
Female	AC886	4.0	9.90	1784	26,416	32,702

AUCinf: Area under the curve from time zero to infinity; AUC_{0-24}: AUC from time zero to 24 h; Cmax: Maximal plasma concentrations; Tmax: Time to reach maximal plasma concentrations

Note: Only major and identified metabolites are presented in table. Non-detected values were calculated as 0.
HPLC/RAD: High-performance liquid chromatography/Radioactivity detection; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; ND: Not detected (below limit of detection).
† Pooled samples were prepared by combining a fixed percentage of individual animal samples from each time point.
‡ Percentage of compound in peak = (% administered dose in sample) × (% high performance liquid chromatography [HPLC] distribution).
§ Peak was assigned as [^{14}C]Quizartinib based on HPLC co-elution with quizartinib standard.
¶ Peak was assigned as [^{14}C]AC886 based on HPLC co-elution with AC886 standard.
†† For feces, the percentage of dose refers to the extractable percentage of dose.
‡‡ Total = Sum of values for 0-12, 12-24, 24-48 and 48-72 h pooled samples.
§§ µg-equiv/g in peak = (µg-equiv/g in pooled plasma) × (HPLC distribution).

2.6.5.10. 薬物動態試験：代謝：In vitro

2.6.5.10.A. ラット、イヌ、サル、及びヒト肝細胞を用いた代謝安定性試験

				Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.4-1**			
Study System	**Hepatocytes at cell density of 0.5 × 10^6 viable cells/mL**			
Concentration	**3 µM**			
Incubation time (min)	**0, 5, 10, 20, 40, and 60**			
Assay	**LC-MS/MS**			
Analyte	**Quizartinib**			
Species	**Rat/Sprague-Dawley**	**Dog/Beagle**	**Cynomolgus Monkey**	**Human †**
CLint (µL/min/10^6 cells)	0.805	1.90	1.19	1.85
SE of CLint	0.895	0.754	0.820	0.666
$T_{1/2}$ (min)	1720	728	1170	747
Additional information: Quizartinib demonstrated low hepatic clearance in all four species. Due to a lack of sufficient turnover of the compound in this system, metabolism studies were not done.				

CLint: Intrinsic clearance; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life.
† Pooled from 3 individuals.

2.6.5.10.B. マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒトの肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験

						Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number		**4.2.2.4-2**				
Study System/concentration		**Liver Microsomes/0.5 mg/mL**				
Concentration		**1 µM**				
Incubation time (min)		**0, 5, 15, 30, and 60**				
Assay		**LC-MS/MS**				
Analyte		**Quizartinib**				
Microsomal Stability						
Species		**Mouse**	**Rat**	**Dog**	**Monkey**	**Human †**
$T_{1/2}$ (min)		>60	>60	33	19	>60
Testosterone $T_{1/2}$ (min)		6	4	> 60	3	11
Species Comparison of Clearance						
Species		**Mouse**	**Rat**	**Dog**	**Monkey**	**Human**
In vivo	**$T_{1/2}$ (h)**	NA	6.9	6.1	2.7	NA
	CLint	Low	Low	Modest	High	Low
In vitro	**$T_{1/2}$ (h)**	>60	>60	33	19	>60
	CLint	Low	Low	Med-High	High	Low
Additional information: Extent of metabolism was not quantified, but quizartinib turnover was not extensive in any of the species examined in this study. Limit of calculation for intrinsic clearance is 23 µL/min/mg at 60 min.						

CLint: Intrinsic clearance; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA: Not available; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life.
† Pooled, male and female.

2.6.5.10.C. ヒト肝 S9 を用いたキザルチニブ及び AC886 の安定性試験

	Test Article: Quizartinib dihydrochloride AC886	
Attachment number	**4.2.2.4-3**	
Study System/concentration	**Human liver S9 fraction/0.5 mg/mL**	
Incubation time (min)	**0, 5, 15, 30, and 60**	
Concentration	**1 µM**	
Assay	**LC-MS/MS**	
Analyte	**Quizartinib**	**AC886**
$T_{1/2}$ (min)	>60	>60
CLint (µL/min/mg) †	<23	<23
% Remaining	84.22	60.93
Additional information: The extent of metabolism was not quantified, the formation of the AC886 metabolite from quizartinib was observed at all time-points. The formation of AC886 from quizartinib incubated in human liver S9 fraction was positively identified.		

CLint: Intrinsic clearance; LC-MS/MS: liquid chromatography-tandem mass spectrometry; $T_{1/2}$: Terminal elimination half-life.
†Limit of calculation for intrinsic clearance is 23 µL/min/mg at 60 min.

2.6.5.10.D. ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いたキザルチニブの CYP 分子種同定試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride				
Attachment number	**4.2.2.4-4**			
Type of Study	**Reaction Phenotyping**			
Study System (concentration)	**Recombinant Human CYP isoforms (10 pmol CYP/mL) and Human Liver Microsomes (0.15 mg protein/mL)**			
Incubation time (min)	**0, 5, 15, 30, 60 for Recombinant hCYP Isoforms and 0, 15, 30, 60 for Human Liver Microsomes**			
Concentration	**1 µM**			
Assay	**LC-MS/MS**			
Analyte	**Quizartinib**			
Recombinant Human CYP Enzymes		**Human Liver Microsomes**		
CYP isoforms	**CLint (µL/min/pmol CYP)**	**CYP isoforms**	**Inhibitor**	**Inhibition Ratio of the Metabolism of quizartinib (%)**
CYP1A2	0.317	**CYP1A2**	Furafylline	NA
CYP2B6	0.387	**CYP2C8**	Montelukast	34.7
CYP2C8	0.541	**CYP2C9**	Sulfaphenazole	8.5
CYP2C9	0.634	**CYP2C19**	*N*-3-Benzylnirvanol	NA
CYP2C19	0.383	**CYP2D6**	Quinidine	6.0
CYP2D6	0.255	**CYP3A**	Ketoconazole	95.0
CYP3A4	3.56			
CYP3A5	2.83			
Control	0.335			
Control + reductase + b5	0.642			
Additional information: CYP3A4/5 was identified as the major CYP isoform responsible for the metabolism of quizartinib.				

LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Control + reductase + b5: Control + P450 reductase + Cytochrome b_5; NA: Not applicable.

2.6.5.10.E. ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いた AC886 の CYP 分子種同定試験

Test Article: AC886 dihydrochloride				
Attachment number	**4.2.2.4-4**			
Type of Study	**Reaction Phenotyping**			
Study System (concentration)	**Recombinant Human CYP Isoforms (10 pmol CYP/mL) and Human Liver Microsomes (0.15 mg protein/mL)**			
Incubation time (min)	**0, 5, 15, 30, 60 for Recombinant hCYP Isoforms and 0, 15, 30, 60 for Human Liver Microsomes**			
Concentration	**1 µM**			
Assay	**LC-MS/MS**			
Analyte	**AC886**			
Recombinant Human CYP Enzymes		**Human Liver Microsomes**		
CYP isoforms	**CLint (µL/min/pmol CYP)**	**CYP isoforms**	**Inhibitor**	**Inhibition Ratio of the Metabolism of AC886 (%)**
CYP1A2	0.00952	**CYP1A2**	Furafylline	NA
CYP2B6	NA	**CYP2C8**	Montelukast	41.7
CYP2C8	0.174	**CYP2C9**	Sulfaphenazole	11.9
CYP2C9	0.105	**CYP2C19**	*N*-3-Benzylnirvanol	NA
CYP2C19	0.175	**CYP2D6**	Quinidine	NA
CYP2D6	0.0556	**CYP3A**	Ketoconazole	85.0
CYP3A4	2.86			
CYP3A5	0.600			
Control	0.0839			
Control + reductase + b5	0.171			
Additional information: CYP3A4/5 was identified as the major CYP isoform responsible for the metabolism of AC886.				

LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Control + reductase + b5: Control + P450 reductase + Cytochrome b_5; NA: Not applicable.

2.6.5.10.F. ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いたキザルチニブから AC886 生成の CYP 分子種同定試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride				
Attachment number	**4.2.2.4-4**			
Type of Study	**Reaction Phenotyping**			
Study System (concentration)	**Recombinant Human CYP Isoforms (10 pmol CYP/mL) and Human Liver Microsomes (0.15 mg protein/mL)**			
Incubation time (min)	**5 for Recombinant hCYP Isoforms and 15 for Human Liver Microsomes**			
Concentration	**1 µM**			
Assay	**LC-MS/MS**			
Analyte	**AC886**			
Recombinant Human CYP Enzymes		**Human Liver Microsomes**		
CYP isoforms	**Formation Rate (pmol/min/pmol CYP)**	**CYP isoforms**	**Inhibitor**	**Inhibition Ratio of AC886 formation from Quizartinib (%)**
CYP1A2	NA	**CYP1A2**	Furafylline	5.3
CYP2B6	NA	**CYP2C8**	Montelukast	52.1
CYP2C8	NA	**CYP2C9**	Sulfaphenazole	4.9
CYP2C9	NA	**CYP2C19**	*N*-3-Benzylnirvanol	47.8
CYP2C19	NA	**CYP2D6**	Quinidine	NA
CYP2D6	NA	**CYP3A**	Ketoconazole	89.6
CYP3A4	0.1791			
CYP3A5	0.3335			
Control	NA			
Control + reductase + b5	NA			
Additional information: CYP3A4/5 was identified as the major CYP isoform responsible for the formation of AC886 from quizartinib.				

LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Control + reductase + b5: Control + P450 reductase + Cytochrome b_5; NA: Not applicable.

2.6.5.11. 薬物動態試験：推定代謝経路

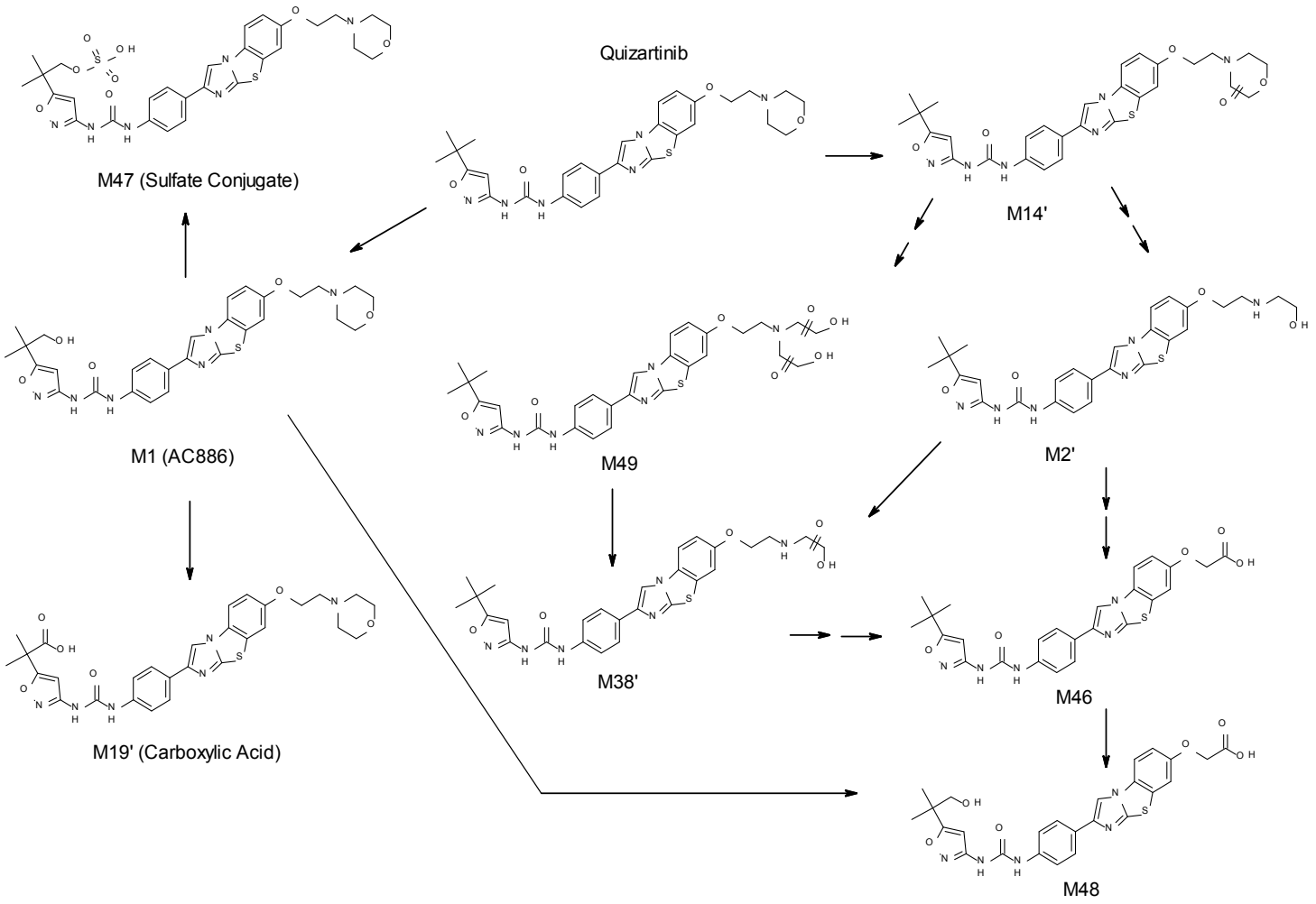
2.6.5.11.A. ラット胆汁中代謝物から推定される代謝経路

			Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment number	**4.2.2.4-8**		
Species/Gender (M/F)/ Number of animals	**Rat/Sprague-Dawley/M/6**		
Feeding condition	**Overnight fast; food pellet (1.9 g) 5 h pre-dose**		
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**		
Method of administration	**Oral (gavage)**		
Test System	**Bile**		
Dose (mg/kg)	**30**		
Assay	**LC-MS/MS**		
Compound	**Change in Mass**	**LC-RT (min)**	**Elucidation by MS/MS**
Parent	NA	11.8	yes
M1	P+16	9.7	yes
M19’	P+30	9.7	yes
M14’	P+14	17	yes
M38’	P−12	12.3	yes
M47	P+96	9.5	yes
M46	P−55	17	yes
M2’	P−26	11.8	yes
M48	P−39	12.4	yes
M49	P+46	15.9	yes

HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LC-RT: Liquid chromatography retention time; MS/MS: Tandem mass spectrometry; NA: Not applicable.

Proposed Metabolic Pathway for Quizartinib, including oxidation and conjugation of the isoxazole ring and oxidation and cleavage of the morpholino group.

Double arrows indicate more than one reaction step expected.



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.A. キザルチニブによる CYP 阻害作用

					Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment Number		**4.2.2.6-1, 4.2.2.6-2**			
Type of Study		**CYP Inhibition**			
Assay		**LC-MS/MS**			
Analyte		**Metabolites of probe substrates**			
Study System		**Human Liver Microsomes †**			
Quizartinib Concentrations		0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 µM, Final DMSO concentration = 0.20%			
		CYP Inhibition			
Attachment Number	**CYP Isoform**	**IC_{50} (µM)**	**Substrate**	**Metabolite**	**Positive Control**
4.2.2.6-1	**CYP1A2**	>40	Phenacetin	Acetaminophen	Alpha-Naphthoflavone
	CYP3A4	>40	Testosterone	6-beta-OH-Testosterone	Ketoconazole
	CYP2C9	>40	Diclofenac	4-OH-diclofenac	Sulfaphenazole
	CYP2C19	>40	Mephenytoin	4-OH-mephenytoin	Omeprazole
	CYP2D6	>40	Dextromethorphan	Dextrorphan	Quinidine
4.2.2.6-2	**CYP2B6**	>40	Bupropion	OH-Bupropion	Ticlopidine
	CYP2C8	>40	Taxol	OH-Taxol	Quercetin
Additional information: Microsomal protein concentrations: 0.50 mg protein/mL for CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8 and CYP2C19, and 0.25 mg protein/mL for CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4					

DMSO: Dimethylsulfoxide; IC_{50}: 50% inhibitory concentration; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry.
† Pooled male and female human liver microsomes.

2.6.5.12.B. AC886 による CYP 阻害作用

					Test Article: AC886 dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.6-3, 4.2.2.6-4**				
Type of Study	**CYP Inhibition**				
Assay	**LC-MS/MS**				
Analyte	**Metabolites of probe substrates**				
Study System	**Human Liver Microsomes †**				
AC886 Concentrations	0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 µM, Final DMSO concentration = 0.20%				
Attachment Number	**4.2.2.6-3**				
	CYP Inhibition				
CYP Isoform	**IC_{50} (µM) ‡**	**IC_{50} (µM) §**	**Substrate**	**Metabolite**	**Positive Control**
CYP1A2	>40	>40	Phenacetin	Acetaminophen	Furafylline
CYP3A4	>40	26.2	Testosterone	6-beta-OH Testosterone	Ketoconazole
CYP2C9	>40	>40	Diclofenac	4-OH Diclofenac	Sulfaphenazole
CYP2C19	15.5	24.7	Mephenytoin	4-OH Mephenytoin	Ticlopidine
CYP2D6	>40	>40	Dextromethorphan	Dextrorphan	Quinidine
Attachment Number	**4.2.2.6-4**				
	CYP Inhibition				
CYP Isoform	**IC_{50} (µM) §**		**Substrate**	**Metabolite**	**Positive Control**
CYP2B6¶	>40		Bupropion	OH-Bupropion	Ticlopidine
CYP2C8 ††	11.3±2.07		Taxol	OH-Taxol	Quercetin
Additional information: Microsomal protein concentrations: 0.50 mg protein/mL for CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8 and CYP2C19, and 0.25 mg protein/mL for CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4.					

DMSO: Dimethylsulfoxide; IC_{50}: 50% inhibitory concentration; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry.
† Pooled male and female human liver microsomes.
‡CYP inhibition by AC886 determined using the multiplex CYP assay.
§ CYP inhibition by AC886 determined using the singleplex CYP assay.
¶ Duplicate.
†† Mean ± SD of 8 repeats.

2.6.5.12.C. CYP3A4、CYP2C19、及び CYP2C8 に対する AC886 の Ki 値

							Test Article: AC886 dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.6-5**						
Type of Study	**CYP Inhibition**						
Study System	**Human Liver Microsomes**						
Assay	**LC-MS/MS**						
Analyte	**Metabolites of probe substrates**						
AC886 Concentrations	**0.31 µM to 40 µM**						
Type of Inhibition	**Competitive**			**Non-Competitive**		**Uncompetitive**	
CYP Isoform	**Substrate**	**Best Fit Ki (µM)**	**Global R^2**	**Best Fit Ki (µM)**	**Global R^2**	**Best Fit Ki (µM)**	**Global R^2**
CYP3A4	Testosterone	13.1	0.9652	48.9	0.9788	36	0.9784
CYP2C8	Taxol	22.1	0.9832	60.8	0.992	37.7	0.9917
CYP2C19	Mephenytoin	1.7	0.965	10.4	0.9919	7.4	0.9783
Additional information: As determined by global non-linear regression analysis, AC886 is a weak non-competitive inhibitor of CYP2C19 with Ki of 10.4 µM, and not an inhibitor of CYP3A4 or CYP2C8.							

K_i: Inhibition constant; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

2.6.5.12.D. CYP 分子種に対するキザルチニブ及び AC886 の時間依存的阻害作用

							Test Article: AC886 dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.6-6**						
Type of Study	**CYP Inhibition**						
Study System (concentration)	**Human Liver Microsomes (2 mg/mL during pre-incubation)**						
Assay	**LC-MS/MS**						
Analyte	**Metabolites of probe substrates**						
Concentration	**10 µM**						
Incubation Time (min)		**0**	**0**	**5**	**10**	**20**	**30**
CYP Isoform	**Substrate**	**% Metabolite Formation**					
CYP3A4-Run 1	Testosterone	113	107	102	98	99	97
CYP3A4-Run 2		110	105	102	97	95	94
CYP3A4-ACN Control		92	86	112	101	107	102
CYP2C8-Run 1	Taxol	76	83	64	74	68	74
CYP2C8-Run 2		82	69	75	73	69	77
CYP2C8-ACN Control		91	108	92	99	100	110
CYP2C19-Run 1	Mephenytoin	100	77	102	97	88	100
CYP2C19-Run 2		101	95	35	110	101	100
CYP2C19-ACN Control		89	95	102	97	110	107
Additional information: AC886 was not a time-dependent inhibitor of CYP3A4, CYP2C19, or CYP2C8.							

ACN: Acetonitrile; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

2.6.5.12.E. CYP 分子種に対するキザルチニブ及び AC886 の時間依存的阻害作用（追加試験）

				Test Article: Quizartinib dihydrochloride and AC886 dihydrochloride
Attachment Number		**4.2.2.6-7**		
Type of Study		**CYP Inhibition**		
Study System (concentration)		**Human Liver Microsomes † (0.1 mg/mL during pre-incubation)**		
Assay		**LC-MS/MS, LC-RI**		
Analyte		**Metabolites of probe substrates**		
Concentration		**Quizartinib (10 µM for CYP3A, 1 µM for other CYP isoforms), AC886 (1 µM)**		
CYP isoform	**Probe substrate**	**Preincubation (min)**	**Quizartinib[3)]**	**AC886[4)]**
CYP1A2	Phenacetin	0	98.0	99.8
		30	100.2	98.8
CYP2B6	Bupropion	0	83.1	85.3
		30	74.4	78.1
CYP2C8	Paclitaxel	0	98.6	101.0
		30	97.9	94.1
CYP2C9	Diclofenac	0	99.4	100.6
		30	100.5	99.7
CYP2C19	(S)-(+)-Mephenytoin	0	91.4	89.6
		30	91.0	93.9
CYP2D6	(±)-Bufuralol	0	101.1	96.1
		30	99.0	100.6
CYP3A[1)]	Midazolam	0	141.1	98.3
		30	108.5	94.3
CYP3A[2)]	[4-^{14}C]Testosterone	0	79.5	97.0
		30	71.3	83.5

LC-MS/MS; Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-RI: Liquid chlomatography-Radioactivity detection.
Data are expressed as residual enzyme activity (%) compared to the control.
† Pooled male and female human liver microsomes.
1) Midazolam 1'-hydroxylation activity, 2) Testosterone 6β-hydroxylation activity. 3) Tested at 10 µM for CYP3A and at 1 µM for other CYP isoforms, 4) Tested at 1 µM.

2.6.5.12.F. キザルチニブの CYP 誘導作用

					Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.6-8**				
Type of Study	**CYP Induction**				
Study System	**Cultured Human Hepatocytes†**				
Assay	**qRT-PCR**				
Analyte	**CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 mRNA**				
Concentration	**Quizartinib: 1, 3, 10 µM**				
	mRNA Fold Change‡				
CYP isoforms	**Compound**	**Concentration (µM)**	**Donor 1**	**Donor 2**	**Donor 3**
CYP1A2	0.1% DMSO		1.00	1.00	1.00§
	Quizartinib	1	1.51	1.40	0.953
		3	1.53	0.979	0.951
		10	2.12	1.30	1.66
	Flumazenil	25	1.44	1.19	1.04§
	Omeprazole	50	94.2	54.1	31.2
CYP2B6	0.1% DMSO		1.00	1.00	1.00
	Quizartinib	1	0.724	0.889	0.875
		3	0.423	0.558	0.405§
		10	0.358	0.534	1.07
	Flumazenil	25	0.802	0.882	1.19
	Phenobarbital	750	61.7	8.23	19.0
CYP3A4	0.1% DMSO		1.00	1.00	1.00
	Quizartinib	1	0.597	1.29	0.935
		3	0.381	0.628	0.745
		10	0.281	0.658	0.859
	Flumazenil	25	0.853	0.898	0.664
	Rifampin	20	84.2	4.14	6.64

Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Additional information: Flumazenil: negative control, Omeprazole: positive control for CYP1A2, Phenobarbital: positive control for CYP2B6, Rifampin: positive control for CYP3A4.

DMSO: Dimethylsulfoxide; qRT-PCR: Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction.
† Freshly isolated human hepatocytes.
‡ Fold change values are relative to vehicle control, normalized to GAPDH. Individual fold increase culture values are the mean of triplicate determinations unless otherwise indicated.
§ n = 2.

2.6.5.12.G. キザルチニブ及び AC886 とシタラビンの間の in vitro 薬物相互作用試験

			Test Article: Quizartinib dihydrochloride and AC886 dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.6-13**		
Type of Study	**Inhibition of cytarabine metabolism**		
Study System	**In vitro**		
Test System	**Human Liver S9**		
Subastrate	**Inhibitor**	**Inhibitor Concentration (μM)**	**% Metabolite Formation**
Cytarabine (50 μM)	Quizartinib	0.1	97.5
		0.3	96.4
		1	101.8
		3	94.7
		10	95.7
		30	98.8
	AC886	0.1	99.3
		0.3	99.9
		1	98.9
		3	98.2
		10	94.9
		30	95.0
Additional information: Formation of uracil 1-β-D-arabinofuranoside (ara-U) was monitored. Gemcitabine, a positive control inhibitor of cytarabine metabolism by cytidine deaminase, inhibited ara-U formation with IC_{50} of 914 μM.			

2.6.5.12.H. キザルチニブ及び AC886 とトランスポーターとの相互作用

						Test Article: Quizartinib dihydrochloride and AC886 dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.6-9**					
Type of Study	**Inhibition of Transporters**					
Study System	**In vitro**					
Test System	MDCK-II cells expressing human solute carrier (SLC) transporters or MDR1, MDCK-II control cells transfected with control vector (GFP), Sf9 insect cell vesicles expressing BSEP					
	Inhibition of OAT1-, OAT3-, OCT1-, OCT2-, OATP1B1-, OATP1B3-, MATE1, MATE2-K-mediated transport by Quizartinib and AC886					
Transporter	**Test condition**	**Cellular Accumulation (transporter) (pmol/min/cm^2)**	**Cellular Accumulation (control) (pmol/min/cm^2)**	**Net Transporter-mediated Cellular Accumulation (pmol/min/cm^2)**	**Inhibition (%)**	**P-Value**
OAT1	Vehicle (0.5% DMSO)	3.44 ± 0.118	0.0202 ± 0.0198	3.42 ± 0.118	-	-
	100 µM Probenecid	0.522 ± 0.126	0.0220 ± 0.0157	0.500 ± 0.126	85.4 ± 3.69	-
	10 µM Quizartinib	3.66 ± 0.212	0.0106 ± 0.0052	3.65 ± 0.212	−6.92 ± 6.20	0.0185
	10 µM AC886	3.46 ± 0.106	0.0227 ± 0.0215	3.43 ± 0.106	−0.530 ± 3.10	>0.05
OAT3	Vehicle (0.5% DMSO)	0.749 ± 0.0969	0.157 ± 0.0160	0.593 ± 0.0969	-	-
	100 µM Probenecid	0.149 ± 0.0053	0.167 ± 0.00801	−0.0183 ± 0.0053	103 ± 0.898	-
	10 µM Quizartinib	0.708 ± 0.0196	0.147 ± 0.0328	0.561 ± 0.0196	5.41 ± 3.31	>0.05
	10 µM AC886	0.768 ± 0.0374	0.167 ± 0.0124	0.601 ± 0.0374	−1.38 ± 6.31	>0.05
OCT1	Vehicle (0.5% DMSO)	11.4 ± 0.586	0.557 ± 0.0312	10.8 ± 0.586	-	-
	1000 µM Quinidine	1.42 ± 0.120	0.546 ± 0.0827	0.873 ± 0.120	91.9 ± 1.11	-
	10 µM Quizartinib	14.0 ± 0.988	0.579 ± 0.1080	13.4 ± 0.988	−23.5 ± 9.11	>0.05
	10 µM AC886	12.0 ± 0.112	0.463 ± 0.0642	11.5 ± 0.112	−6.05 ± 1.04	>0.05
OCT2	Vehicle (0.5% DMSO)	15.2 ± 0.865	0.398 ± 0.161	14.8 ± 0.865	-	-
	1000 µM Quinidine	1.53 ± 0.224	1.27 ± 0.0934	0.261 ± 0.224	98.2 ± 1.51	-
	10 µM Quizartinib	14.0 ± 0.271	0.326 ± 0.0713	13.7 ± 0.271	7.55 ± 1.80	>0.05
	10 µM AC886	12.9 ± 0.363	0.381 ± 0.0148	12.5 ± 0.363	15.7 ± 2.45	0.0126
OATP1B1	Vehicle (0.5% DMSO)	2.36 ± 0.349	0.123 ± 0.0160	2.23 ± 0.349	-	-
	100 µM Rifampicin	0.138 ± 0.0254	0.127 ± 0.0314	0.0118 ± 0.0254	99.5 ± 1.14	-
	10 µM Quizartinib	2.60 ± 0.296	0.109 ± 0.0186	2.49 ± 0.296	−11.6 ± 13.2	>0.05
	10 µM AC886	2.08 ± 0.331	0.105 ± 0.0079	1.97 ± 0.331	11.7 ± 14.8	>0.05
OATP1B3	Vehicle (0.5% DMSO)	1.95 ± 0.210	0.0483 ± NA	1.91 ± 0.210	-	-

						Test Article: Quizartinib dihydrochloride and AC886 dihydrochloride
Attachment Number	4.2.2.6-9					
	100 µM Rifampicin	0.0796 ± 0.0168	0.0448 ± 0.0259	0.0348 ± 0.0168	98.2 ± 0.879	-
	10 µM Quizartinib	1.86 ± 0.116	0.0321 ± NA	1.82 ± 0.116	4.26 ± 6.11	>0.05
	10 µM AC886	1.40 ± 0.398	0.0469 ± 0.0226	1.35 ± 0.398	29.2 ± 20.9	>0.05
MATE1	Vehicle (0.5% DMSO)	19.6 ± 3.35	0.261 ± 0.0409	19.3 ± 3.35	-	-
	10 µM Cimetidine	1.37 ± 0.145	0.271 ± 0.0352	1.10 ± 0.145	94.3 ± 0.748	-
	10 µM Quizartinib	17.4 ± 0.814	0.182 ± 0.0365	17.2 ± 0.814	10.9 ± 4.21	0.0168
	10 µM AC886	10.6 ± 0.507	0.255 ± 0.0618	10.3 ± 0.507	46.5 ± 2.63	0.0101
MATE2-K	Vehicle (0.5% DMSO)	3.92 ± 0.571	0.247 ± 0.0237	3.68 ± 0.571	-	-
	10 µM Cimetidine	1.16 ± 0.0765	0.265 ± 0.0289	0.897 ± 0.0765	75.6 ± 2.08	-
	10 µM Quizartinib	2.55 ± 0.0714	0.186 ± 0.0436	2.37 ± 0.0714	35.7 ± 1.94	>0.05
	10 µM AC886	0.901 ± 0.0731	0.206 ± 0.0363	0.695 ± 0.0731	81.1 ± 1.99	0.0009

	Inhibition of P-glycoprotein- and BCRP-mediated Transport by Quizartinib and AC886						
Transporter	**Test conditions**	**Papp Bl-to-Ap ($\times10^{-6}$ cm/s)**	**Papp Ap-to-Bl ($\times10^{-6}$ cm/s)**	**Mean Net Bl-to-Ap Flux**	**Efflux ratio (PappBl-to-Ap)/(PappAp-to-Bl)**	**Inhibition (%)**	**P-value**
BCRP	Vehicle (0.5% DMSO)	40.3 ± 4.28	4.42 ± 0.812	0.180 ± 0.0215	9.12 ± 0.969	-	-
	10 µM Ko143	30.9 ± 3.08	16.6 ± 2.78	0.0718 ± 0.0155	1.86 ± 0.186	60.2 ± 8.59	-
	10 µM Quizartinib	41.8 ± 2.42	4.59 ± 1.08	0.187 ± 0.0122	9.10 ± 0.53	−3.78 ± 6.75	>0.05
	10 µM AC886	34.1 ± 2.69	8.64 ± 2.67	0.128 ± 0.0135	3.94 ± 0.31	29.1 ±7 .51	0.0233
P-glycoprotein	Vehicle (0.5% DMSO)	79.2 ± 5.08	1.45 ± NA	0.417 ± 0.0272	54.6 ± 3.50	-	-
	1 µM Elaclidar	30.6 ± 1.44	8.61 ± 1.13	0.118 ± 0.00769	3.55 ± 0.167	71.8 ± 1.85	-
	10 µM Quizartinib	77.8 ± 5.11	2.27 ± 1.22	0.405 ± 0.0274	34.3 ± 2.25	2.86 ± 6.57	>0.05
	10 µM AC886	76.2 ± 7.62	1.88 ± 0.351	0.398 ± 0.0408	40.7 ± 4.06	4.39 ± 9.80	>0.05

						Test Article: Quizartinib dihydrochloride and AC886 dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.6-9**					
	Inhibition of BSEP-mediated Transport by Quizartinib and AC886					
	Test conditions	**Vesicular Accumulation (ATP) (pmol/min/mg protein)**	**Vesicular Accumulation (AMP) (pmol/min/mg protein)**	**Net Transporter-mediated Vesicular Accumulation (pmol/min/mg protein)**	**Inhibition (%)**	**P-value**
BSEP	Vehicle (0.5% DMSO)	15.8 ± 1.08	2.43 ± 0.496	13.4 ± 1.08	-	-
	100 μM Rifampicin	2.00 ± 0.106	1.62 ± 0.321	0.377 ± 0.106	97.2 ± 0.788	-
	10 μM Quizartinib	3.90 ± 0.220	1.77 ± 0.0702	2.13 ± 0.220	84.2 ± 1.64	<0.0001
	Vehicle (0.5% DMSO)	22.5 ± 1.44	3.60 ± 0.0662	18.9 ± 1.44	-	-
	100 μM Rifampicin	3.17 ± NA	2.55 ± 0.162	0.621 ± NA	96.7 ± NA	-
	10 μM AC886	19.7 ± 0.859	3.30 ± 0.381	16.4 ± 0.859	13.2 ± 4.54	>0.05
Additional information: The IC_{50} value of quizartinib for BSEP inhibition is 4.92 μM. AC886 was further investigated in the concentration range of 0.032 to 10 μM against the transport mediated by MATE2-K. However, due to lack of sufficient inhibition (42.2% at 10 μM).						

Probe substrate for each transporter was 2 μM MPP+ (OCT1), 10 μM metformin (OCT2), 2 μM p-aminohippurate (OAT1), 10 μM p-aminohippurate (OAT3), 2 μM estradiol-17β-D-glucuronide (OATP1B1), 2 μM CCK-8 (OATP1B3), 10 μM metformin (MATE1 and MATE2-K), 100 nM prazosin (BCRP), 100 nM quinidine (P-glycoprotein), 1 μM taurocholate (BSEP).
Ap: Apical; Bl: Basolateral; MDCK: Madin Darby canine kidney; MDR1; Multidrug resistance 1; Papp: Apparent permeability coefficient; NA: Not applicable.
Mean ± SD of triplicate.

2.6.5.12.I. キザルチニブ及び AC886 とトランスポーターとの相互作用

					Test Article: Quizartinib dihydrochloride and AC886 dihydrochloride
Attachment Number			**4.2.2.6-10**		
Type of Study			**Inhibition of BCRP and P-glycoprotein**		
Study System			**In vitro**		
Test System	The inhibition of P-gp and BCRP mediated transport by quizartinib and were calculated based on the efflux ratio using the data from the study OPT-2015-005 and 039. MDCKII cells expressing human BCRP or P-gp.				
	Inhibition of P-glycoprotein- and BCRP-mediated Transport by Quizartinib and AC886 based on the efflux ratio				
Transporter	**Test conditions[a]**	**Papp Bl-to-Ap[a] ($\times10^{-6}$ cm/s)**	**Papp Ap-to-Bl[a] ($\times10^{-6}$ cm/s)**	**Efflux ratio (Papp Bl-to-Ap)/(Papp Ap-to-Bl)[a]**	**Inhibition (%)**
BCRP	Vehicle (0.5% DMSO)	40.3 ± 4.28	4.42 ± 0.812	9.12 ± 0.969	-
	10 µM Ko143	30.9 ± 3.08	16.6 ± 2.78	1.86 ± 0.186	89.4
	10 µM Quizartinib	41.8 ± 2.42	4.59 ± 1.08	9.10 ± 0.53	0.2
	10 µM AC886	34.1 ± 2.69	8.64 ± 2.67	3.94 ± 0.31	63.8
P-glycoprotein	Vehicle (0.5% DMSO)	79.2 ± 5.08	1.45 ± NA	54.6 ± 3.50	-
	1 µM Elaclidar	30.6 ± 1.44	8.61 ± 1.13	3.55 ± 0.167	95.2
	10 µM Quizartinib	77.8 ± 5.11	2.27 ± 1.22	34.3 ± 2.25	37.9
	10 µM AC886	76.2 ± 7.62	1.88 ± 0.351	40.7 ± 4.06	25.9

[a]Values are reported in the study OPT-2015-005 and 039.
Probe substrate for each transporter was 100 nM prazosin (BCRP) and 100 nM quinidine (P-glycoprotein).

Ap: Apical; Bl: Basolateral; MDCK: Madin Darby canine kidney; MDR1: Multidrug resistance 1; Papp: Apparent permeability coefficient; NA: not applicable.

2.6.5.12.J. キザルチニブの P 糖タンパクとの相互作用

						Test Article: Quizartinib dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.6-11**					
Type of Study	**Inhibition of P-glycoprotein**					
Study System	**In vitro**					
Test System	**MDCKII-MDR1 Cells**					
	P-glycoprotein-mediated Digoxin Transport Across Cell Monolayers					
Subastrate	**Inhibitor**	**Inhibitor Concentration (μM)**	**Papp (Ap to Bl) (× 10^{-6} cm/s)**	**Papp (Bl to Ap) (× 10^{-6} cm/s)**	**Papp ratio**	**P_1/P_0**
Digoxin (1 μM)	-	-	0.55 ± 0.03	15.48 ± 0.59	28.0	-
	(±)-Verapamil	200	2.46 ± 0.16	3.49 ± 0.15	1.4	-
	Quizartinib	1.00	-	12.81 ± 0.90	-	0.777
		3.00	-	11.43 ± 0.62	-	0.662
		10.0	-	9.54 ± 0.91	-	0.505
		20.0	-	8.69 ± 0.52	-	0.434
		30.0	-	6.30 ± 0.14	-	0.235
		50.0	-	5.66 ± 0.26	-	0.181
		100†	0.90 ± 0.13	5.35 ± 0.07	5.9	0.155
Additional information: IC_{50} value of quizartinib for Bl-to-Ap transport of digoxin (1.00 μM) is 9.55 μM.						

Ap: Apical; Bl: Basolateral; MDCK: Madin Darby canine kidney; MDR1; Multidrug resistance 1; Papp: Apparent permeability coefficient.
The Papp values are presented as the mean ± SD (n = 3).
† Some insoluble substances were observed in the presence of quizartinib at the concentration of 100 μM.

2.6.5.12.K. AC886 の P 糖タンパクとの相互作用

						Test Article: AC886 dihydrochloride
Attachment Number	**4.2.2.6-12**					
Type of Study	**Inhibition of P-glycoprotein**					
Study System	**In vitro**					
Test System	**MDCKII-MDR1 Cells**					
	P-glycoprotein-mediated Digoxin Transport Across Cell Monolayers					
Subastrate	**Inhibitor**	**Inhibitor Concentration (μM)**	**Papp (Ap to Bl) ($\times 10^{-6}$ cm/s)**	**Papp (Bl to Ap) ($\times 10^{-6}$ cm/s)**	**Papp ratio**	**P_1/P_0**
Digoxin (1 μM)	-	-	0.63 ± 0.05	16.60 ± 0.79	26.4	-
	(±)-Verapamil	200	2.77 ± 0.06	3.69 ± 0.16	1.3	-
	AC886	1.00	-	13.70 ± 0.49	-	0.776
		3.00	-	14.53 ± 0.90	-	0.840
		10.0	-	15.06 ± 1.71	-	0.881
		20.0	-	15.62 ± 1.32	-	0.924
		30.0	-	12.40 ± 0.80	-	0.675
		50.0†	-	11.86 ± 0.91	-	0.633
		100†	0.64 ± 0.10	12.41 ± 0.46	19.4	0.676
Additional information: The maximal reduction in P_{app} values in the presence of AC886 at any concentration was less than 30% relative to the control group (IC_{50} > 30μM). AC886 is a poor or non-inhibitor for P-glycoprotein-mediated transport activity.						

IC_{50}: 50% inhibitory concentration; MDCK: Madin Darby canine kidney; MDR1: Multidrug resistance 1; Papp: Apparent permeability coefficient.
†Some insoluble substances were observed in the presence of AC886 at the concentrations of 50 and 100 μM.

2.6.5.13. 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.A. ラットでの［^{14}C］キザルチニブのマスバランス試験

Test Article: [^{14}C]Quizartinib dihydrochloride								
Attachment number	**4.2.2.3-1**							
Species	**Rat/Sprague-Dawley**							
Gender (M/F)/Number of Animals	**M/4, F/4**							
Feeding condition	**Fasted**							
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**							
Method of Administration	**Oral (gavage)**							
Dose (mg/kg)	**30**							
Analyte	**Total radioactivity (^{14}C)**							
Assay	**Liquid Scintillation Counting**							
Percentage recovery	**Mean (SD) Percentage of Administered Dose**							
Excretion route	**Feces**		**Urine**		**Cage wash**		**Total†**	
Time (h)	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**
6	NS ‡	NS ‡	0.20 (0.01)	0.16 (0.06)	0.05 (0.02)	0.05 (0.02)	0.25	0.22
12	10.65 (11.24)	0.17 (0.32)	0.26 (0.24)	0.32 (0.13)	1.09 (0.84)	0.10 (0.02)	12.25	0.80
24	51.95 (10.70)	37.29 (9.11)	0.64 (0.21)	0.53 (0.16)	0.20 (0.12)	0.16 (0.05)	65.03	38.78
48	23.11 (1.02)	43.62 (8.96)	0.31 (0.03)	0.53 (0.11)	0.08 (0.05)	0.07 (0.04)	88.53	83.00
72	3.63 (0.75)	8.15 (2.19)	0.07 (0.02)	0.10 (0.03)	0.40 (0.45)	0.36 (0.60)	92.63	91.61
96	0.50 (0.12)	1.74 (1.10)	0.05 (0.03)	0.03 (0.02)	0.38 (0.71)	0.09 (0.13)	93.55	93.47
120	0.12 (0.05)	1.90 (2.04)	0.01 (0.01)	0.01 (0.01)	0.13 (0.15)	0.01 (0.02)	93.81	95.38
144	0.06 (0.02)	0.06 (0.01)	<0.005 (<0.005)	ND (NA)	0.06 (0.06)	<0.005 (<0.005)	93.94	95.45
168	<0.005 (<0.005)	0.04 (0.02)	<0.005 (0.01)	ND (NA)	0.06 (0.06)	ND (NA)	94.00	95.48
Total §	90.03 (5.67)	92.96 (7.29)	1.53 (0.24)	1.68 (0.31)	2.45 (1.80)	0.84 (0.80)	94.00	95.48
Additional information: Non-detected values were calculated as 0.								

HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; NA: Not applicable; NS: Not sampled; ND: Not detected (below limit of detection).
† Cumulative recovery of the administered dose in urine, feces and cage wash.
‡ No sample; feces collection began at 12 h.
§ Cumulative recovery of the administered dose at 168 h.

2.6.5.13.B. イヌでの［^{14}C］キザルチニブのマスバランス試験

Test Article: [^{14}C]Quizartinib dihydrochloride								
Attachment number	**4.2.2.4-10**							
Species	**Dog/Beagle**							
Gender (M/F)/Number of Animals	**M/2, F/2**							
Feeding Condition	**Fasted**							
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**							
Method of Administration	**Oral (gavage)**							
Dose (mg/kg)	**10**							
Analyte	**Total radioactivity (^{14}C)**							
Assay	**Liquid scintillation counting**							
	Mean Percentage of Administered Dose							
Excretion route	**Feces**		**Urine**		**Cage wash**		**Total †**	
Time (h)	**M/2**	**F/2**	**M/2**	**F/2**	**M/2**	**F/2**	**M/2**	**F/2**
6	0.01	0.07	<0.005	0.03	<0.005	0.01	0.01	0.12
12	0.01	1.34	0.13	0.15	0.01	0.04	0.16	1.64
24	21.10	45.09	0.15	0.18	0.18	0.71	21.59	47.63
48	60.02	24.86	0.12	0.16	0.34	0.19	82.07	72.84
72	7.94	8.23	0.07	0.10	0.06	0.10	90.14	81.27
96	1.39	3.34	0.04	0.04	0.02	0.04	91.59	84.70
120	0.61	2.18	0.01	0.01	0.01	0.03	92.22	86.92
144	0.22	1.28	0.01	0.01	0.03	0.01	92.47	88.22
168	0.57	0.87	0.01	0.01	0.10	0.13	93.15	89.23
Total ‡	91.86	87.26	0.52	0.70	0.76	1.26	93.15	89.23
Additional information: Non-detected values were calculated as 0.								

HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin.
† Cumulative recovery of the administered dose in urine, feces and cage wash.
‡ Cumulative recovery of the administered dose at 168 h.

2.6.5.14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中

Test Article: Quizartinib dihydrochloride						
Attachment number	**4.2.2.4-8**					
Species	**Rat/Sprague-Dawley**					
Gender (M/F)/Number of animals	**M/3**					
Feeding condition	**Overnight fast; food pellet (1.9 g) 5 h pre-dose**					
Vehicle/Formulation	**5% HPβCD**					
Method of administration	**Oral (gavage)**					
Dose (mg/kg)	**30**					
Analyte	**Quizartinib**			**AC886**		
Assay	**LC-MS/MS**			**LC-MS/MS**		
Excretion route	**Mass Excreted in Bile (µg)**			**Mass Excreted in Bile (µg)**		
Time (h)	**Animal 1**	**Animal 2**	**Animal 4**	**Animal 1**	**Animal 2**	**Animal 4**
0 – 2	21.95	10.20	6.05	11.43	2.40	1.31
2 – 4	45.65	33.24	13.32	22.10	12.38	5.07
4 – 6	27.65	49.52	3.12	18.61	24.67	1.48
6 – 12	64.27	204.00	82.03	43.95	90.60	46.56
12 – 24	49.54	293.08	234.55	42.63	184.68	174.79
24 – 32	45.91	95.44	142.63	45.66	69.72	105.15
32 – 40	31.66	45.58	164.05	23.14	37.59	79.03
40 – 48	23.35	NA	58.62	13.58	NA	43.59
Total Mass Excreted	309.98	731.06	704.38	221.10	422.05	456.98
% AD	3.51	7.89	6.73	2.51	4.55	4.36
% AD (Quizartinib + AC886)	6.02	12.44	11.09	NA		

Test Article: Quizartinib dihydrochloride							
Analyte			**Quizartinib**		**AC886**		**Quizartinib + AC886**
Mean % AD			6.04		3.81		9.85
Plasma Pharmacokinetic Parameters							
Surgery	**Compound**		**Cmax (µM)**	**Tmax (h)**	**AUCall (µM·h)**	**AUCinf (µM·h)**	**$T_{1/2}$ (h)**
JVC	Quizartinib	Mean	5.75	5.333	112.54	114.24	6.5
		SD	1.59	1.155	23.43	23.57	0.4
		CV %	27.7	21.7	20.8	20.6	5.6
JVC	AC886	Mean	1.48	6	29.27	30.20	8.5
		SD	0.07	0	4.30	4.31	1.5
		CV %	4.8	0	14.7	14.3	17.6
JVC/BDC	Quizartinib	Mean	6.42	4	151.11	164.41	11.8
		SD	1.70	2	42.66	43.55	2.0
		CV %	26.5	50	28.2	26.5	16.9
JVC/BDC	AC886	Mean	1.58	4.667	39.52	44.17	13.5
		SD	0.22	1.155	10.12	12.67	3.3
		CV %	13.8	24.7	25.6	28.7	24.7

Additional information:
Plasma sampling times: predose, 2, 4, 6, 12, 24, 32, 40 and 48 h post-dose. Plasma PK parameters were calculated using noncompartmental model with the linear trapezoidal estimation method and floating time points using WinNonlin v5.2.

% AD: Percentage of administered dose; CV %: Coefficient of variation; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; JVC: Jugular vein catheterized; JVC/BDC: Jugular vein catheterized and bile duct catheterized; LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA: Not applicable.

2.6.5.15. 薬物動態試験：薬物相互作用

該当する試験は実施していない。

2.6.5.16. 薬物動態試験：その他

該当する試験は実施していない。