ロズリートレクカプセル100 mg
ロズリートレクカプセル200 mg
（エヌトレクチニブ）

第2部　（モジュール2）：CTD の概要（サマリー）

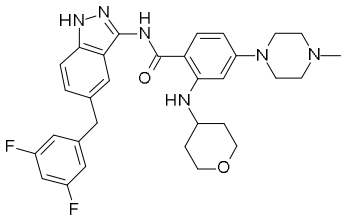
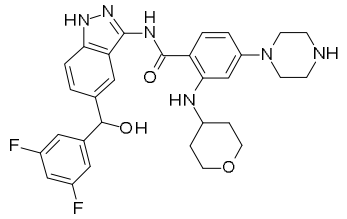
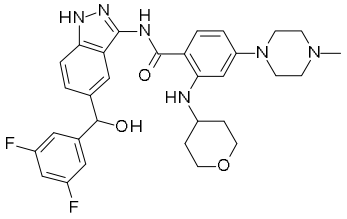
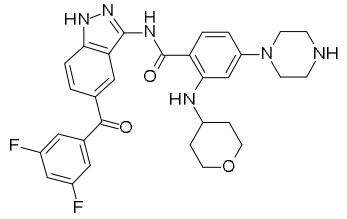
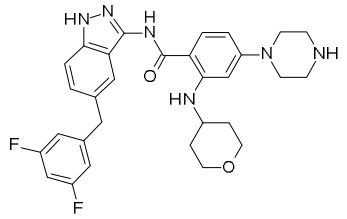
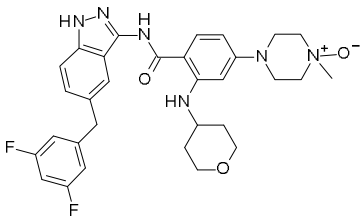
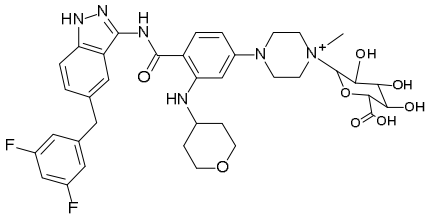
2.6.4 薬物動態試験の概要文

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours	0から24時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積
AUC_{inf}	area under the plasma concentration–time curve from time zero to extrapolated infinity	0から無限時間までを外挿した血漿中濃度–時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the plasma concentration–time curve from 0 to the last measurable time point	0から最終濃度確認時点までの血漿中濃度–時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
BSEP	bile salt export protein	胆汁酸塩排出ポンプ
CL	total clearance	全身クリアランス
C_{max}	maximum (peak) plasma concentration	最高血漿中薬物濃度
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
eq	equivalent of [^{14}C]entrectinib	[^{14}C]エヌトレクチニブ当量
F	bioavailability	バイオアベイラビリティ
fu	unbound fraction	非結合型分率
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
IC_{50}	half maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
IV	intravenous	静脈内
LC-MS/MS	liquid chromatography–tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム型質量分析
LSC	liquid scintillation counter	液体シンチレーションカウンター
MATE	multidrug and toxin extrusion	—
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
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白
PK	pharmacokinetics	薬物動態
PND	postnatal day	出生後 x 日
QWBA	quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中薬物濃度到達時間
UGT	UDP-Glucuronosyltransferase	UDP–グルクロノシルトランスフェラーゼ
V_{ss}	volume of distribution at steady-state	定常状態における分布容積

Entrecinib 関連物質の名称一覧

名称	化学構造式	化学名
エヌトレクチニブ (RO7102122; MW: 560.64 Da)		*N*-[5-(3,5-difluorobenzyl)-1*H*-indazol-3-yl]-4-(4-methylpiperazin-1-yl)-2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-ylamino) benzamide
M1 (MW: 562.61 Da)		N-[5-[(3,5-difluorophenyl)-hydroxy-methyl]-1H-indazol-3-yl]-4-piperazin-1-yl-2-(tetrahydropyran-4-ylamino) benzamide
M2 (MW: 576.64 Da)		N-[5-[(3,5-difluorophenyl)-hydroxy-methyl]-1H-indazol-3-yl]-4-(4-methylpiperazin-1-yl)-2-(tetrahydropyran-4-ylamino) benzamide
M3 (MW: 560.59 Da)		N-[5-(3,5-difluorobenzoyl)-1H-indazol-3-yl]-4-piperazin-1-yl-2-(tetrahydropyran-4-ylamino) benzamide
M5 (RO7278378; MW: 546.62 Da)		N-[5-[(3,5-difluorophenyl)methyl]-1H-indazol-3-yl]-4-piperazin-1-yl-2-(tetrahydropyran-4-ylamino) benzamide
M7 (MW: 576.64 Da)		N-[5-[(3,5-difluorophenyl)methyl]-1H-indazol-3-yl]-4-(4-methyl-4-oxido-piperazin-4-ium-1-yl)-2-(tetrahydropyran-4-ylamino) benzamide
M11 (RO7293615; MW: 737.77 Da)		rac-(2S,3S,4S,5R,6R)-6-[4-[4-[[5-[(3,5-difluorophenyl)methyl]-1H-indazol-3-yl]carbamoyl]-3-(tetrahydropyran-4-ylamino) phenyl]-1-methyl-piperazin-1-ium-1-yl]-3,4,5-trihydroxy-tetrahydropyran-2-carboxylic acid

目次

頁
2.6.4 薬物動態試験の概要文 8
2.6.4.1 まとめ 8
2.6.4.1.1 吸収 8
2.6.4.1.2 分布 8
2.6.4.1.3 代謝 9
2.6.4.1.4 排泄 9
2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用 9
2.6.4.2 分析法 9
2.6.4.2.1 非放射性被験物質 9
2.6.4.2.2 放射性被験物質 10
2.6.4.3 吸収 11
2.6.4.3.1 膜透過性 11
2.6.4.3.2 単回投与試験 11
2.6.4.3.3 反復投与試験 16
2.6.4.4 分布 26
2.6.4.4.1 *in vitro* 蛋白結合 26
2.6.4.4.2 *in vitro* 血球移行性 27
2.6.4.4.3 *in vivo* 血球移行性 27
2.6.4.4.4 組織分布 27
2.6.4.4.5 脳への移行性 29
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） 32
2.6.4.5.1 肝細胞における *in vitro* 代謝プロファイル 32
2.6.4.5.2 肝ミクロソームにおける *in vitro* 代謝プロファイル 33
2.6.4.5.3 発現系ヒト CYP における代謝関与酵素 (*in vitro*) 34
2.6.4.5.4 発現系ヒト UGT における代謝関与酵素 (*in vitro*) 34
2.6.4.5.5 ラットにおける *in vivo* 代謝物プロファイル 34
2.6.4.5.6 イヌにおける *in vivo* 代謝物プロファイル 35
2.6.4.5.7 ヒトにおける *in vivo* 代謝物プロファイル 36
2.6.4.6 排泄 37
2.6.4.6.1 ラット単回投与後の尿糞中排泄 37
2.6.4.6.2 イヌ単回投与後の尿糞中排泄 37
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 38
2.6.4.7.1 ヒト CYP 酵素に対するエヌトレクチニブ の *in vitro* 阻害能 38
2.6.4.7.2 ヒト CYP 酵素に対する M5 の *in vitro* 阻害能 38
2.6.4.7.3 ヒト CYP 酵素に対するエヌトレクチニブ の *in vitro* 誘導能 39

2.6.4.7.4 ヒト CYP 酵素に対する M5 の *in vitro* 誘導能 40
2.6.4.7.5 トランスポーターを介した *in vitro* 輸送 41
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 44
2.6.4.8.1 結晶多形 44
2.6.4.8.2 食餌の影響 44
2.6.4.9 考察及び結論 45
2.6.4.10 図表 47
2.6.4.11 参考文献 47

図一覧

図 2.6.4.2.2-1 [^{14}C]エヌトレクチニブの標識位置 11
図 2.6.4.5-1 エヌトレクチニブの推定代謝経路 32

表一覧

表 2.6.4.2.1-1 測定法バリデーション結果 10
表 2.6.4.3.1-1 Caco-2 単層膜透過性 11
表 2.6.4.3.2-1 雄マウスに単回静脈内及び経口投与時の本薬 PK パラメータ 12
表 2.6.4.3.2-2 雌雄ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブ単回経口及び静脈内投与後の 放射能, 本薬及び M5 の PK パラメータ 13
表 2.6.4.3.2-3 雌雄ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブ単回経口及び静脈内投与後の 放射能, 本薬及び M5 の PK パラメータ比(雌雄平均) 13
表 2.6.4.3.2-4 雄ラットに単回静脈内及び経口投与時の本薬 PK パラメータ 14
表 2.6.4.3.2-5 雄イヌに[^{14}C]エヌトレクチニブ単回経口及び静脈内投与後の 放射能，本薬及び M5 の PK パラメータ 15
表 2.6.4.3.2-6 雄イヌに[^{14}C]エヌトレクチニブ単回経口及び静脈内投与後の 放射能，本薬及び M5 の PK パラメータ比(平均) 15
表 2.6.4.3.2-7 雄イヌに単回静脈内及び経口投与時の本薬 PK パラメータ 16
表 2.6.4.3.3-1 雄 Nu/Nu マウスに 5 日間連日経口投与後の PK パラメータ 16
表 2.6.4.3.3-2 雌 CD-1 マウスに 2 週間連日経口投与した際の TK パラメータ 17
表 2.6.4.3.3-3 KM12-Luc 細胞頭蓋内移植マウスモデルに反復経口投与時の 血漿中本薬の PK パラメータ 17
表 2.6.4.3.3-4 KM12-Luc 細胞皮下移植マウスモデルに反復経口投与時の 血漿中本薬の PK パラメータ 18
表 2.6.4.3.3-5 ラットにエヌトレクチニブ 4 週間間欠経口投与時の 血漿中本薬の TK パラ

メータ平均値 19
表 2.6.4.3.3-6 ラットにエヌトレクチニブ 4 週間連日経口投与時の 血漿中本薬及び M5 の TK パラメータ 20
表 2.6.4.3.3-7 ラットにエヌトレクチニブ 13 週間連日経口投与時の 血漿中本薬及び M5 の TK パラメータ 21
表 2.6.4.3.3-8 幼若ラットにエヌトレクチニブ 13 週間連日経口投与時の 血漿中本薬及び M5 の TK パラメータ 22
表 2.6.4.3.3-9 イヌにエヌトレクチニブ 4 週間間欠経口投与時の血漿中本薬の TK パラメータ 23
表 2.6.4.3.3-10 イヌにエヌトレクチニブ 4 週間連日経口投与時の血漿中本薬及び M5 の TK パラメータ 24
表 2.6.4.3.3-11 イヌにエヌトレクチニブ 13 週間連日経口投与時の血漿中本薬及び M5 の TK パラメータ 25
表 2.6.4.4.1-1 ヒト及び動物血漿におけるエヌトレクチニブ及び M5 の非結合型分率(fu) 26
表 2.6.4.4.1-2 ヒト精製血清蛋白におけるエヌトレクチニブの非結合型分率(fu) 26
表 2.6.4.4.1-3 培養液中ヒト肝細胞あるいはヒト肝ミクロソームに対する エヌトレクチニブの非結合型分率(fu) 26
表 2.6.4.4.2-1 ヒト及び動物全血を用いたエヌトレクチニブ及び M5 の血液/血漿分配比 27
表 2.6.4.4.4-1 雄白色ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブを 20 mg/kg の用量で単回経口投与後の 組織中放射能（平均値） 28
表 2.6.4.4.4-2 雄有色ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブを 20 mg/kg の用量で単回経口投与後の 組織中放射能（平均値） 29
表 2.6.4.4.5-1 雄ラットに 20 mg/kg で単回経口投与後の 本薬及び M5 の血漿中及び脳組織中 PK パラメータ平均値 30
表 2.6.4.4.5-2 ラット 4 週間間欠反復経口投与試験における最終投与後 24 時間の 脳組織中及び血漿中本薬濃度 30
表 2.6.4.4.5-3 ラットにエヌトレクチニブを 6 mg/kg 単回静脈内投与 及び続けて 0.032 mg/min/kg で点滴持続静注した際の 本薬及び M5 の血漿中，脳組織中及び CSF 中濃度 31
表 2.6.4.4.5-4 イヌ 4 週間間欠投与試験における最終投与後 24 時間の 血漿中濃度に対する脳組織中本薬濃度比 31
表 2.6.4.5.1-1 動物及びヒト肝細胞を用いたエヌトレクチニブの *in vitro* 代謝プロファイル 33
表 2.6.4.5.1-2 ヒト肝細胞を用いた[^{14}C]エヌトレクチニブの *in vitro* 代謝プロファイル（120 分インキュベーション） 33
表 2.6.4.5.2-1 動物及びヒトミクロソームを用いたエヌトレクチニブの *in vitro* 代謝プロファイル 34
表 2.6.4.5.5-1 ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブを経口又は静脈内投与後の 血漿中及び糞中代謝物プロファイル 35

表 2.6.4.5.6-1 イヌに[^{14}C]エヌトレクチニブを経口又は静脈内投与後の 血漿中及び糞中代謝物プロファイル 36
表 2.6.4.5.7-1 ヒトに[^{14}C]エヌトレクチニブを経口投与後の血漿中代謝物プロファイル 36
表 2.6.4.5.7-2 ヒトに[^{14}C]エヌトレクチニブを経口投与後の尿糞中代謝物プロファイル 37
表 2.6.4.6.2-1 [^{14}C]エヌトレクチニブ投与後のラット及びイヌにおける放射能の尿糞中排泄 37
表 2.6.4.7.1-1 エヌトレクチニブのヒト CYP 酵素に対する阻害能 38
表 2.6.4.7.2-1 M5 のヒト CYP 酵素に対する阻害能 39
表 2.6.4.7.3-1 CYP 酵素の mRNA 及び酵素活性に対するエヌトレクチニブの誘導能 40
表 2.6.4.7.4-1 CYP 酵素の mRNA 及び酵素活性に対する M5 の誘導能 41
表 2.6.4.7.5-1 ヒトトランスポーターに対するエヌトレクチニブ及び M5 の評価 42
表 2.6.4.7.5-2 エヌトレクチニブ及び M5 のマウス及びヒト P-gp 発現細胞透過性 42
表 2.6.4.7.5-3 エヌトレクチニブ及び M5 のヒトトランスポーター阻害に関する 薬物相互作用の評価 43
表 2.6.4.8.1-1 イヌに Form I あるいは Form II 単回経口投与後の PK パラメータ比較 44
表 2.6.4.8.2-1 イヌにエヌトレクチニブ単回経口投与時の食餌の影響 45

添付資料一覧

該当なし

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

エヌトレクチニブ（entrectinib，以下，本薬）の非臨床における吸収，分布，代謝及び排泄試験は，主として非臨床毒性試験で使用した動物種であるラット及びイヌを用い，*in vitro* 及び *in vivo*（経口及び静脈内投与）で評価した。また，一部の試験では，薬効薬理で使用したマウスを用いて薬物動態を評価した。ヒトにおける血漿蛋白結合，代謝及び薬物相互作用は，ヒト由来試料を用いて *in vitro* で評価した。

2.6.4.1.1 吸収

マウス，ラット及びイヌに本薬を単回経口（マウス10及び100 mg/kg，ラット10及び30 mg/kg，イヌ10及び60 mg/kg）及び単回静脈内（各動物種10 mg/kg）投与したときの薬物動態（PK）を評価した。また，ラット及びイヌに[^{14}C]標識した本薬を単回経口（それぞれ20及び10 mg/kg）又は単回静脈内（それぞれ2及び1 mg/kg）投与した際の，血液及び血漿中の放射能，並びに血漿中の本薬及び活性代謝物 M5の PK を評価した。

単回経口投与後，本薬はいずれの動物種においても多くの投与群で投与後3時間前後に最高血漿中薬物濃度（C_{max}）に達し，終末相における消失半減期（$t_{1/2}$）は2～4時間であった。本薬の経口投与後の吸収は比較的良好であり，バイオアベイラビリティ（F）は31～76%の範囲にあった。

本薬10 mg/kg 単回静脈内投与時の全身クリアランス（CL）はマウスで小さく，ラット及びイヌでは中程度であった。定常状態における分布容積（V_{ss}）は体内の水分量よりおよそ5～10倍大きく，本薬の組織移行性が高いことが推察された。$t_{1/2}$平均値はマウス，ラット及びイヌでそれぞれ3.6，3.5及び11.9時間であった。

マウス，ラット及びイヌの反復経口投与において，全身曝露量は概ね用量に比例して増加した。ラット及びイヌにおいて最長で13週間の反復投与により，曝露量の軽度な上昇（多くの投与群で約2倍以内）がみられた。また，ラットでの本薬の曝露量は，雌のほうが雄よりも2倍以内の高値を示したが，イヌでは本薬の曝露量に明らかな雌雄の違いは認められなかった。反復投与試験において，ヒトで認められる活性代謝物 M5の曝露量は，本薬との血漿中濃度–時間曲線下面積（AUC）比でマウスでは約0.1，ラットでは0.13以下，イヌでは1～3であり，イヌではげっ歯類に比べ血漿中 M5の存在比率が高かった。

幼若ラットに出生後7日（PND 7）から出生後97日（PND 97）まで反復経口投与した際，PND 7の全身曝露量は概ね用量に比例し，性差は認められなかった。しかし，PND 97ではPND 7に比べ曝露量の低下が認められ，成熟ラットと同様な性差も認められた。M5の本薬に対する AUC 比は成熟ラットと同程度であった。

2.6.4.1.2 分布

ヒト血漿を用いた *in vitro* 血漿蛋白結合試験において，本薬及び M5の非結合型分率（fu）は濃度によらず1%未満であり，動物血漿においてもほぼ同様な値を示した。

雄の白色又は有色ラットに [^{14}C]エヌトレクチニブを20 mg/kg の用量で単回経口投与した定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験では，いずれのラットにおいても放射能は組織に広く分布し，ほとんどの組織では投与後8時間までに最高濃度を示した後，緩やかに低下し，評価した組織の半数程度で投与後72時間まで放射能が認められた。胆汁や尿を除き，高い放射能を示した組織は，肺，肝臓，副腎，腎臓など，また，放射能が低かった組織は骨，精巣，精巣上体，精嚢などであり，両系統のラットの放射能の組織分布パターンは類似していた。しかし，有色ラットのメラニン含有部位，特にブドウ膜は白色ラットに比べて放射能が高く，消失は更に緩徐であった。QWBA では感度が低いため脳組織に放射能が検出されなかったもの

の，本薬を20 mg/kg の用量でラットに単回経口投与した際の脳組織を液体クロマトグラフィータンデム型質量分析（LC-MS/MS）法で測定した場合，本薬の脳組織中曝露量は血漿中曝露量の約20%程度認められた。また，反復経口投与後のマウス，ラット及びイヌから得られた脳組織にも本薬が検出（血漿中濃度との濃度比は0.4～2.2）され，本薬が脳組織に移行することが示唆された。更に，本薬をラットに点滴持続静脈内投与した試験では，点滴開始から6時間では定常状態には達していないものの，その時点で本薬の血漿中に対する脳組織中濃度比は0.6であり，反復投与後と同程度の脳組織への移行性が示唆された。

2.6.4.1.3 代謝

ヒト及び動物の肝細胞あるいは肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験では，エヌトレクチニブは穏やかに代謝され，酸化的代謝物，脱メチル体及び N–グルクロン酸抱合体の生成が確認された。ヒト血漿中の主要代謝物である M5及び M11はそれぞれ本薬の脱メチル体及び N–グルクロン酸抱合体である。他の代謝物はヒト血漿中では少なかった。本薬経口投与後のラット血漿中では，M5及び N–グルクロン酸抱合体である M12が主要な代謝物として検出された。イヌでは M5が主要な代謝物であった。

In vitro 試験より，チトクロム P450（CYP）3A4が本薬の主要代謝酵素であり，M5の生成にも関与していること，また，CYP3A4の他にも多くの CYP 分子種（1A1，1A2，2B6，2C8，2C9，2C19，2D6，2E1及び CYP3A5）が，本薬の代謝に関与していることが示唆された。*In vitro* 試験において，ヒト特異的な N–グルクロン酸抱合体である M11の生成に関与する酵素は UDP–グルクロノシルトランスフェラーゼ（UGT）1A4であることが示唆された。ヒト肝細胞を用いた試験において，M5の固有クリアランスは本薬の約1/2であった。

2.6.4.1.4 排泄

ラット及びイヌに[^{14}C]エヌトレクチニブを単回経口あるいは静脈内投与したとき，投与経路にかかわらず，ほとんどの放射能が糞中に排泄された。このことより，薬物関連物質の体内からの主要消失経路は糞中排泄であり，腎排泄の寄与はいずれの動物種においても小さいことが示唆された。

2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用

ヒト主要 CYP 分子種及びトランスポーターに対する本薬の薬物相互作用を *in vitro* で評価した。

ヒト肝ミクロソームを用いた初期の試験において本薬は CYP3A4，CYP2D6及び CYP2C9を，並びに M5は CYP2C8を阻害する可能性があるが，それ以外の CYP 分子種は阻害しないことが示唆された。しかしヒト肝ミクロソームを用いて再度評価した結果，本薬投与により CYP3A4/5は阻害される可能性があるが，他の CYP 分子種が阻害される可能性は低いことが示唆された。また，本薬が CYP3A4を誘導する可能性があることが示唆された。

本薬は P-糖蛋白（P-gp）の弱い基質であり，M5は P-gp 及び乳癌耐性蛋白（BCRP）の基質であることが示唆された。また，本薬及び M5は P-gp， BCRP，有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1並びに multidrug and toxin extrusion （MATE）1を介する輸送を阻害する可能性が示唆された。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 非放射性被験物質

(1) 分析法

（資料番号4.2.2.1-1～4.2.2.1-7）

ラット及びイヌでのトキシコキネティクス（TK）試験における血漿中濃度測定には，除蛋白後の上清を用い，本薬単独（4.2.2.1-1，4.2.2.1-5）あるいは本薬と代謝物である M5を同時に定量（4.2.2.1-2，4.2.2.1-3，4.2.2.1-6）する LC-MS/MS 法を開発しバリデートして使用した。各動物種の血漿25又は50 μL を用いたときの定量範囲は10～10000 ng/mL であり，日内又は日間再現性の精度及び真度は±15%以内（定量下限は±20%以内）の判定基準を満たした。

マウス，ラット及びイヌでの初期及び各種検討の PK 試験においては，主にバリデートしていない LC-MS/MS 法を用いて，血漿中及び脳組織中濃度を測定した。

血漿中本薬及び M5の保存安定性（−80°C 保存）は，ラットではそれぞれ107及び91日間（4.2.2.1-3，4.2.2.1-4），イヌではそれぞれ119及び327日間（4.2.2.1-6，4.2.2.1-7）まで，また凍結融解安定性は5回まで確認された。

表 2.6.4.2.1-1 測定法バリデーション結果

Species	Analyte	Between-run Accuracy (% bias)	Between-run Precision (% CV)	Location in CTD
Rat	Entrectinib （within-run）	1.0 – 8.0	≤ 15.5	4.2.2.1-1
	Entrectinib	-9.1 – -0.9	≤ 6.5	4.2.2.1-3
	M5	-7.3 – -1.7	≤ 7.3	
	Entrectinib	-4.67 – 2.67	≤ 4.81	4.2.2.1-2
	M5	-3.87 – 2.67	≤ 4.42	
Dog	Entrectinib	6.0 – 9.4	≤ 9.7	4.2.2.1-5
	Entrectinib	-7.00 – 0.267	≤ 7.24	4.2.2.1-6
	M5	-8.67 – -5.60	≤ 5.00	

Range: 10-10,000 ng/mL
CV: coefficient of variation

2.6.4.2.2 放射性被験物質

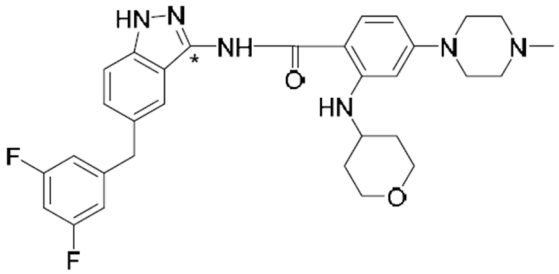
(1) 使用物質

放射性同位体^{14}C で標識された本薬を放射性被験物質（[^{14}C]エヌトレクチニブ）として使用した（図 2.6.4.2.2-1）。 投与時の[^{14}C]エヌトレクチニブの比放射能は0.10～1.94 MBq/mg，放射化学的純度は95%以上であった。

(2) 分析法

生体試料（血液，血漿，尿，及び糞）中の放射能は，試料を溶解あるいはオキシダイザー処理後，液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。組織内放射能の測定には定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）を使用した。薬物由来の放射能濃度は，[^{14}C]エヌトレクチニブ当量（ng eq/mL 又は ng eq/g）として表示した。[^{14}C]エヌトレクチニブ投与後の代謝物プロファイルは逆相カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー放射能検出（Radio–HPLC）により分析した。代謝物の存在比はラジオクロマトグラム上のピーク面積の割合から算出した。

図 2.6.4.2.2-1 [^{14}C]エヌトレクチニブの標識位置



* [^{14}C]標識位置

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 膜透過性

（資料番号4.2.2.2-1）

Caco-2細胞を用いて本薬の膜透過性を評価した。結果を表 2.6.4.3.1-1に示す。

0.1 μmol/L （溶解上限）での本薬の膜透過性（$P_{app,\ Apical\ to\ Basal}$）は，高透過性の対照薬であるminoxidil（10 μmol/L）に比べて1/5程度と低かったが，低透過性の atenolol（100 μmol/L）より5倍程度高かった。以上より，本薬は中程度の膜透過性を有しているものと推察された。また，本薬の efflux ratio（$P_{app,\ B\text{-}to\text{-}A}$ / $P_{app,\ A\text{-}to\text{-}B}$）が P-gp の阻害剤であるシクロスポリンの添加により4.22から0.808に低下したことから，本薬が P-gp の基質であることが推察された。

表 2.6.4.3.1-1 Caco-2単層膜透過性

Analyte	Conc. (μmol/L)	CsA (10 μmol/L)	A-to-B (mean ± SD, n=6)		B-to-A (mean ± SD, n=6)		Efflux Ratio
			P_{app} (10^{-6} cm/s)	Recovery (%)	P_{app} (10^{-6} cm/s)	Recovery (%)	
Entrectinib	0.1	−	0.838 ± 0.292	43.6 ± 5.38	3.54 ± 0.523	30.7 ± 0.973	4.22
		+	1.07 ± 0.108	32.3 ± 1.55	0.862 ± 0.175	50.5 ± 3.85	0.808
Minoxidil	10	−	5.67 ± 0.215	97.7 ± 7.30	NA	NA	NA
		+	5.25 ± 0.499	92.5 ± 1.48	NA	NA	NA
Atenolol	100	−	0.244 ± 0.0672	90.9 ± 7.29	NA	NA	NA
		+	0.191 ± 0.0603	106 ± 1.42	NA	NA	NA

CsA: Cyclosporine-A, P_{app}: apparent permeability, SD: standard deviation, NA: Not applicable

【4.2.2.2-1 Table 4を改変】

2.6.4.3.2 単回投与試験

(1) マウス

（資料番号4.2.2.2-2）

雄 nu/nu マウスに本薬を10 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき，並びに本薬を10 mg/kg及び100 mg/kg の用量で単回経口投与したときの PK パラメータを表 2.6.4.3.2-1に示す。

経口投与後の吸収は良好であり，F は10及び100 mg/kg 投与後にそれぞれ76及び69%であった。静脈内投与時の CL は13.5 mL/min/kg でマウス肝血流量（90 mL/min/kg）[1)]の約15%であることから，雄マウスにおける本薬のクリアランスは小さいことが示唆された。また，V_{ss} は3.34

L/kg であり，マウスの体内水分量（0.73 L/kg）[1)]から考え，本薬の組織移行性が高いことが推測された。本薬の $t_{1/2}$は静脈内投与後で3.6時間，10及び100 mg/kg 経口投与後でそれぞれ2.9及び12.3時間であった。

表 2.6.4.3.2-1 雄マウスに単回静脈内及び経口投与時の本薬 PK パラメータ

Dose Route	IV	Oral	
Target Dose (mg/kg)	10 (n=3)	10 (n=3)	100 (n=3)
T_{max} (h)	NA	2.5 ± 3.0	1.0 ± 0.0
C_{max} (μmol/L)	4.90 ± 1.35 (5 min)	1.33 ± 0.191	10.2 ± 0.917
$t_{1/2}$ (h)	3.59 ± 0.47	2.94 ± 0.099	12.3 ± 4.46
AUC_{last} (μmol/L·h)	19.4 ± 1.51	17.1 ± 0.36	149 ± 22.7
AUC_{inf} (μmol/L·h)	19.6 ± 1.50	17.4 ± 0.21	202 ± 49.2
V_{ss} (L/kg)	3.34 ± 0.599	NA	NA
CL (mL/min/kg)	13.5 ± 1.05	NA	NA
F (%)	NA	76	69

F: calculation based on AUC_{last} NA: Not applicable
値は3例のノンコンパートメント解析結果（平均値 ± 標準偏差）を示す。
【4.2.2.2-2 Table 1～Table 3より作成】

(2) ラット

（資料番号4.2.2.2-3，4.2.2.2-4）

[^{14}C]エヌトレクチニブを雌雄 Sprague-Dawley ラットに20 又は2 mg/kg の用量でそれぞれ単回経口又は単回静脈内投与したときの全血中及び血漿中の放射能，血漿中本薬及び M5の PK パラメータを表 2.6.4.3.2-2に，またそれらの比を表 2.6.4.3.2-3に示す（4.2.2.2-3）。

単回経口投与後0.25時間から放射能は血漿中に確認され，投与後2～4時間で最高濃度を示した。放射能の C_{max}及び AUC は，全血中のほうが血漿中より2.5倍程度高かった。

単回経口投与後の本薬は，投与後8時間（雄）及び4時間（雌）で C_{max} 446 ng/mL（雄）及び604 ng/mL（雌）（それぞれ0.795及び1.08 μmol/L）を示したのち，それぞれ約5及び4時間の $t_{1/2}$で血漿中から消失した。本薬は AUC 比で血漿中放射能の34.4%（経口投与時）あるいは48.9%（静脈内投与時）を占め，F は雄及び雌でそれぞれ36.9及び39.5%であった。血漿中に M5が認められたが，経口及び静脈内投与後ともに AUC 比で血漿中放射能の2%未満であり，ラットでの M5の生成は少ないことが認められた。

静脈内投与後の本薬の CL は1.34 L/h/kg（雄）及び 1.01 L/h/kg（雌）（それぞれ22及び17 mL/min/kg）であり，ラット肝血流量（55 mL/min/kg）[1)]の30～40%程度であったことから，本薬は中程度のクリアランスを示すことが示唆された。また，分布容積（6.3 L/kg（雄）及び5.4 L/kg（雌））より本薬の組織移行性が高いことが推察された。

雄 Sprague-Dawley ラットに本薬を10 mg/kg の用量で単回静脈内投与，並びに本薬を10 mg/kg 及び30 mg/kg の用量で単回経口投与した初期の試験（4.2.2.2-4，表 2.6.4.3.2-4）においても F は33～48%であり，静脈内投与後の CL は20.8 mL/min/kg，$t_{1/2}$は3.5時間，V_{ss} は3.98 L/kg であり，上述の試験（4.2.2.2-3）とほぼ同様であった。

表 2.6.4.3.2-2 雌雄ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブ単回経口及び静脈内投与後の放射能，本薬及び M5の PK パラメータ

Analyte	Matrix	Parameter (Unit)	Oral, 20 mg/kg (n=3/sex/timepoint)		IV, 2 mg/kg (n=3/sex/timepoint)	
			Male	Female	Male	Female
Radioactivity	Blood	T_{max} (h)	6	4	0.083	0.083
		C_{max} (ng-eq/g)	2650	3450	2730	2680
		AUC_{inf} (ng eq·h/g)	40200	51600	9930	12900
		$t_{1/2}$ (h)	8.07	7.37	6.68	6.86
	Plasma	T_{max} (h)	2	4	0.083	0.083
		C_{max} (ng-eq/g)	1150	1310	1080	1140
		AUC_{inf} (ng eq·h/g)	17900	18800	3320	3730
		$t_{1/2}$ (h)	9.02	8.49	9.36	9.07
Entrectinib	Plasma	T_{max} (h)	8	4	0.083	0.083
		C_{max} (ng/mL)	446	604	754	768
		AUC_{inf} (ng·h/mL)	5240	7480	1490	1980
		$t_{1/2}$ (h)	5.24	4.18	3.28	3.70
		CL (L/h/kg)	NE	NE	1.34	1.01
		V_{ss} (L/kg)	NE	NE	6.34	5.40
		F (%)	36.9	39.5	NA	NA
M5	Plasma	T_{max} (h)	8	4	1	4
		C_{max} (ng/mL)	14.0	14.6	3.29	2.15
		AUC_{inf} (ng·h/mL)	NA	136	52.7	NA
		$t_{1/2}$ (h)	NA	7.23	10.8	NA

NA: Not applicable, NE: Not estimated for oral dosing

値は各時点3例の平均濃度を用いたノンコンパートメント解析結果を示す。ng/mL から μmol/L への単位変換は，ng/mL 単位の値をエヌトレクチニブは（0.561 × 1000）で，M5は（0.547 × 1000）で除することで可能である。

【4.2.2.2-3 Table 24，Table 25，Text Table 2より作成】

表 2.6.4.3.2-3 雌雄ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブ単回経口及び静脈内投与後の放射能，本薬及び M5の PK パラメータ比(雌雄平均)

Analyte Ratio	Matrix	Oral 20 mg/kg		IV 2 mg/kg	
		C_{max}	AUC_{inf}	C_{max}	AUC_{inf}
Radioactivity in Blood: Plasma	Blood: Plasma	2.47	2.50	2.44	3.23
Entrectinib: Radioactivity	Plasma	0.424	0.344	0.686	0.489
M5: Radioactivity	Plasma	0.012	0.007[a]	0.002	0.016[b]
M5:Entrectinib	Plasma	0.028	0.018[a]	0.004	0.035[b]

[a] Based on females [b] Based on males

【4.2.2.2-3 Table 24，Table 25，Text Table 2より作成】

表 2.6.4.3.2-4 雄ラットに単回静脈内及び経口投与時の本薬 PK パラメータ

Dose Route	IV	Oral	
Nominal Dose (mg/kg)	10 (n=3)	10 (n=3)	30 (n=3)
$t_{1/2}$ (h)	3.5 ± 0.2	3.8[a]	3.9 ± 0.25
C_{max} (μmol/L)	11 ± 1.1	0.5 ± 0.1	1.4 ± 0.3
T_{max} (h)	NA	3.1 ± 0.0	6.0 ± 0.0
AUC_{last} (μmol/L·h)	15.1 ± 1.5	3.9 ± 2.0	19.2 ± 3.7
AUC_{inf} (μmol/L·h)	15.1 ± 1.5	5.1[a]	19.4 ± 3.8
V_{ss} (L/kg)	3.98 ± 0.38	NA	NA
CL (mL/min/kg)	20.8 ± 2.1	NA	NA
F (%)	NA	33	48

F: calculation based on AUC_{last}, NA: Not applicable [a] n=2
値は3例のノンコンパートメント解析結果（平均値 ± 標準偏差）を示す。

【4.2.2.2-4 Table 1～Table 3より作成】

(3) イヌ

（資料番号4.2.2.2-5，4.2.2.2-6）

雄イヌ（ビーグル）に [^{14}C]エヌトレクチニブを10 mg/kg 用量で単回経口投与し，14日間の休薬後，同じ個体に1 mg/kg の用量で[^{14}C]エヌトレクチニブを単回静脈内投与した（4.2.2.2-5）。全血中及び血漿中の放射能，血漿中本薬及び M5の PK パラメータを表 2.6.4.3.2-5に，それらの比を表 2.6.4.3.2-6示す。

単回経口投与後2時間以内に，放射能は全血中及び血漿中ともに最高濃度を示した。放射能の C_{max} 及び AUC は，全血中のほうが血漿中よりそれぞれ約4及び2.7倍高かった。

単回経口投与後の本薬は投与後2時間以内に C_{max} 305 ng/mL（0.544 μmol/L）を示したのち，4時間の $t_{1/2}$で血漿中から消失した。本薬は AUC 比で血漿中放射能の13.8%（経口投与時）あるいは7.48%（静脈内投与時）を占め，F は74.4%であった。血漿中に M5が認められ，経口及び静脈内投与後の AUC 比でそれぞれ血漿中放射能の27%及び4.5%であったことから，イヌでは静脈内投与より経口投与後に M5へより多く代謝されることが示唆された。

静脈内投与後の本薬の CL は4.17 L/h/kg （約70 mL/min/kg）であり，イヌ肝血流量（約31 mL/min/kg）[1)]の2倍以上であった。また，分布容積（19.3 L/kg）より本薬の組織移行性が高いことが推察された。

なお，雄イヌに本薬を10 mg/kg の用量で単回静脈内投与，並びに本薬を10 mg/kg 及び60 mg/kg の用量で1週間の休薬期間を設けて同じ個体に順次経口投与した初期の試験（4.2.2.2-6，表 2.6.4.3.2-7）での F は31～48%であり，静脈内投与時の CL は17.5 mL/min/kg，V_{ss} は6.7 L/kg，$t_{1/2}$は11.9時間であった。上記試験（4.2.2.2-5）との差異の要因としては，静脈内投与時の用量の違いによる本薬の非線形性等の関与が考えられる。

表 2.6.4.3.2-5 雄イヌに[^{14}C]エヌトレクチニブ単回経口及び静脈内投与後の放射能，本薬及び M5の PK パラメータ

Analyte	Matrix	Parameter (Unit)	Oral; 10 mg/kg (n=3)	IV; 1 mg/kg (n=3)
Radioactivity	Blood	T_{max} (h)	1.7 ± 0.6	0.083 ± 0.00
		C_{max} (ng eq/g)	2270 ± 551	1510 ± 85.4
		AUC_{inf} (ng eq·h/g)	35700 ± 5200	8150 ± 466
		$t_{1/2}$ (h)	51.7 ± 6.29	68.0 ± 6.51
	Plasma	T_{max} (h)	1.7 ± 0.6	0.083 ± 0.00
		C_{max} (ng eq/g)	557 ± 130	395 ± 35.2
		AUC_{inf} (ng eq·h/g)	13100 ± 1100	3250 ± 131
		$t_{1/2}$ (h)	56.8 ± 6.36	78.7 ± 25.0
Entrectinib	Plasma	T_{max} (h)	1.3 ± 0.6	0.083 ± 0.00
		C_{max} (ng/mL)	305 ± 84.1	116 ± 8.54
		AUC_{inf} (ng·h/mL)	1820 ± 381	243 ± 4.21
		$t_{1/2}$ (h)	4.0 ± 0.444	3.20 ± 0.329
		CL (L/h/kg)	NE	4.17 ± 0.0702
		V_{ss} (L/kg)	NE	19.3 ± 2.27
		F (%)	74.4	NA
M5	Plasma	T_{max} (h)	4.0 ± 3.5	4.67 ± 1.16
		C_{max} (ng/mL)	229 ± 51.6	8.79 ± 0.751
		AUC_{inf} (ng·h/mL)	3540 ± 276	147 ± 9.13
		$t_{1/2}$ (h)	15.8 ± 2.93	9.53 ± 1.84

NA: Not applicable, NE: Not estimated for oral dosing

値は3例のノンコンパートメント解析結果（平均値 ± 標準偏差）を示す。ng/mL から μmol/L への単位変換は，ng/mL 単位の値をエヌトレクチニブは（0.561 × 1000）で，M5は（0.547 × 1000）で除することで可能である。

【4.2.2.2-5 Table 5，Table 8，Text Table 2より作成】

表 2.6.4.3.2-6 雄イヌに[^{14}C]エヌトレクチニブ単回経口及び静脈内投与後の放射能，本薬及び M5の PK パラメータ比(平均)

Analyte Ratio	Matrix	Oral 10 mg/kg		IV 1 mg/kg	
		C_{max}	AUC_{inf}	C_{max}	AUC_{inf}
Radioactivity in Blood: Plasma	Blood: Plasma	4.08	2.71	3.82	2.51
Entrectinib: Radioactivity	Plasma	0.545	0.138	0.295	0.0748
M5: Radioactivity	Plasma	0.411	0.270	0.0224	0.0454
M5:Entrectinib	Plasma	0.761	1.98	0.0764	0.606

【4.2.2.2-5 Table 5，Table 8，Text Table 2より作成】

表 2.6.4.3.2-7 雄イヌに単回静脈内及び経口投与時の本薬 PK パラメータ

Dose Route	IV	Oral	
Nominal Dose (mg/kg)	10 (n=3)	10 (n=3)	60 (n=3)
$t_{1/2}$ (h)	11.9 ± 6.01	15.2 ± 8.93	8.99 ± 1.77
C_{max} (µmol/L)	8.55 ± 2.45	0.595 ± 0.154	2.70 ± 1.43
T_{max} (h)	NA	2.0 ± 0.0	3.50 ± 3.04
AUC_{last} (µmol/L·h)	17.1 ± 3.00	5.35 ± 2.36	48.5 ± 30.3
AUC_{inf} (µmol/L·h)	17.6 ± 3.25	5.65 ± 2.55	49.5 ± 31.2
V_{ss} (L/kg)	6.7 ± 0.9	NA	NA
CL (mL/min/kg)	17.5 ± 3.6	NA	NA
F (%)	NA	31.2 ± 10.5	48.0 ± 28.0

NA: Not applicable
値は3例のノンコンパートメント解析結果（平均値 ± 標準偏差）を示す。

【4.2.2.2-6 Table 1，Table 2 より作成】

2.6.4.3.3 反復投与試験

(1) マウス

（資料番号4.2.2.2-7，4.2.3.2-1）

雄 Nu/Nu マウスに本薬を29.2，58.4及び87.6 mg/kg の用量で5日間連日経口投与後の PK パラメータを表 2.6.4.3.3-1に示す（4.2.2.2-7）。

最終投与後1～4時間で本薬は最高血漿中薬物濃度到達時間（T_{max}）を示し，その後，4.3～6.6時間の $t_{1/2}$で血漿中から消失した。曝露量はほぼ用量比例的に増加した。

表 2.6.4.3.3-1 雄 Nu/Nu マウスに5日間連日経口投与後の PK パラメータ

Parameter (Unit)	Dose (mg/kg)		
	29.2	58.4	87.6
$t_{1/2}$ (h)	4.30 ± 0.439	5.29 ± 0.593	6.55 ± 1.04
T_{max} (h)	4.00 ± 1.73	3.00 ± 0.00	1.00 ± 1.00
C_{max} (µmol/L)	2.91 ± 0.582	4.24 ± 0.605	7.87 ± 1.07
AUC_{last} (µmol/L·h)	37.0 ± 3.51	58.6 ± 3.92	96.8 ± 4.33
AUC_{inf} (µmol/L·h)	37.8 ± 3.31	61.3 ± 4.74	104 ± 3.82
AUC_{inf}/Dose (µmol/L·h/mg/kg)	1.30 ± 0.114	1.05 ± 0.0810	1.20 ± 0.0440

値は3例のノンコンパートメント解析結果（平均値 ± 標準偏差）を示す。

【4.2.2.2-7 Table 1～Table 3 より作成】

雌 CD-1マウスに本薬を120及び240 mg/kg の用量で2週間連日経口投与した試験（4.2.3.2-1）において，本薬の曝露量は投与量の増加に伴い上昇した。反復投与による明らかな蓄積は認められなかった（表 2.6.4.3.3-2）。

表 2.6.4.3.3-2 雌 CD-1マウスに2週間連日経口投与した際の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Day	C_{max} (μmol/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L·h)
120	1	7.76	68.7
	14	5.85	99.8
240	1	9.30	152
	14	8.73	152

値は各時点3例の平均濃度を用いたノンコンパートメント解析結果を示す。

(2) KM12細胞マウス移植モデル

（資料番号4.2.1.1-25，4.2.1.1-12）

ルシフェラーゼを導入した結腸直腸癌細胞株 KM12（KM12-Luc，*TPM3-NTRK1*発現）を，頭蓋内あるいは皮下に移植した雌ヌードマウスに，本薬を1日1回（QD）あるいは1日2回（BID）反復経口投与した際の初日及び8日目の PK パラメータを表 2.6.4.3.3-3及び表 2.6.4.3.3-4に示す。代謝物 M5の PK パラメータ及び薬効マーカー測定（2.6.2.2）群の2日目の PK パラメータについては表 2.6.5.4-3及び表 2.6.5.4-4に示した。

いずれの移植モデルにおいても，本薬の曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は，5 mg/kg BID 以上の用量では概ね用量比例的な増加を示した。QD あるいは BID の8日間反復経口投与による明らかな蓄積は認められなかった。初日及び8日目における M5の曝露量は両日とも本薬の10%程度であった。

表 2.6.4.3.3-3 KM12-Luc 細胞頭蓋内移植マウスモデルに反復経口投与時の血漿中本薬の PK パラメータ

Parameter		C_{max}	T_{max}	T_{last}	C_{last}	$AUC_{0\text{-}12h}$	$AUC_{0\text{-}24h}$
Unit		μmol/L	h	h	μmol/L	μmol/L•h	μmol/L•h
Day	Dose (mg/kg)						
1	1 BID	0.129	3.00	12.0	0.00535	0.730	1.46
	5 BID	1.01	3.00	12.0	0.0393	5.98	12.0
	10 QD	1.80	3.00	24.0	0.00775	13.7	17.8
	15 BID	2.67	3.00	12.0	0.288	17.1	34.2
	30 QD	4.13	3.00	24.0	0.0163	39.2	53.4
	60 BID	7.74	3.00	12.0	1.74	55.1	110
8	1 BID	0.108	3.00	6.0	0.00258	0.515	1.03
	5 BID	0.717	3.00	6.0	0.323	3.07	6.14
	10 QD	1.54	3.00	6.0	0.0193	9.67	12.9
	15 BID	2.84	3.00	6.0	0.293	16.3	32.6
	30 QD	4.23	3.00	6.0	0.0205	31.2	42.8
	60 BID	5.31	3.00	6.0	1.37	43.9	87.8

BID：1日2回投与，QD：1日1回投与
値は各時点3例の平均濃度を用いたノンコンパートメント解析結果を示す。
QD 群の $AUC_{0\text{-}12h}$ は内挿法により算出した。
BID 群の $AUC_{0\text{-}24h}$ は $AUC_{0\text{-}12h}$ の2倍として算出した。
Day 8の $AUC_{0\text{-}12h}$ 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ の算出の際には，投与前濃度 (C_0) として BID 群では C_{12h} を，QD 群では C_{24h} を代用した。

【4.2.1.1-25 Pharmacokinetics Phase Report Table 19 より作成】

表 2.6.4.3.3-4 KM12-Luc 細胞皮下移植マウスモデルに反復経口投与時の血漿中本薬の PK パラメータ

Parameter		C_{max}	T_{max}	T_{last}	C_{last}	AUC_{0-12h}	AUC_{0-24h}
Unit		μmol/L	h	h	μmol/L	μmol/L•h	μmol/L•h
Day	Dose (mg/kg)						
1	0.050 BID	0.00309	1.00	3.00	0.00154	NR	NR
	0.10 QD	0.00887	1.00	6.00	0.00233	0.0381	0.0476
	0.50 BID	0.0349	1.00	12.0	0.00335	0.147	0.294
	1.0 QD	0.0559	3.00	6.00	0.0395	0.465	0.626
	1.5 BID	0.0997	3.00	12.0	0.0207	0.609	1.22
	3.0 QD	0.358	3.00	24.0	0.000802	2.21	2.74
	5.0 BID	0.455	3.00	12.0	0.0553	2.67	5.34
	10 QD	1.03	3.00	24.0	0.00485	7.90	10.5
	15 BID	2.10	3.00	12.0	0.419	13.6	27.2
	30 QD	3.87	3.00	24.0	0.0594	31.7	43.2
8	0.050 BID	0.00131	3.00	3.00	0.00131	NR	NR
	0.10 QD	0.00329	3.00	6.00	0.000660	NR	NR
	0.50 BID	0.0280	3.00	6.00	0.0129	NR	NR
	1.0 QD	0.0651	3.00	6.00	0.0258	NR	NR
	1.5 BID	0.118	3.00	6.00	0.00271	0.581	1.16
	3.0 QD	0.294	3.00	6.00	0.00458	1.41	1.77
	5.0 BID	0.614	3.00	6.00	0.0107	3.29	6.58
	10 QD	1.39	3.00	6.00	0.00646	10.4	14.2
	15 BID	2.25	3.00	6.00	0.137	14.3	28.6
	30 QD	3.45	3.00	6.00	0.159	27.4	38.8

BID：1日2回投与，QD：1日1回投与
値は各時点3例の平均濃度を用いたノンコンパートメント解析結果を示す。
QD 群の AUC_{0-12h} は内挿法により算出した。
BID 群の AUC_{0-24h} は AUC_{0-12h} の2倍として算出した。
Day 8の AUC_{0-12h} 及び AUC_{0-24h} の算出の際には，投与前濃度 (C_0) として BID 群では C_{12h} を，QD 群では C_{24h} を代用した。

【4.2.1.1-12 Pharmacokinetics Phase Report Table28, Table 29 より作成】

(3) ラット

（資料番号4.2.3.2-3，4.2.3.2-4，4.2.3.2-5，4.2.3.5.4-3）

Sprague-Dawley ラットでの4週間間欠（50，100及び200 mg/kg/日，2週間投与－2週間休薬－2週間投与，4.2.3.2-3）経口投与毒性試験における血漿中本薬の TK パラメータを表 2.6.4.3.3-5に示す。また，4週間連日（25，50及び100 mg/kg/日，4.2.3.2-4）及び13週間連日（7.5，15及び30 mg/kg/日，4.2.3.2-5）経口投与毒性試験における，血漿中本薬（エヌトレクチニブ）及びM5の TK パラメータを表 2.6.4.3.3-6及び表 2.6.4.3.3-7に示す。更に，幼若ラットでの13週間連日（4，8及び16 mg/kg/日，4.2.3.5.4-3）投与試験の TK パラメータを表 2.6.4.3.3-8に示す。

4週間間欠経口投与時の本薬の曝露量は用量の増加に伴って上昇し，雌のほうが雄よりも高い傾向が認められた。

4週間及び13週間連日経口投与時の本薬の曝露量は両試験ともに概ね用量比例的に増加した。初回投与後に対する最終投与後の本薬の AUC 比は4週間投与試験では0.929～1.35であり，反復投与による影響はほとんど認められなかったが，13週間投与試験では1.24～1.91と軽度な蓄積が認められた。本薬の曝露量は雌が雄よりも高かったが，その差は2倍未満であった。一方，M5の曝露量は雄のほうが雌よりも高く，13週間連日投与により蓄積する傾向が認められたが，M5の曝露量は本薬の AUC に対して13%以下であり，ラットにおいて M5は循環血中の主要な成分ではないことが示唆された。

生後7日（PND 7）から生後97日（PND 97）まで幼若ラットに13週間連日経口投与した際，初回投与後である PND 7では本薬及び M5の曝露量はほぼ用量比例的に増加し，性差は認められなかった。PND 97では PND 7に比べて，本薬及び M5ともに曝露量（AUC）がそれぞれ30～80%及び20～70%に減少し，雌では雄に比べて本薬の曝露量が高く M5の曝露量は低いという，成熟ラットと同様の性差も認められた。これらの結果は PND 97におけるラットのクリアランス能力の成熟[2)-4)]が反映されているものと考えられる。M5の本薬に対する AUC 比は成熟ラットと同程度であった。

表 2.6.4.3.3-5 ラットにエヌトレクチニブ4週間間欠経口投与時の血漿中本薬の TK パラメータ平均値

Dose (mg/kg/day)	Day	Sex	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L·h)
50	1	M	4.0	2.5	30.5
		F	4.0	2.9	41.2
	42	M	1.7	2.6	36.3
		F	2.7	3.2	50.8
100	1	M	4.0	3.3	47.9
		F	3.3	4.6	70.9
	42	M	4.0	3.5	54.0
		F	4.7	6.4	111
200	1	M	6.7	4.6	81.6
		F	16.7	4.6	86.7
	42	M	4.0	5.8	111
		F	6.0	9.0	192

M: male, F: female
値は3例のノンコンパートメント解析結果を示す。

【4.2.3.2-3 Appendix14 Table 2～Table 7 より作成】

表 2.6.4.3.3-6 ラットにエヌトレクチニブ4週間連日経口投与時の
血漿中本薬及び M5の TK パラメータ

Entrectinib						
Dose (mg/kg/day)	Day	Sex	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	AUC_{0-24h} (μmol/L·h)	AUC_{0-24h} Ratio to Day 1
25	1	M	4	1.04	11.6	NA
		F	8	1.64	19.8	NA
	28	M	4	1.17	11.3	0.974
		F	8	1.51	18.4	0.929
50	1	M	8	2.06	25.8	NA
		F	4	2.73	36.5	NA
	28	M	8	2.88	34.7	1.34
		F	2	3.51	49.3	1.35
100	1	M	8	4.42	54.5	NA
		F	8	5.29	83.0	NA

M5							
Dose (mg/kg/day)	Day	Sex	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	AUC_{0-24h} (μmol/L·h)	AUC_{0-24h} Ratio to Day 1	M5/entrectinib Ratio AUC_{0-24h}
25	1	M	8	0.0539	NC	NA	NC
		F	4	0.0573	NC	NA	NC
	28	M	4	0.0930	NC	NC	NC
		F	4	0.0544	NC	NC	NC
50	1	M	8	0.110	1.51	NA	0.0585
		F	4	0.112	NC	NA	NC
	28	M	4	0.313	4.18	2.77	0.120
		F	4	0.149	1.63	NC	0.0331
100	1	M	8	0.369	4.15	NA	0.0761
		F	8	0.180	2.19	NA	0.0264

NA: Not applicable, NC: Not calculable, M: male, F: female
各時点3例の不連続採血のため，値は各時点の平均濃度を用いたノンコンパートメント解析結果を示す。
100 mg/kg/day 群は状態悪化のため Day24で屠殺した。

【4.2.3.2-4 Toxicokinetic Report Table 1, Table 2 より作成】

表 2.6.4.3.3-7 ラットにエヌトレクチニブ13週間連日経口投与時の
血漿中本薬及び M5の TK パラメータ

Entrectinib						
Dose (mg/kg/day)	Day	Sex	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	AUC_{0-24h} (μmol/L·h)	AUC_{0-24h} Ratio to Day 1
7.5	1	M	4	0.382	3.13	NA
		F	4	0.344	4.11	NA
	42	M	4	0.458	4.70	1.50
		F	8	0.474	6.74	1.64
	91	M	4	0.631	5.98	1.91
		F	4	0.629	6.71	1.63
15	1	M	4	0.589	6.87	NA
		F	4	0.756	8.22	NA
	42	M	8	0.879	11.4	1.66
		F	8	1.05	14.0	1.70
	91	M	4	0.851	10.5	1.53
		F	4	1.13	15.4	1.87
30	1	M	4	1.40	15.5	NA
		F	8	1.77	22.0	NA
	42	M	8	1.41	20.0	1.29
		F	4	1.67	27.3	1.24
	91	M	4	1.45	19.4	1.25
		F	4	2.57	29.6	1.35

M5							
Dose (mg/kg/day)	Day	Sex	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	AUC_{0-24h} (μmol/L·h)	AUC_{0-24h} Ratio to Day 1	M5/entrectinib Ratio AUC_{0-24h}
7.5	1	M	NA	0	0	NA	0
		F	NA	0	0	NA	0
	42	M	4	0.0285	0.215	NA	0.0457
		F	NA	0	0	NA	0
	91	M	4	0.0521	0.349	NA	0.0584
		F	4	0.00622	0.0218	NA	0.00325
15	1	M	8	0.0255	0.177	NA	0.0258
		F	4	0.00878	0.0576	NA	0.00701
	42	M	4	0.0689	0.905	5.11	0.0794
		F	4	0.0368	0.321	5.57	0.0229
	91	M	4	0.0965	0.950	5.37	0.0905
		F	4	0.0465	0.459	7.97	0.0298
30	1	M	4	0.0802	0.892	NA	0.0575
		F	8	0.0567	0.627	NA	0.0285
	42	M	4	0.155	2.43	2.72	0.122
		F	4	0.0914	1.01	1.61	0.0370
	91	M	4	0.193	2.54	2.85	0.131
		F	4	0.112	1.10	1.75	0.0372

NA: Not applicable, M: male, F: female
各時点3例の不連続採血のため，値は各時点の平均濃度を用いたノンコンパートメント解析結果を示す。
【4.2.3.2-5 Toxicokinetic Report Table 1, Table 2 より作成】

表 2.6.4.3.3-8 幼若ラットにエヌトレクチニブ13週間連日経口投与時の
血漿中本薬及び M5の TK パラメータ

Entrectinib								
Study Day	Dose (mg/kg/day)	Sex	N	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	AUC_{0-24h} (μmol/L•h)	Accumulation Ratio[b] C_{max}	Accumulation Ratio[b] AUC_{0-24h}
PND 7	4	M	3	4.00	0.456	7.48	NC	NC
		F	3	4.00	0.341	6.05	NC	NC
	8	M	3	8.00	0.614	11.0	NC	NC
		F	3	12.0	0.615	10.8	NC	NC
	16	M	3	8.00	1.22	21.6	NC	NC
		F	3	8.00	1.24	19.8	NC	NC
PND 97	4	M	3	4.00	0.288	2.20	0.631	0.295
		F	3	4.00	0.398	3.12	1.17	0.516
	8	M	3	4.00	0.683	5.78	1.11	0.526
		F	3	4.00	0.843	8.08	1.37	0.745
	16	M	3[a]	4.00	0.822	6.29	0.675	0.291
		F	3	4.00	1.00	11.1	0.812	0.560

M5								
Study Day	Dose (mg/kg/day)	Sex	N	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	AUC_{0-24h} (μmol/L•h)	M5/entrectinib Ratio C_{max}	M5/entrectinib Ratio AUC_{0-24h}
PND 7	4	M	3	12.0	0.0254	0.326	0.0558	0.0436
		F	3	8.00	0.0242	0.297	0.0709	0.0491
	8	M	3	8.00	0.0370	0.420	0.0602	0.0382
		F	3	12.0	0.0302	0.359	0.0491	0.0331
	16	M	3	8.00	0.0606	1.08	0.0498	0.0498
		F	3	8.00	0.0535	0.882	0.0433	0.0445
PND 97	4	M	3	NC	BLQ	NC	NC	NC
		F	3	NC	BLQ	NC	NC	NC
	8	M	3	4.00	0.0455	0.304	0.0667	0.0526
		F	3	4.00	0.0178	0.0623	0.0211	0.00771
	16	M	3[a]	4.00	0.0686	0.418	0.0834	0.0664
		F	3	4.00	0.0307	0.192	0.0305	0.0172

N：各時点における採血動物数， PND: postnatal day, NC: Not calculated

[a] 16 mg/kg/day 群の雄では0，4，12時間値の試料採取予定であった3例のうち2例が毒性発現により PND 22及び PND 25に屠殺されたため，PND 97での0，4，12時間値の試料採取は1例のみであった。なお，PND 97での1，8，24時間値の試料採取は3例で実施された。

[b] 蓄積率は AUC_{0-24h} の PND 97/PND 7の比を示す。

4 mg/kg/day 群の PND 97では，M5濃度がいずれの時点でも定量下限未満（BLQ）であったことから，M5の PK パラメータは算出していない。

【4.2.3.5.4-3 Text Table 45, Text Table 46 より作成】

(4) イヌ

（資料番号4.2.3.2-7，4.2.3.2-9，4.2.3.2-10）

イヌでの4週間間欠（30，60，120 mg/kg/日，2週間投与－2週間休薬－2週間投与，4.2.3.2-7）経口投与毒性試験における血漿中本薬の TK パラメータを表 2.6.4.3.3-9に示す。また4週間連日（15，30，60/45 mg/kg/日，4.2.3.2-9）及び13週間連日（7.5，15，30 mg/kg/日，4.2.3.2-10）経口投与毒性試験における，血漿中本薬（エヌトレクチニブ）並びに M5の TK パラメータをそれぞれ表 2.6.4.3.3-10及び表 2.6.4.3.3-11に示す。

4週間間欠経口投与試験において，本薬の曝露量は初回投与後にはほぼ用量比例的な増加を示した。最終投与後の本薬の曝露量は30及び60 mg/kg の用量間では用量比例的に増加したが，60及び120 mg/kg の用量間では用量比以上の増加を示した。

4週間及び13週間連日経口投与時の本薬の曝露量も概ね用量比例的に増加した。初回投与後に対する最終投与後の本薬の AUC 比は4週間投与試験では0.759～1.41（表 2.6.5.4-10）であり，反復投与による影響はほとんど認められなかった。また，13週間投与試験では蓄積比は1.68～5.35であったが，その多くは2倍程度の増加であった。M5の本薬に対する AUC 比は両試験で0.94～3.0であり，M5が循環血中の主要な成分であることが示唆された。本薬及び M5ともに両試験での曝露量に明確な性差は認められなかった。

表 2.6.4.3.3-9 イヌにエヌトレクチニブ 4週間間欠経口投与時の血漿中本薬の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Sex	T_{max} (h)		C_{max} (μmol/L)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L·h)	
		Day 1	Day 42[a]	Day 1	Day 42[a]	Day 1	Day 42[a]
30	M	1.60 ± 0.548	6.20 ± 9.96	0.751 ± 0.883	1.68 ± 0.811	10.5 ± 8.96[b]	20.8 ± 9.29
	F	1.80 ± 1.30	3.20 ± 1.10	1.88 ± 0.524	1.56 ± 1.38	18.5 ± 4.88	21.1 ± 15.4[c]
60	M	1.60 ± 0.548	3.40 ± 2.79	2.96 ± 2.33	2.76 ± 1.43	31.1 ± 23.4	37.3 ± 21.2
	F	0.900 ± 0.224	2.80 ± 1.10	3.45 ± 1.45	3.19 ± 1.06	38.2 ± 25.1	37.8 ± 6.75
120	M	12.0 ± 11.2	8.80 ± 9.01	4.08 ± 1.80	7.43 ± 2.91	50.7 ± 8.7	147 ± 59.0
	F	10.8 ± 12.1	12.2 ± 11.1	3.83 ± 0.914	7.52 ± 2.01	50.6 ± 18.4	159 ± 50.2

NA: Not applicable, M: male, F: female

[a] 120 mg/kg 群の動物は状態悪化のため，雄及び雌の最終投与日それぞれ Day11及び Day10での結果を示す。

値は各群雌雄それぞれ5例のノンコンパートメント解析結果（平均値 ± 標準偏差）を示す。 ([b] n=3; [c] n=4)。

【4.2.3.2-7 Appendix12 Table 2～Table 7 より作成】

表 2.6.4.3.3-10 イヌにエヌトレクチニブ 4週間連日経口投与時の血漿中本薬及び M5の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)				Entrectinib			M5			M5/entrectinib AUC Ratio
	Day	Sex	N	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L·h)	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L·h)	
15	1	M	3	2 ± 0.577	0.350 ± 0.207	1.97 ± 0.991	2 ± 1.15	0.401 ± 0.190	3.71 ± 1.53	1.94
		F	3	2 ± 0.577	0.374 ± 0.125	1.95 ± 0.343	2 ± 0.00	0.411 ± 0.0314	3.90 ± 0.584	2.01
	28	M	3	2 ± 1.15	0.341 ± 0.157	2.63[a]	4 ± 1.15	0.384 ± 0.145	4.69 ± 0.898	1.84
		F	3	1 ± 0.577	0.427 ± 0.0983	2.57 ± 0.464	2 ± 1.15	0.463 ± 0.0618	5.04 ± 0.796	1.98
30	1	M	3	2 ± 0.577	1.14 ± 0.171	9.23 ± 0.619	2 ± 1.15	0.956 ± 0.196	13.8 ± 1.14	1.50
		F	3	2 ± 1.53	0.998 ± 0.234	8.03 ± 2.49	2 ± 1.15	0.942 ± 0.286	11.2 ± 3.39	1.41
	28	M	3	2 ± 0.00	1.37 ± 0.320	9.13 ± 2.81	2 ± 0.00	0.843 ± 0.118	9.13 ± 0.690	1.06
		F	3	2 ± 0.00	1.38 ± 0.671	9.49 ± 3.84	2.67 ± 1.15	0.742 ± 0.302	8.52 ± 2.31	0.935
60*	1	M	5	2 ± 0.548	1.77 ± 0.618	15.8 ± 9.83	2 ± 2.83	1.26 ± 0.543	17.5 ± 8.67	1.19
		F	5	2 ± 2.95	1.79 ± 0.341	17.6 ± 5.97	4 ± 4.15	1.29 ± 0.326	20.4 ± 8.43	1.14
45*	1	M	5	4 ± 3.03	1.02 ± 0.414	10.6 ± 4.54	4 ± 2.19	0.937 ± 0.388	12.8 ± 4.92	1.23
		F	4	3 ± 3	1.26 ± 0.348	10.4 ± 1.81	4 ± 1	0.942 ± 0.193	10.9 ± 1.71	1.07
	14	M	5	2 ± 0	1.14 ± 0.532	7.97 ± 3.13	2 ± 0.894	0.791 ± 0.283	8.43 ± 2.87	1.12
		F	4	2 ± 1.00	1.63 ± 0.251	10.3 ± 1.61	2 ± 1.00	0.921 ± 0.143	9.63 ± 2.18	0.936

M: male, F: female

値はノンコンパートメント解析による3～5例の平均値 ± 標準偏差を示す（[a] n=2）。ただし T_{max} は中央値 ± 標準偏差を示す。

* 60 mg/kg/日の用量群は Day 9 に投与を中断したためデータは Day 1 のみである。その後 Day 15 に45 mg/kg/日の用量で投与を再開したため，45 mg/kg/日では Day 1 及び Day 14 のデータを得た。

【4.2.3.2-9 Toxicokinetic Report Table 2～Table 7 より作成】

表 2.6.4.3.3-11 イヌにエヌトレクチニブ 13週間連日経口投与時の血漿中本薬及び M5の TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	Entrectinib						
	Day	Sex	N	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L·h)	AUC Ratio to Day1
7.5	1	M	4	2 ± 0.00	0.195 ± 0.110	1.06 ± 0.699	NA
		F	4	2 ± 0.00	0.136 ± 0.0282	0.773 ± 0.212	NA
	42	M	4	4 ± 1.00	0.311 ± 0.0702	2.16 ± 0.517	3.73
		F	4	3 ± 1.50	0.187 ± 0.175	1.49 ± 1.62	1.97
	91	M	4	3 ± 1.15	0.276 ± 0.0404	1.93 ± 0.289	4.37
		F	4	2 ± 0.50	0.226 ± 0.148	1.81 ± 1.69	2.39
15	1	M	4	1.5 ± 0.577	0.274 ± 0.0965	1.52 ± 0.565	NA
		F	4	1.5 ± 0.577	0.299 ± 0.198	1.92 ± 1.52	NA
	42	M	3*	2 ± 0.577	0.325 ± 0.207	2.66 ± 1.61	1.79
		F	4	2 ± 0.500	0.481 ± 0.175	3.89 ± 0.972	3.15
	91	M	3*	2 ± 1.53	0.476 ± 0.232	3.39 ± 1.42	2.88
		F	4	2 ± 0.00	0.673 ± 0.398	5.04 ± 2.18	5.35
30	1	M	6	2 ± 0.516	0.528 ± 0.271	3.31 ± 1.84	NA
		F	6	2 ± 0.408	0.564 ± 0.450	4.17 ± 2.97	NA
	42	M	6	2 ± 0.816	0.830 ± 0.598	7.09 ± 4.94	2.01
		F	6	2 ± 0.516	0.775 ± 0.525	6.81 ± 4.44	1.93
	91	M	6	2 ± 0.816	0.912 ± 0.482	8.04 ± 4.94	2.51
		F	6	2 ± 0.00	0.839 ± 0.672	7.09 ± 5.98	1.68

用量 (mg/kg/日)	M5							
	Day	Sex	N	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L·h)	AUC Ratio to Day1	M5/entrectinib AUC Ratio
7.5	1	M	4	4 ± 0.00	0.203 ± 0.147	2.00 ± 1.46	NA	2.21
		F	4	4 ± 1.00	0.158 ± 0.0302	1.52 ± 0.314	NA	2.04
	42	M	4	4 ± 0.00	0.382 ± 0.00655	4.34 ± 1.45	2.85	2.03
		F	4	4 ± 0.00	0.241 ± 0.175	2.93 ± 2.35	1.80	3.04
	91	M	4	4 ± 1.00	0.239 ± 0.0565	2.66 ± 0.893	1.92	1.39
		F	4	4 ± 1.00	0.204 ± 0.130	2.44 ± 1.67	1.55	1.54
15	1	M	4	3 ± 1.15	0.262 ± 0.109	2.53 ± 1.19	NA	1.66
		F	4	4 ± 0.00	0.261 ± 0.157	3.12 ± 2.28	NA	1.73
	42	M	3*	4 ± 0.00	0.400 ± 0.169	5.85 ± 2.92	2.49	2.48
		F	4	4 ± 0.00	0.473 ± 0.0854	6.71 ± 1.57	3.11	1.75
	91	M	3*	4 ± 1.15	0.350 ± 0.122	4.46 ± 1.76	2.13	1.34
		F	4	4 ± 1.00	0.488 ± 0.160	6.45 ± 1.85	3.54	1.35
30	1	M	6	4 ± 0.816	0.403 ± 0.187	4.73 ± 2.88	NA	1.43
		F	6	4 ± 1.22	0.451 ± 0.250	5.77 ± 4.42	NA	1.39
	42	M	6	4 ± 0.00	0.663 ± 0.359	8.99 ± 5.01	1.92	1.42
		F	6	4 ± 1.03	0.663 ± 0.314	9.40 ± 4.96	2.00	1.62
	91	M	6	4 ± 0.00	0.699 ± 0.419	9.06 ± 5.65	1.95	1.17
		F	6	4 ± 0.00	0.605 ± 0.467	8.06 ± 7.45	1.59	1.27

NA: Not applicable, M: male, F: female

値はノンコンパートメント解析による3～6例の平均値 ± 標準偏差を示す。ただし T_{max} は中央値 ± 標準偏差を示す。

* 1例（H12967）は行動上の問題があり Day33に屠殺（本薬とは関連なし）

【4.2.3.2-10 Toxicokinetic Report Table 1～Table 5 より作成】

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 *in vitro* 蛋白結合

(1) 動物及びヒト血漿中蛋白結合率

（資料番号4.2.2.3-1，4.2.2.3-2，4.2.2.3-10）

マウス，ラット，イヌ，サル及びヒト血漿における本薬（4.2.2.3-1）及びM5（4.2.2.3-2）の *in vitro* 蛋白結合率を平衡透析法で評価した。本薬を評価濃度5及び50 μmol/L（各 n=3）で，37°C，6時間インキュベーションし，M5は評価濃度0.5, 2.5及び10 μmol/L（各 n=3）で，37°C，5時間インキュベーションした。本薬の血漿蛋白結合率は動物種及び濃度によらず97.4～99.9%（fu≤0.1～2.6%），M5も99.6～99.9%以上（fu≤0.4%）の高い血漿蛋白結合率を示した。

更に例数を増やして評価濃度1 μmol/L でのマウス，ラット，イヌ及びヒト血漿中での本薬あるいはM5の fu を平衡透析法（37°C，5時間インキュベーション）で評価した（表 2.6.4.4.1-1）。ヒト血漿中での本薬及びM5の非結合型分率は同様であり，両者ともに明確な種差は認められなかった。

表 2.6.4.4.1-1 ヒト及び動物血漿におけるエヌトレクチニブ及びM5の非結合型分率(fu)

Compound (μmol/L)	% Fraction Unbound (Geometric mean ± SD)			
	Human (n)	Mouse (n)	Rat (n)	Dog (n)
Entrectinib 1 μmol/L	0.22 ± 0.05 (15)	0.34 ± 0.03 (12)	0.32 ± 0.09 (13)	0.36 ± 0.10 (12)
M5 1 μmol/L	0.31 ± 0.05 (13)	0.53 ± 0.08 (12)	0.46 ± 0.08 (9)	0.46 ± 0.12 (11)

SD: 標準偏差, n: 例数

【4.2.2.3-10 Table 1及び Table 2 を改変】

(2) ヒト精製血清蛋白及び培養液中ヒト肝細胞あるいはヒト肝ミクロソームへの結合率

（資料番号 4.2.2.3-10）

本薬の評価濃度1 μmol/L でのヒト血清蛋白（HSA, 45 g/L），α1酸性糖蛋白（AGP，0.7 g/L）及びそれらの混合物に対する fu を平衡透析法で評価した。本薬は HSA 及び AGP のいずれに対しても表 2.6.4.4.1-2に示すように高い結合率を示し，両者の混合溶液では，ヒト血漿中と同程度の fu を示した。

また，同様に培養液中ヒト肝細胞あるいはヒト肝ミクロソームに対する本薬の fu を評価したところ，結果は表 2.6.4.4.1-3のとおりであった。

表 2.6.4.4.1-2 ヒト精製血清蛋白におけるエヌトレクチニブの非結合型分率(fu)

Compound (μmol/L)	% Fraction Unbound (Geometric mean ± SD)		
	HSA_45 g/L (n)	AGP_0.7 g/L (n)	HSA_45 g/L/ AGP_0.7 g/L (n)
Entrectinib 1 μmol/L	1.3 ± 0.1 (9)	1.8 ± 0.6 (9)	0.3 ± 0.03 (8)

SD: 標準偏差, n: 例数

【4.2.2.3-10 Table 3 を改変】

表 2.6.4.4.1-3 培養液中ヒト肝細胞あるいはヒト肝ミクロソームに対するエヌトレクチニブの非結合型分率(fu)

Compound (μmol/L)	% Fraction Unbound (Geometric mean ± SD, n=9)					
	Hepatocyte medium	Human microsome (mg/mL)				
		0.05	0.1	0.25	0.5	1
Entrectinib 1 μmol/L	20.6 ± 1.6	8.8 ± 2.0	5.6 ± 0.7	3.0 ± 0.1	1.3 ± 0.1	0.6 ± 0.1

SD: 標準偏差, n: 例数

【4.2.2.3-10 Table 4及び Table 5 を改変】

2.6.4.4.2 *in vitro* 血球移行性

（資料番号 4.2.2.3-10）

マウス，ラット及びヒト全血を用いて，評価濃度3 μmol/L での本薬あるいは M5の血球移行性を評価した。本薬及び M5の血液／血漿分配比は同様であり，いずれも血球への移行性が示唆された。明確な種差は認められなかった。

表 2.6.4.4.2-1 ヒト及び動物全血を用いたエヌトレクチニブ及び M5の血液/血漿分配比

Compound (μmol/L)	Blood/plasma partitioning (Geometric mean ± SD, triplicate)		
	Human	Mouse	Rat
Entrectinib 3 μmol/L	1.3 ± 0.09	1.8 ± 0.03	2.0 ± 0.08
M5 3 μmol/L	1.0 ± 0.12	1.2 ± 0.04	1.5 ± 0.11

SD: 標準偏差

【4.2.2.3-10 Table 6及び Table 7 を改変】

2.6.4.4.3 *in vivo* 血球移行性

（資料番号4.2.2.2-3，4.2.2.2-5）

雌雄ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブを20 mg/kg 及び2 mg/kg でそれぞれ単回経口及び静脈内投与した試験において，血液中と血漿中の放射能の AUC を比較したところ，血液中放射能 AUC は血漿中に比べて，経口投与後及び静脈内投与後でそれぞれ2.5倍及び3.2倍高かった（4.2.2.2-3，表 2.6.4.3.2-3）。また，同様に雄イヌに[^{14}C]エヌトレクチニブを10 mg/kg 及び1 mg/kg でそれぞれ単回経口及び静脈内投与した試験において，血液中放射能 AUC は血漿中に比べて，経口投与後及び静脈内投与後でそれぞれ2.7倍及び2.5倍高かった（4.2.2.2-5，表 2.6.4.3.2-6）。いずれの動物種においても本薬由来の物質が血球に移行することが認められた。

2.6.4.4.4 組織分布

（資料番号4.2.2.3-5）

雄の白色ラット（Sprague-Dawley）及び有色ラット（Long Evans）に[^{14}C]エヌトレクチニブを20 mg/kg の用量で単回経口投与したときの組織分布を，QWBA を用いて投与後168時間まで評価した。

白色ラットに単回経口投与後の放射能は投与後1時間より体内に広範囲に分布し，評価したほとんどの組織の放射能は投与後3～8時間で最高濃度に達した（表 2.6.4.4.4-1）。尿や胆汁を除き，C_{max} が高かった組織は，肝臓，肺，副腎，腎臓，腎皮質及び甲状腺であった。一方，C_{max} が低かった組織は，骨，精巣，眼球，精嚢及び精巣上体であった。放射能は緩徐に低下し，評価した組織の半数程度で，投与後72時間まで放射能が確認された。中枢神経系においては，脈絡叢及び下垂体以外の組織にはほとんど放射能が認められなかったが，これは本試験の検出下限（179 ng eq/g（0.32 μmol/L））が高いためと考えられた。

有色ラットに単回経口投与後の放射能の組織分布は白色ラットとほぼ同様であったが，メラニン含有部位，特にブドウ膜で白色ラットより著しく高く，消失の遅い放射能の推移が確認された（表 2.6.4.4.4-2）。

表 2.6.4.4.4-1 雄白色ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブを20 mg/kg の用量で単回経口投与後の組織中放射能（平均値）

Tissues/Organs	Concentration (ng eq/mL or g)					
	1 h	3 h	8 h	24 h	72 h	168 h
Adrenal gland(s)	6410	22500	16400	3750	765	426
Bile	38300	129000	42200	4980	ND	ND
Blood	1350	2660	1570	BLQ	BLQ	ND
Bone	BLQ	378	348	BLQ	ND	ND
Bone marrow	2020	11600	11500	1580	335	223
Brain cerebellum	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
Brain cerebrum	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
Brain choroid plexus	1890	5880	5250	1510	437	ND
Epididymis	BLQ	664	1190	702	265	ND
Eye(s)	BLQ	523	388	BLQ	ND	ND
Eye uveal tract	970	3590	2680	608	ND	ND
Harderian gland	658	3840	11200	10900	2830	384
Kidney cortex	6010	21800	13600	2560	701	314
Kidney medulla	4970	18800	15400	3130	781	319
Kidney(s)	5410	20300	14600	2820	733	316
Liver	12800	38300	17700	3430	965	310
Lung(s)	6790	33500	29200	2730	200	ND
Lymph node(s)	1180	6550	8510	1690	454	BLQ
Pancreas	3250	14000	10400	2100	434	216
Pituitary gland	3190	15100	14600	2760	552	BLQ
Prostate gland	717	4000	5180	849	BLQ	ND
Seminal vesicle(s)	BLQ	953	1180	BLQ	BLQ	ND
Skin (non-pigmented)	412	1880	2300	818	BLQ	ND
Small intestine	1460	7730	6380	1000	BLQ	ND
Spleen	5210	19200	15800	2690	759	463
Testis(es)	BLQ	249	432	380	BLQ	ND
Thymus	641	4300	6530	1350	BLQ	BLQ
Thyroid	4490	19500	15700	2600	691	445

BLQ：検出下限（179 ng eq/g（0.32 µmol/L））未満，ND：No data
値は各時点3例の平均値を示す。

【4.2.2.3-5 Table 7 を改変】

表 2.6.4.4.4-2 雄有色ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブを20 mg/kg の用量で単回経口投与後の組織中放射能（平均値）

Tissues/Organs	Concentration (ng eq/mL or g)					
	1 h	3 h	8 h	24 h	72 h	168 h
Adrenal gland(s)	4990	19200	17300	3720	734	453
Bile	55400	66200	39300	5380	ND	ND
Blood	1210	2370	1850	BLQ	ND	ND
Bone	BLQ	381	410	BLQ	ND	ND
Bone marrow	1310	6590	10900	1540	352	241
Brain cerebellum	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
Brain cerebrum	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
Brain choroid plexus	1580	4160	5630	1410	492	ND
Epididymis	BLQ	463	1050	768	204	BLQ
Eye (s)	210	1440	3520	4000	4160	3410
Eye uveal tract	1180	7350	22500	23200	24100	16800
Harderian gland	438	3410	11100	10400	4530	604
Kidney cortex	4020	15600	13600	2160	740	407
Kidney medulla	3630	14000	15300	2880	939	417
Kidney(s)	3790	14800	14500	2530	836	410
Liver	9710	29800	21100	3230	987	319
Lung(s)	4490	24100	44900	2820	250	BLQ
Lymph node(s)	882	4830	10400	1710	507	326
Pancreas	2390	9560	10900	1730	395	205
Pituitary gland	2310	15500	31500	5650	2210	1140
Prostate gland	484	2100	4110	667	BLQ	ND
Seminal vesicle(s)	BLQ	799	1130	210	BLQ	ND
Skin (non-pigmented)	240	1040	1840	544	BLQ	BLQ
Skin (pigmented)	259	1160	2120	990	525	BLQ
Small intestine	2590	5960	6980	1040	BLQ	BLQ
Spleen	3840	13000	16500	2440	797	514
Testis(es)	BLQ	222	519	423	BLQ	ND
Thymus	497	3070	6230	1230	257	BLQ
Thyroid	3370	11700	12700	2630	693	458

BLQ：検出下限（179 ng eq/g（0.32 μmol/L））未満，ND：No data
値は各時点3例の平均値を示す。

【4.2.2.3-5 Table 6 を改変】

2.6.4.4.5 脳への移行性

(1) マウス

（資料番号4.2.3.2-1）

雌 CD-1マウスに本薬を120及び240 mg/kg の用量で2週間連日経口投与した試験（2.6.4.3.3(1)参照）において，最終投与後24時間での本薬の脳組織中濃度の血漿中濃度に対する比は，それぞれ0.38及び0.43であった。

(2) ラット

（資料番号4.2.2.3-6，4.2.3.2-3，4.2.2.3-11，4.2.2.3-12）

雄ラットに本薬を20 mg/kg の用量で単回経口投与後，72時間まで各時点3例を経時的に解剖して血漿，脳脊髄液（CSF）及び脳を採取し，それぞれの試料中の本薬及び M5濃度を測定し，本薬の脳への移行性を評価した（4.2.2.3-6）。

脳内の本薬の曝露量（C_{max}，AUC）は血漿中の本薬の約20%であった。M5の曝露も脳組織で

認められた。なお，本試験ではCSF 中に本薬及びM5濃度は検出されなかった。

表 2.6.4.4.5-1 雄ラットに20 mg/kg で単回経口投与後の本薬及びM5の血漿中及び脳組織中 PK パラメータ平均値

Analyte	Matrix	T_{max} (h)	C_{max} (nmol/L)	AUC_{inf} (nmol/L•h)	Ratio (Brain /Plasma) C_{max}	Ratio (Brain /Plasma) AUC_{inf}
Entrectinib	Plasma	3.00	820	6375	NA	NA
	Brain	6.00	151	1359	0.185	0.219
M5	Plasma	3.00	63.8	473	NA	NA
	Brain	12.0	8.43	149[a]	0.132	0.315[a]
Ratio M5/ entrectinib	Plasma	NA	0.0778	0.0743	NA	NA
	Brain	NA	0.0227	0.107[a]	NA	NA

NA: Not applicable [a] AUC_{last}

【4.2.2.3-6 Table 1 を改変】

4週間間欠経口投与試験（4.2.3.2-3，2.6.4.3.3(3)）においても，100及び200 mg/kg の用量群で，最終投与後24時間での脳組織中の本薬濃度を測定しており，それらの血漿中濃度に対する比（0.57～1.1）より，本薬がラット脳組織へ移行することが認められた（表 2.6.4.4.5-2）。

表 2.6.4.4.5-2 ラット4週間間欠反復経口投与試験における最終投与後24時間の脳組織中及び血漿中本薬濃度

Dose (mg/kg/day)	Sex	Plasma concentration C_{24h}, µmol/L (mean ± SD, n=3)	Brain concentration C_{24h}, µmol/L (mean ± SD, n=5)	Ratio C_{24h} Brain/Plasma
100	M	1.36 ± 0.58	0.781 ± 0.709	0.574
	F	2.43 ± 0.62	1.44 ± 0.463	0.591
200	M	3.82 ± 1.52	2.26 ± 1.44	0.592
	F	7.37 ± 1.46	8.12 ± 5.99	1.10

SD: standard deviation, M: male, F: female

【4.2.3.2-3 Appendix14 Table 8，Table 3A1～Table 5A1 より作成】

単回投与後（4.2.2.3-6）に比較し，上記の反復経口投与後（4.2.3.2-3）の本薬の脳組織移行性が高い傾向にあったことから，定常状態時の脳組織及びCSF への本薬及びM5の移行程度を確認するため，ラットに本薬を6 mg/kg の急速静脈内投与後に0.032 mg/min/kg の点滴持続静脈内投与を6時間まで実施した（4.2.2.3-11）。点滴開始から5時間あるいは6時間での血漿中，脳組織中及びCSF 中の本薬及びM5濃度を表 2.6.4.4.5-3に示した。

点滴開始から6時間では血漿中及び脳組織中の本薬濃度は完全には定常状態に達していないものの，血漿中に対する脳組織中濃度比は0.6であり，反復経口投与後の値（表 2.6.4.4.5-2）とほぼ同程度となった。5時間でのCSF 中の濃度は約1 nmol/L で，その時点でのラットの血漿中非結合型濃度（fu 0.32%（表 2.6.4.4.1-1）として4.0 nmol/L）のおよそ25%に相当したが，この CSF 中濃度を用いると，定常状態での脳組織の非結合型濃度を過少評価する可能性がある。

現時点で得られている予備的な Lipid membrane binding assay （LIMBA）[5]の結果（4.2.2.3-12）では，18時間インキュベーションによる本薬の脳試料での fu（0.41%）はラットの血漿中 fu（0.32%（表 2.6.4.4.1-1））と同程度であった。この予備的な結果に基づけば，脳組織での非結合型濃度は点滴開始から5及び6時間の平均値として約3 nmol/L となり，少なくとも定常状態に近い血漿中非結合型濃度の約60%に相当すると考えられる。

M5濃度は血漿中及び脳組織中で検出されたが，血漿中に対する脳組織中濃度比は本薬よりやや低値であった。また，本薬濃度に対する M5の濃度比は他の試験と同様の4～6%であった。

表 2.6.4.4.5-3 ラットにエヌトレクチニブを6 mg/kg 単回静脈内投与及び続けて0.032 mg/min/kg で点滴持続静注した際の本薬及び M5の血漿中，脳組織中及び CSF 中濃度

Parameters Mean ± SD (n=4)	Entrectinib		M5	
	5 h*	6 h	5 h	6 h
Plasma conc. (nmol/L)	1260 ± 430	1400 ± 109	71.3 ± 32.3	84.8 ± 13.1
Brain conc. (nmol/L)	567 ± 71.2	843 ± 186	22.8 ± 4.16	37.3 ± 10.6
CSF conc. (nmol/L)	0.985 ± 0.190[a]	0.813 ± 0.201	<LLOQ	<LLOQ
Brain/Plasma ratio	0.49 ± 015	0.60 ± 0.1	0.35 ± 0.08	0.44 ± 0.07
Plasma M5/Parent ratio (%)	NA	NA	5.8 ± 1.9	6.0 ± 0.1
Brain M5/Parent ratio (%)	NA	NA	4.1 ± 1.1	4.5 ± 0.1

値は4例の平均値± 標準偏差を示す。[a]n=3
*点滴投与開始からの時間
conc.: concentration，NA: not applicable.
<LLOQ: 定量下限未満 (CSF 中の M5は<0.0178 nmol/L)

【4.2.2.3-11 Table 2を改変】

(3) イヌ

（資料番号4.2.3.2-7）

イヌ4週間間欠投与毒性試験（2.6.4.3.3(4)）において，最終投与（Day 42）後24時間での血漿中及び脳組織中の本薬濃度を測定して，脳への移行性を評価した。血漿中に対する脳組織中の本薬濃度比は1.3以上であり，イヌの脳内に本薬が移行することが確認された（表 2.6.4.4.5-4）。

表 2.6.4.4.5-4 イヌ4週間間欠投与試験における最終投与後24時間の血漿中濃度に対する脳組織中本薬濃度比

Dose (mg/kg/day)	Sex	Plasma concentration C_{24h}, µmol/L (n=5)	Ratio Cerebellum/Plasma (n=3)	Ratio Cortex/Plasma (n=3)	Ratio Stem/Plasma (n=3)
30	M	0.370 ± 0.349	1.49 ± 0.77	1.60 ± 0.60	1.36 ± 0.54
	F	0.163 ± 0.215	1.74 ± 1.53	1.87 ± 1.66	2.17 ± 1.93
60	M	0.620 ± 0.173	1.79 ± 0.27	1.72 ± 0.36	1.67 ± 0.50
	F	0.458 ± 0.204	1.96 ± 0.76	1.88 ± 0.60	1.57 ± 0.99

M: male， F: female
値は平均値 ± 標準偏差を示す。

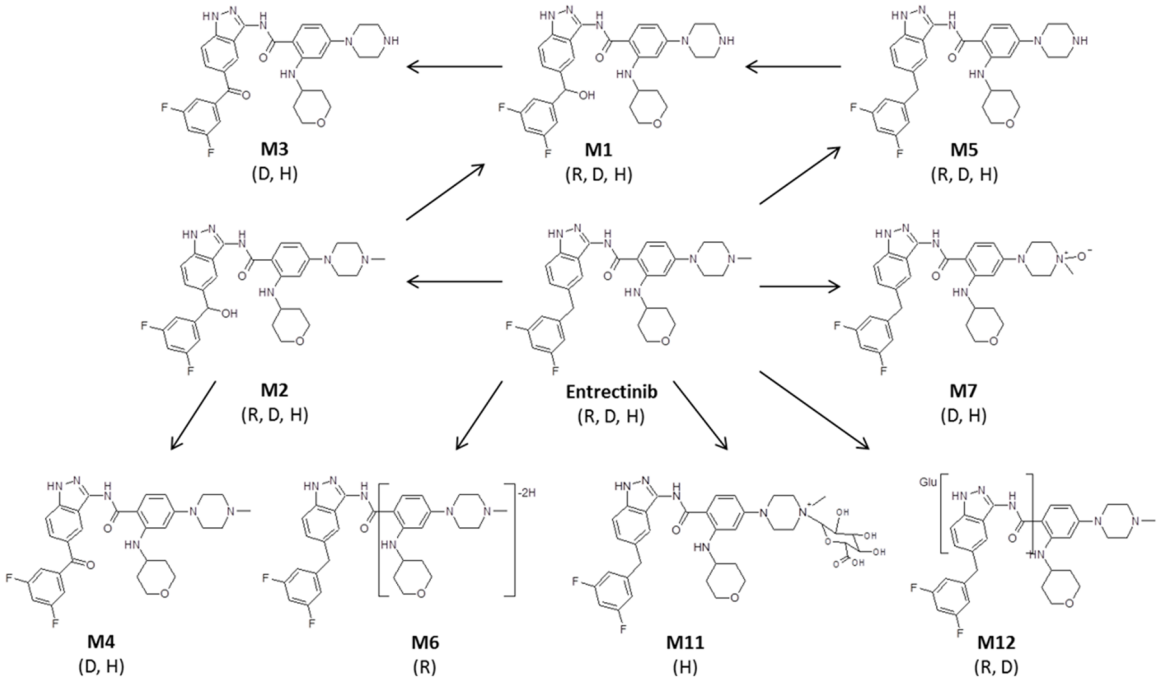
【4.2.3.2-7 Appendix12 Table 8，Table 9，Table 2A2～Table 5A2より作成】

2.6.4.5 代謝（動物種間の比較）

本薬の *in vitro* 代謝は肝細胞，肝ミクロソーム，発現系ヒト CYP，発現系ヒト UGT を用いて評価し，*in vivo* 代謝は[^{14}C]エヌトレクチニブ投与後のラット，イヌ及びヒト試料を用いて評価した。

代謝物の構造は，標準品（M1，M2，M3，M4，M5，M7）を用いて確認，あるいは MS/MS スペクトルから推定した。本薬の推定代謝経路を図 2.6.4.5-1に示す。

図 2.6.4.5-1 エヌトレクチニブの推定代謝経路



R: Rat, D: Dog, H: Human

2.6.4.5.1 肝細胞における *in vitro* 代謝プロファイル

（資料番号4.2.2.4-1，4.2.2.4-7，4.2.2.4-8）

本薬（10 μmol/L）をマウス，ラット，イヌ，サル又はヒトの肝細胞とともに60分インキュベーションしたところ，本薬の44～70%がインキュベーション後に残存した。HPLC-MS/MS による分析で，ヒト肝細胞では酸化的代謝物（M2，M7，M14），脱メチル体（M5）及び N–グルクロン酸抱合体（M11）などが検出された。M11を除き，毒性試験で用いたラット及びイヌの肝細胞では，いずれも定性的にヒトに類似した代謝物のプロファイルを示した。

また，本薬及び M5の固有クリアランスを長時間の肝細胞培養系（ヒトの肝細胞及び繊維芽細胞を含むマイクロプレートを用いた2D 共培養系）を用いて評価したところ，M5の固有クリアランスは本薬の約1/2であった（4.2.2.4-7）。また，いずれの化合物においても，薬物濃度10 μmol/L での固有クリアランスは薬物濃度0.1及び1 μmol/L 時より小さかったが，臨床での非結合型濃度（fu を1%とした場合 ≤0.04 μmol/L）を考慮すると，肝代謝の飽和が生じる可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4.5.1-1 動物及びヒト肝細胞を用いたエヌトレクチニブの *in vitro* 代謝プロファイル

Species	% of Total Drug-Related Material							
	M1	M2	M3	M5	M7	M11	M14[a]	Entrectinib
Mouse	<1	6	<1	7	8	ND	6	70
Rat	1	4	<1	11	12	ND	19	44
Dog	ND	<1	<1	8	36	ND	7	46
Monkey	3	11	1	16	14	<1	3	45
Human	<1	2	<1	3	12	3	10	68

ND: Not detected

[a] M14と M2は保持時間がほぼ同じであり m/z も同一なので，同一の代謝物の可能性がある。

【4.2.2.4-1 Section 4.1.1 を改変】

更に，[^{14}C]エヌトレクチニブ（10 μmol/L）をヒト肝細胞と長時間（120分）インキュベーションしたところ，表 2.6.4.5.1-2に示したとおり，本薬の29%が代謝され，各種の代謝物の生成が確認された（4.2.2.4-8）。得られた主要代謝物はピペラジン部分の脱メチル化体である M5，ベンジル部分の酸化体である M2，及びこれら脱メチル化と酸化の両方から成る M1及び M3であった。また，ピペラジン部分の Nーオキサイドである M7も検出された。これらの中では M5が12%（本薬の代謝の41%を占める）で最も生成量が多かった。本薬の四級 Nーグルクロン酸抱合体 M11も5.5%（本薬の代謝の19%を占める）生成した。

表 2.6.4.5.1-2 ヒト肝細胞を用いた[^{14}C]エヌトレクチニブの *in vitro* 代謝プロファイル（120分インキュベーション）

	Presence in Sample (% drug related material in peaks)	Relative Contribution to Metabolism (%)
Entrectinib	71	—
M1	1.8	6.2
M2	5.5	19
M3	0.5	1.7
M5	12	41
M7	3.4	12
M11	5.5	19
Unknown	0.7	2.4

【4.2.2.4-8 Table 4を改変】

2.6.4.5.2 肝ミクロソームにおける *in vitro* 代謝プロファイル

（資料番号4.2.2.4-2）

[^{14}C]エヌトレクチニブ（2 μmol/L）をマウス，ラット，イヌ，サル又はヒトの肝ミクロソームとともに60分インキュベーションした。

本薬の残存率は33～79%であり，M5及び M7はいずれの種でも検出され，M1，M3及び M13はサルとヒトで生成が認められた。また，M2はヒト試料のみで検出されたが，他の動物種でも痕跡程度は確認された。

表 2.6.4.5.2-1 動物及びヒトミクロソームを用いたエヌトレクチニブの *in vitro* 代謝プロファイル

Species	% of [^{14}C]Entrectinib-Derived Radioactivity								
	M1	M2	M3 [1]	M5	M7	M13 [1]	Others [2]	Entrectinib	Total
Mouse	ND	ND	ND	14.1	6.53	ND	ND	79.3	100
Rat	ND	ND	ND	17.8	8.96	ND	2.30	70.9	100
Dog	ND	ND	ND	29.9	36.5	ND	ND	33.6	100
Monkey	5.05	ND	5.40	40.4	3.77	10.6	2.20	32.6	100
Human	7.48	8.05	1.97	28.4	1.69	5.74	0.108	46.5	100

[1]ラジオクロマトグラムでは重なるため，相対的な比率をマススペクトルの選択的イオンのモニタリング基づいて求め使用した。
[2]同定していないマイナーピークの合計
ND: Not detected

【4.2.2.4-2 Table 2を改変】

2.6.4.5.3 発現系ヒト CYP における代謝関与酵素 (*in vitro*)

（資料番号4.2.2.4-3）

12種類の遺伝子組換えヒト CYP 分子種（CYP1A1，1A2，2A6，2B6，2C8，2C9，2C18，2C19，2D6，2E1，3A4，3A5）と本薬（10 μmol/L）を60 分間インキュベートした結果，本薬の減少率が15%以上であったのは CYP2C9，2C19及び3A4であり，本薬残存率はそれぞれ85，79，56%であった。更に，本薬の代謝物の生成には多くの CYP 分子種（1A1，1A2，2B6，2C8，2C9，2C19，2D6，2E1，3A4，3A5）の関与が認められた。

以上より，ヒトでの本薬の代謝において主要な役割を果たすのは CYP3A4 であること，また，CYP3A4が M5の生成に関与していることも示唆された。

2.6.4.5.4 発現系ヒト UGT における代謝関与酵素 (*in vitro*)

（資料番号4.2.2.4-4）

13種類の遺伝子組換えヒト UGT 分子種（UGT1A1，1A3，1A4，1A6，1A7，1A8，1A9，1A10，2B4，2B7，2B10，2B15，2B17）と[^{14}C]エヌトレクチニブ（2 μmol/L）を 60 分間インキュベートし，ヒト血漿中代謝物である M11の生成を確認した。M11の生成に関与する主要な UGT 分子種は UGT1A4 であることが示唆された。

2.6.4.5.5 ラットにおける *in vivo* 代謝物プロファイル

（資料番号4.2.2.4-5）

[^{14}C]エヌトレクチニブ をラットに20 又は2 mg/kg の用量でそれぞれ単回経口又は単回静脈内投与したときの血漿中及び糞中の代謝物プロファイルを Radio-HPLC を用いて評価した（表 2.6.4.5.5-1）。

経口投与後の血漿中における主要代謝物として，本薬の N–グルクロン酸抱合体である M12 が投与後初期に検出されたが速やかに消失した。一方，静脈内投与後の血漿中では M12は検出されず，ほとんどが本薬として存在した。このため，M12は主に腸管で生成することが示唆された。脱メチル代謝物の M5 は特に静脈内投与後の糞中における主要代謝物であった。なお，LC-MS/MS での測定による M5の血漿中 AUC は血漿中総放射能 AUC の1.6%（静脈内投与

時）及び0.7%（経口投与時）であることが確認されている（表 2.6.4.3.2-3）。本試験のラットでは本薬の代謝プロファイルに明確な性差はみられなかったが，単回経口投与後の M12 は雄の血漿中でより多く検出された。M1 及び M2 の存在が HPLC-MS/MS 分析により確認されたが，放射能プロファイリングでは検出限界未満であった。

表 2.6.4.5.5-1 ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブを経口又は静脈内投与後の血漿中及び糞中代謝物プロファイル

Matrix	Dosing	Sex	Time (h)	% of [^{14}C]Entrectinib-Derived Radioactivity				
				M5	M12	Others [1]	Entrectinib	Total
Plasma	Oral	M	1	ND	90.4	ND	9.57	100
			4	ND	5.99	ND	94.0	100
		F	1	ND	46.3	ND	53.7	100
			4	ND	ND	ND	100	100
	IV	M	0.5	ND	ND	ND	100	100
			4	ND	ND	ND	100	100
		F	0.5	ND	ND	ND	100	100
			4	ND	ND	ND	100	100
Feces	Oral	M	0-24	25.6	ND	1.63	72.7	100
			24-48	19.4	ND	7.26	73.4	100
		F	0-24	20.4	ND	ND	79.6	100
			24-48	28.4	ND	ND	71.6	100
	IV	M	0-24	40.6	ND	9.78	49.6	100
			24-48	71.1	ND	10.2	18.7	100
		F	0-24	36.7	ND	12.6	50.6	100
			24-48	62.9	ND	10.0	27.1	100

[1] M6, M9, M10 及びその他のマイナーな未同定ピークを含む

M: male, F: female, ND: Not detected

【4.2.2.4-5 Table 2を改変】

2.6.4.5.6 イヌにおける *in vivo* 代謝物プロファイル

（資料番号4.2.2.4-6）

雄イヌに[^{14}C]エヌトレクチニブを 10 又は1 mg/kg の用量でそれぞれ単回経口又は単回静脈内投与したときの血漿中及び糞中の代謝物プロファイルを Radio-HPLC を用いて評価した（表 2.6.4.5.6-1）。

脱メチル代謝物の M5 が血漿中の主要代謝物であり，糞中の主要成分であった。M7 及び M4の2種の代謝物が放射能プロファイリングにより別途検出された。また，イヌにおける M1，M2，M3 及び M12 の存在が，HPLC-MS/MS 分析により確認された。

表 2.6.4.5.6-1 イヌに[^{14}C]エヌトレクチニブを経口又は静脈内投与後の血漿中及び糞中代謝物プロファイル

Matrix	Dosing	Time (h)	% of [^{14}C]Entrectinib-Derived Radioactivity				
			M4	M5	M7	Entrectinib	Total
Plasma	Oral	2	ND	38.1	ND	61.9	100
		6	ND	69.9	ND	30.1	100
	IV	0.083[1]	ND	ND	26.9	73.1	100
		2	ND	12.1	ND	87.9	100
		6	ND	46.5	ND	53.5	100
Feces	Oral	6-12	ND	94.8	ND	5.16	100
		12-24	ND	93.7	ND	6.31	100
		24-48	ND	100	ND	ND	100
	IV	12-24	8.20	91.8	ND	ND	100
		24-48	ND	100	ND	ND	100
		48-72	ND	100	ND	ND	100

[1] PK 試験の血漿試料

ND: Not detected

【4.2.2.4-6 Table 6を改変】

2.6.4.5.7 ヒトにおける *in vivo* 代謝物プロファイル

（資料番号5.3.3.1-2）

健康成人男性に[^{14}C]エヌトレクチニブを 600 mg（200 μCi）単回経口投与したときの，血漿中，尿中及び糞中の代謝物プロファイルを Radio-HPLC を用いて評価した。

投与後24時間までの pooled 血漿中では本薬の存在比が68%以上と多く，M5及び M11が血漿中総放射能の10%以上を占める主要な代謝物であった。そのほか，M3及び M7が検出された（表 2.6.4.5.7-1）。

糞中では動物でも認められている M1，M2及び M5が投与量の10%を超える代謝物として検出された。M11は尿中，糞中合わせても検出されたのは投与量の1%未満であった（表 2.6.4.5.7-2）。

表 2.6.4.5.7-1 ヒトに[^{14}C]エヌトレクチニブを経口投与後の血漿中代謝物プロファイル

Time (h)	Percent of Radioactivity Profile (%)				
	M3[a]	M5	M7	M11[a]	Entrectinib
2	ND	ND	ND	ND	100
4	0.215	14.1	2.89	1.60	81.2
8	0.126	9.99	ND	12.5	77.4
0–24 (Pooled)	1.31	11.5	ND	18.6	68.6

ND: not detected.

[a] M3と M11はラジオクロマトグラムでは重なるため，相対的な比率をマススペクトルの選択的イオンのモニタリング基づいて求め使用した。

【5.3.3.1-2 Table 11-6を改変】

表 2.6.4.5.7-2 ヒトに[^{14}C]エヌトレクチニブを経口投与後の尿糞中代謝物プロファイル

Matrix	% of Dose								
	M1	M2	M3[a]	M4	M5	M7	M8	M11[a]	Entrectinib (Parent)
Urine	0.482	0.782	0.0312	ND	0.171	0.279	0.488	0.165	0.663
Feces	14.2	9.45	1.22	0.185	22.1	ND	ND	0.0583	35.7
Total	14.7	10.2	1.25	0.185	22.2	0.279	0.488	0.224	36.4

ND: not detected.

[a] M3と M11はラジオクロマトグラムでは重なるため，相対的な比率をマススペクトルの選択的イオンのモニタリング基づいて求め使用した。

【5.3.3.1-2 Table 11-7を改変】

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 ラット単回投与後の尿糞中排泄

（資料番号4.2.2.2-3）

雌雄ラットに[^{14}C]エヌトレクチニブを20 mg/kg 及び2 mg/kg でそれぞれ単回経口及び静脈内投与した試験において，投与後168時間までの尿糞中への排泄を評価した（表 2.6.4.6.2-1）。

いずれの投与経路においても投与後168時間までに尿糞中にほぼすべての放射能が回収されたが，その多くは投与後48時間までに回収された。尿中排泄率は経口投与及び静脈内投与それぞれ投与量の1%及び2%未満であり，ほとんど（投与量の97%以上）が糞中に排泄された。尿糞中排泄に性差は認められなかった。

2.6.4.6.2 イヌ単回投与後の尿糞中排泄

（資料番号4.2.2.2-5）

雄イヌに[^{14}C]エヌトレクチニブを10 mg/kg 及び1 mg/kg でそれぞれ単回経口及び静脈内投与した試験において，投与後120時間までの尿糞中への排泄を評価した（表 2.6.4.6.2-1）。

投与後120時間までの尿中排泄率は経口投与及び静脈内投与でそれぞれ投与量の約0.4%及び0.6%，糞中排泄率はそれぞれ投与量の約85%及び78%であり，その多くは72時間までに回収された。

表 2.6.4.6.2-1 [^{14}C]エヌトレクチニブ投与後のラット及びイヌにおける放射能の尿糞中排泄

Species	Route	Dose (mg/kg)	Sex	Recovery of Dose (%)	
				Urine	Feces
Rat	IV	2	Male	1.64 ± 0.0375	102 ± 3.51
			Female	1.28 ± 0.165	99.5 ± 5.36
	Oral	20	Male	0.849 ± 0.0464	97.4 ± 2.41
			Female	0.686 ± 0.131	97.7 ± 0.904
Dog	IV	1	Male	0.612 ± 0.124	78.0 ± 6.82
	Oral	10		0.401 ± 0.0498	84.6 ± 0.894

値は3例の平均値 ± 標準偏差を示す。

【4.2.2.2-3 Table 4～Table 7，4.2.2.2-5 Table 9，Table 11より作成】

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 ヒト CYP 酵素に対するエヌトレクチニブ の *in vitro* 阻害能

（資料番号4.2.2.6-1，4.2.2.6-2，4.2.2.6-3，4.2.2.6-11）

ヒト肝ミクロソーム（0.08～0.5 mg protein/mL）あるいは発現系ヒト CYP 酵素を用いて，CYP1A2，2B6，2C8，2C9，2C19，2D6及び3A4の酵素活性に対する本薬（CYP2B6に対しては0.025～25 μmol/L，それ以外に対しては 1～100 μmol/L）の阻害能を *in vitro* で評価した初期の試験（4.2.2.6-1，4.2.2.6-3）では，CYP3A4，2C9及び2D6に対する50%阻害濃度（IC_{50}）値は3～6 μmol/L であり，これら CYP 分子種に対する本薬の阻害能が示唆された。しかしながら，ヒト肝ミクロソーム（0.05～0.25 mg protein/mL）を用いて本薬濃度0.00729～10 μmol/L で詳細に検討したところ，表 2.6.4.7.1-1に示すとおり CYP3A4（IC_{50}値 2 μmol/L）を除き阻害は認められなかった（4.2.2.6-11）。

また，ヒト肝ミクロソーム（1 mg protein/mL）を用いて本薬50 μmol/L における時間依存的な CYP1A2，2B6，2C8，2C9，2C19，2D6及び3A4への阻害能を評価した初期の試験（4.2.2.6-2）では，いずれの CYP 分子種においても時間依存的な阻害作用の可能性は低いことが示唆された。しかし，ヒト肝ミクロソーム（0.05～0.25 mg protein/mL）を用いて本薬濃度0.00729～10 μmol/L で新たに実施した試験（4.2.2.6-11）では，CYP3A4に時間依存性の阻害が認められた。

以上より，本薬による CYP3A4の阻害作用が懸念されたことから，CYP3A4の基質として midazolam を用いた臨床薬物相互作用試験が実施されている（2.7.2.2.2.2参照）。

表 2.6.4.7.1-1 エヌトレクチニブのヒト CYP 酵素に対する阻害能

	Reversible inhibition	Time-plus NADPH-dependent inhibition
CYP (probe substrate)	IC_{50} (μmol/L)	Signal[a]
1A2	> 10	No
2B6	> 10	No
2C8	> 10	No
2C9	> 10	No
2C19	> 10	No
2D6	> 10	No
3A4 (Midazolam)	> 10	No
3A4 (Testosterone)	2.04	Yes

[a] A signal was determined by a >50% dectease in IC_{50}. If IC_{50} values could not be determined, a signal was determined by a decrease in the % remaining activity to <75% of the % remaining activity in the comparator curve

【4.2.2.6-11 Table 2 より作成】

2.6.4.7.2 ヒト CYP 酵素に対する M5の *in vitro* 阻害能

（資料番号4.2.2.6-4）

ヒト肝ミクロソーム（0.0125～0.1 mg protein/mL）を用いて，CYP1A2，2B6，2C8，2C9，2C19，2D6及び3A4/5の酵素活性に対する血漿中の主要な代謝物である M5（0.025～25 μmol/L）の阻害能を *in vitro* で評価した。

M5の IC_{50}値は CYP2C8（4.9 μmol/L）を除き10 μmol/L 以上であり，親化合物である本薬に比べ，阻害能は弱いことが示唆された。また，臨床でエヌトレクチニブを600 mg 連日投与する場合の想定される血漿中 M5の C_{max}（1.56 μmol/L，RXDX-101-01試験（STARTREK-1）F2A

製剤600 mg 投与群でのサイクル1 Day14，算術平均値）の非結合型濃度は，fu を1%とした場合，0.0156 μmol/L であり，上述した CYP2C8に対する IC_{50}値の1/300以下であるため，本薬投与によって CYP2C8の基質との相互作用を起こす可能性は低いと考えられる。プレインキュベーション（30分）を加えた検討により，時間依存的な阻害作用の可能性はいずれの分子種においても低いことが示唆された。

表 2.6.4.7.2-1 M5のヒト CYP 酵素に対する阻害能

CYP (probe substrate)	IC_{50} (μmol/L)
1A2	> 25
2B6	17
2C8	4.9
2C9	> 25
2C19	> 25
2D6	21
3A4/5 (Midazolam)	15
3A4/5 (Testosterone)	12

【4.2.2.6-4 Table 3 を改変】

2.6.4.7.3 ヒト CYP 酵素に対するエヌトレクチニブ の *in vitro* 誘導能

（資料番号4.2.2.6-5, 4.2.2.6-6）

凍結ヒト肝細胞を用いて，本薬（1, 10及び100 μmol/L）を24時間曝露したときの CYP1A2, 2B6, 3A4に対する酵素誘導能，更に，本薬（1，3，10，30，60及び100 μmol/L）を3日間曝露したときの CYP1A2, 2C8, 2C9, 2C19及び3A に対する酵素誘導能を，mRNA 発現量あるいは酵素活性を指標として *in vitro* で評価した。臨床での C_{max} に近い3及び10 μmol/L での結果を表2.6.4.7.3-1に示す。

本薬は CYP1A2，2B6及び2C19に対する *in vitro* 誘導能がないこと，また，CYP3A，2C8，2C9に対する *in vitro* 誘導能を有する可能性が示唆された。CYP3A に対する誘導能は活性に変化がないことから弱いものと考えられるが，阻害能の検討も併せ，midazolam を用いた臨床薬物相互作用試験が実施されている（2.7.2.2.2.2参照）。

表 2.6.4.7.3-1 CYP 酵素の mRNA 及び酵素活性に対するエヌトレクチニブの誘導能

CYP Enzyme	Mean Fold Change Based on CYP mRNA		Relative Effectiveness Based on CYP mRNA		Relative Effectiveness Based on CYP Activity	
	3 μmol/L	10 μmol/L	3 μmol/L	10 μmol/L	3 μmol/L	10 μmol/L
CYP3A	2.63	7.22	12.5%	47.9%	No significant change	No significant change
CYP2C8	2.08	4.24	30.8%	90.2%	NE	NE
CYP2C9	1.87	3.46	38.3%	109%	NE	NE
CYP2C19	NE	NE	NE	NE	No significant change	No significant change
CYP2B6	NE	No significant change	NE	NE	NE	NE
CYP1A2	No significant change	No significant change	No significant change	No significant change	No significant change	No significant change

NE: Not evaluated

Fold Change

$$= \frac{Enzymatic\ rate\ of\ each\ treatment\ group}{Enzymatic\ rate\ of\ each\ treatment\ group\ the\ vehicle\ control}$$

Relative Effectiveness (Percent positive control,%)

$$= \frac{(Fold\ change\ of\ test\ article\ treated\ cells - Fold\ change\ of\ vehicle\ control)}{(Fold\ change\ of\ positive\ control - Fold\ change\ of vehicle\ control)} \times 100$$

【4.2.2.6-6 Summary table of mean results を改変】

2.6.4.7.4 ヒト CYP 酵素に対する M5の *in vitro* 誘導能

（資料番号4.2.2.6-7）

凍結ヒト肝細胞を用いて，M5（0.1, 0.5, 2.5, 10, 25及び50 μmol/L）を3日間曝露したときのCYP1A2, 2B6, 2C19 及び3A4/5に対する酵素誘導能を，mRNA 発現量及び酵素活性を指標として *in vitro* で評価した。結果を表 2.6.4.7.4-1に示す。

M5は10 μmol/L で CYP2B6に対して陽性対照の20%以上の mRNA 発現量上昇を示す *in vitro* 誘導能が認められたが， CYP1A2，2C19及び3A4/5に対する *in vitro* 誘導能はほとんどないことが示唆された。

表 2.6.4.7.4-1 CYP 酵素の mRNA 及び酵素活性に対する M5の誘導能

CYP Enzyme	Relative Effectiveness Based on CYP mRNA			Relative Effectiveness Based on CYP Activity		
	0.5 µmol/L	2.5 µmol/L	10 µmol/L	0.5 µmol/L	2.5 µmol/L	10 µmol/L
CYP3A4/5	1.16%	5.90%	16.5%	1.25%	4.61%	5.42%
CYP2C19	NE	NE	NE	-1.21%	-3.22%	-9.87%
CYP2B6	4.22%	19.3%	26.5%	2.98%	9.02%	9.56%
CYP1A2	0.220%	1.22%	1.70%	0.575%	1.30%	0.445%

NE: Not evaluated

Relative Effectiveness (Percent positive control,%)

$$= \frac{(Fold\ change\ of\ test\ article\ treated\ cells - Fold\ change\ of\ vehicle\ control)}{(Fold\ change\ of\ positive\ control - Fold\ change\ of vehicle\ control)} \times 100$$

【4.2.2.6-7 Summary table of mean results を改変】

2.6.4.7.5 トランスポーターを介した *in vitro* 輸送

（資料番号4.2.2.6-8，4.2.2.6-9，4.2.2.6-10，4.2.2.6-12，4.2.2.6-13）

主要なヒトトランスポーターに対して本薬（0.03～30 µmol/L）及び M5（0.1～15 あるいは 0.1～30 µmol/L）が基質となる可能性及びそれらを阻害する可能性を Caco-2細胞及び各トランスポーターの発現系細胞を用いて評価した。結果を表 2.6.4.7.5-1に示す。

本薬は P-gp の基質であり，BCRP，OATP1B1及び OATP1B3の基質ではないことが示唆された（4.2.2.6-8）。一方，M5は P-gp 及び BCRP の基質であり，OATP1B1，OATP1B3及び有機カチオントランスポーター（OCT）1の基質ではないことが示唆された（4.2.2.6-9）。

なお，本薬はヒトあるいはマウスの P-gp 発現系細胞での検討で高い Efflux ratio（ER）を示すものの，頂端膜側から基底膜側への本薬の透過性（P_{app} (A-to-B)）は，陽性対照薬である digoxin や crizotinib とは異なり，P-gp 阻害剤（zosuquidar）にはほとんど影響されなかった（表 2.6.4.7.5-2，4.2.2.6-12）。この傾向は Caco-2細胞を用いた試験（2.6.4.3.1）でも認められていること，また，本薬の脳への移行性が動物試験においても確認されていること（2.6.4.4.5）から，本薬はヒト及びげっ歯類の P-gp に対して弱い基質であると推察された。

本薬による輸送の阻害が P-gp，BCRP，胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP），MATE1及び MATE2-K で認められた。IC_{50}値はそれぞれ，1.33，3.02，13.3，1.10及び19.4 µmol/L であった。また，OATP1B1も本薬により阻害され，プローブ基質として pitavastain，rosuvastatin 及び estradiol 17-beta glucuronide 用いた場合の IC_{50}値はそれぞれ3.89，4.22及び6.46 µmol/L であった（4.2.2.6-8，4.2.2.6-13）。 OATP1B3，有機アニオントランスポーター(OAT)1，OAT3，OCT1及び OCT2による輸送を本薬は阻害しなかった（4.2.2.6-8，4.2.2.6-10）。

M5による輸送の阻害は P-gp，BCRP，MATE1及び MATE2-K で認められ，IC_{50}値はそれぞれ，10.1，8.35，0.642及び3.14 µmol/L であった。一方，OATP1B1，OATP1B3，BSEP， OAT1，OAT3，OCT1及び OCT2による輸送を M5は阻害しなかった（4.2.2.6-10）。

表 2.6.4.7.5-1 ヒトトランスポーターに対するエヌトレクチニブ及び M5の評価

Transporter	Entrectinib		M5	
	Substrate	IC_{50} (μmol/L)	Substrate	IC_{50} (μmol/L)
P-gp	Yes (poor)	1.33	Yes	10.1
BCRP	No	3.02	Yes	8.35
OATP1B1	No	6.46	No	>30
OATP1B3	No	> 30	No	>30
OAT1	NE	> 30	NE	>30
OAT3	NE	> 30	NE	>30
OCT1	NE	> 30	No	>30
BSEP	NE	13.3	NE	>30
OCT2	NE	> 30	NE	>30
MATE1	NE	1.10	NE	0.642
MATE2-K	NE	19.4	NE	3.14

NE: Not evaluated

【4.2.2.6-8，4.2.2.6-9，4.2.2.6-10 より作成】

表 2.6.4.7.5-2 エヌトレクチニブ及び M5のマウス及びヒト P-gp 発現細胞透過性

Cell-line	Substrates	Inhibitors	Permeability P_{app} (nm/s)		Efflux ratio
			P_{app} A-to-B	P_{app} B-to-A	P_{app}BA / P_{app}AB
Entrectinib					
L-MDR1	Digoxin (0.015 μmol/L)	-	10.9 ± 0.7	121 ± 7.3	11.1 ± 1.0
		Zosuquidar (1 μmol/L)	42.0 ± 2.3	67.0 ± 0.9	1.60 ± 0.1
	Crizotinib (1 μmol/L)	-	13.8 ± 0.3	388 ± 17.0	28.1 ± 1.4
		Zosuquidar (1 μmol/L)	47.9 ± 10.5	52.3 ± 1.0	1.09 ± 0.2
	Entrectinib (1 μmol/L)	-	13.5 ± 3.4	197 ± 4.5	14.6 ± 3.7
		Zosuquidar (1 μmol/L)	15.2 ± 1.9	30.0 ± 2.1	1.98 ± 0.3
L- Mdr1a	Digoxin (0.015 μmol/L)	-	12.2 ± 1.0	125 ± 2.8	10.2 ± 0.8
		Zosuquidar (1 μmol/L)	41.0 ± 3.8	88.0 ± 2.0	2.20 ± 0.2
	Crizotinib (1 μmol/L)	-	12.0 ± 1.5	345 ± 16.8	28.7 ± 3.8
		Zosuquidar (1 μmol/L)	58.6 ± 15.6	91.9 ± 3.2	1.57 ± 0.4
	Entrectinib (1 μmol/L)	-	9.90 ± 0.4	256 ± 19.4	25.8 ± 2.2
		Zosuquidar (1 μmol/L)	14.6 ± 0.9	29.0 ± 3.2	1.99 ± 0.3
M5					
L-MDR1	Edoxaban (1 μmol/L)	-	11.0 ± 3.6	407 ± 8.2	37.1 ± 12.1
		Zosuquidar (1 μmol/L)	98.2 ± 5.5	162 ± 21.0	1.65 ± 0.2
	M5 (1 μmol/L)	-	2.70 ± 0.3	146 ± 10.0	54.0 ± 6.7
		Zosuquidar (1 μmol/L)	13.5 ± 1.2	30.4 ± 7.2	2.25 ± 0.6
L- Mdr1a	Edoxaban (1 μmol/L)	-	11.4 ± 4.3	262 ± 17.6	23.0 ± 8.8
		Zosuquidar (1 μmol/L)	86.6 ± 4.7	159 ± 9.1	1.84 ± 0.1
	M5 (1 μmol/L)	-	2.60 ± 0.4	102 ± 2.0	39.4 ± 6.5
		Zosuquidar (1 μmol/L)	12.0 ± 0.7	30.7 ± 3.6	2.56 ± 0.3

Data are the mean of triplicates ± SD.

【4.2.2.6-12 Table2，Table 3 を改変】

ヒト定常状態での C_{max}（$C_{max,ss}$）との対比，あるいは「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」（2018年）及び薬物相互作用試験に関する FDA ドラフトガイダンス（2017年）を考慮して，臨床において本薬投与によりトランスポーターが阻害される可能性を評価した。ヒトに600 mg を1日1回反復投与時の $C_{max,ss}$ は RXDX-101-01試験（STARTREK-1）の F2A 製剤600 mg 投与群でのサイクル1 Day14の結果より，エヌトレクチニブ及びM5でそれぞれ3.72 μmol/L 及び1.56 μmol/L（いずれも算術平均値）とし，評価に用いた。

BSEP については，M5は阻害作用を示さず，本薬の IC_{50}値13.3 μmol/L は臨床での本薬の $C_{max,ss}$ 3.72 μmol/L（fu を1%とした場合の非結合型濃度は0.0372 μmol/L）より十分高いことから，臨床上，本薬投与より BSEP を介する輸送を阻害する可能性は極めて低いと評価した。

P-gp，BCRP，OATP1B1，MATE1及び MATE2-K については，上述の薬物相互作用に関するガイドライン・ガイダンスに沿った評価を実施した。各トランスポーターに対する指標の算出結果を表 2.6.4.7.5-3に示す。計算に際し，血漿中 fu（fu_p）は，本薬及び M5ともにヒト血漿中蛋白結合率が99%以上であることから偽陰性の予測を避けるため fu_p = 0.01とした。また，理論値として肝血流速度（Qh）＝ 97 L/h/70 kg，消化管アベイラビリティ（FaFg）= 1及び吸収速度定数（ka）= 0.1を計算に用いた。

表 2.6.4.7.5-3 エヌトレクチニブ及び M5のヒトトランスポーター阻害に関する薬物相互作用の評価

Transporter	Entrectinib		M5	
	IC_{50} (μmol/L)	IVIVE	IC_{50} (μmol/L)	IVIVE
P-gp	1.33	I_2/IC_{50} = 3218 (in GI) $I_{unbound}/IC_{50}$ = 0.028 (in systemic)	10.1	$I_{unbound}/IC_{50}$ = 0.002
BCRP	3.02	I_2/IC_{50} = 1417 (in GI) $I_{unbound}/IC_{50}$ = 0.012 (in systemic)	8.35	$I_{unbound}/IC_{50}$ = 0.002
OATP1B1	6.46	R = 1.1	—	N/A
MATE1	1.10	$I_{unbound}/IC_{50}$ = 0.034	0.642	$I_{unbound}/IC_{50}$ = 0.024
MATE2-K	19.4	$I_{unbound}/IC_{50}$ = 0.002	3.14	$I_{unbound}/IC_{50}$ = 0.005

IVIVE: *in vitro*-i*n vivo* extrapolation, N/A: Not applicable

For intestinal P-gp and BCRP: I_2/IC_{50} is applied (≥10), where I_2 = oral dose of inhibitor (600 mg = 1070 μmol)/250 mL is the intestinal luminal concentration.

For hepatic OATP1B1: $R = 1 + ((fu_p \times I_{in,max})/IC_{50}) \geq 1.1$, where $I_{in,max}$ ($=C_{max}+ k_a \times Dose \times F_aF_g/Q_h$) is the concentration at the inlet to the liver.

For systemic interactions, the parameter $I_{unbound}/IC_{50}$ is applied (≥0.02 for MATE1 and MATE2-K), where $I_{unbound}$ is the steady-state unbound plasma C_{max}.

本薬が難溶性薬物であることを考慮すると，I_2を過大評価している可能性はあるものの，P-gp 及び BCRP については I_2/IC_{50}は閾値の10を大幅に超えており，臨床において本薬が腸管での輸送を阻害し，薬物相互作用が生じる可能性が認められた。また，P-gp 及び BCRP については，腸管以外の相互作用の指標は，上述のガイドライン・ガイダンス等には設けられてはいないが，$I_{unbound}/IC_{50}$は0.1未満と十分低いことから，体循環に存在する本薬及び M5により薬物相互作用を生じる可能性はほとんどないことが示唆された。

MATE1及び MATE2-K に対しては，$I_{unbound}/IC_{50}$ の閾値0.02以上の場合に臨床での薬物相互作用の可能性があることから，本薬及び M5は臨床で MATE1を介する輸送を阻害する可能性が

あり，一方で，MATE2-K に対する阻害の可能性はほとんどないことが示唆された。

OATP1B1に対しては，算出した R は閾値1.1と同程度であり，臨床で弱い相互作用が生じる可能性が考えられた。

以上より，臨床上，本薬の投与により P-gp，BCRP，OATP1B1及び MATE1を介する薬物の輸送を阻害する可能性が示唆された。P-gp の基質である digoxin を用いた臨床薬物相互作用試験が実施されている（2.7.2.2.2.2参照）。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1 結晶多形

（資料番号4.2.2.7-1）

本薬の開発過程において，本薬の結晶形として Form I（GLP-Tox 使用，Form B）及びより安定な Form II（臨床適用，Form A）が確認された。結晶形の違いによる PK への影響を確認するため，雄イヌ4例に本薬の Form I 及び Form II の懸濁液をそれぞれ60 mg/kg の用量で1週間の休薬期間を設けて交互に単回経口投与した。2つの結晶形投与後の本薬の PK パラメータは同様であった。

表 2.6.4.8.1-1 イヌに Form I あるいは Form II 単回経口投与後の PK パラメータ比較

Parameter (unit)	Form I	Form II
T_{max} (h)	2.75 ± 1.50	3.00 ± 1.15
C_{max} (μmol/L)	2.27 ± 0.49	2.65 ± 1.15
AUC_{inf} (μmol/L•h)	40.3 ± 7.94	39.4 ± 20.9
$t_{1/2}$ (h)	8.58 ± 2.30	6.85 ± 1.66

値は4例の平均値 ± 標準偏差を示す。

【4.2.2.7-1 Table 1を改変】

2.6.4.8.2 食餌の影響

（資料番号4.2.2.7-2，4.2.2.7-3）

雌イヌ6例に本薬の錠剤（500 mg）あるいはカプセル剤（200 mg）を絶食下及び摂餌下約60 mg/kg の用量で順次単回経口投与した最初の試験（4.2.2.7-2）では，摂餌下での本薬の曝露量は絶食下の約2倍であった。しかし，カプセル剤（200 mg）を絶食下及び摂餌下に約60 mg/kg の用量で順次単回経口投与した別試験（4.2.2.7-3）では，摂餌下での曝露量は絶食時との比較で C_{max} は1.4倍，AUC では1.2倍程度であった。これらの結果から，食餌の影響は顕著ではないことがイヌで示唆された。

表 2.6.4.8.2-1 イヌにエヌトレクチニブ単回経口投与時の食餌の影響

(1) 4.2.2.7-2

パラメータ	単位	カプセル (52～72 mg/kg)		錠剤 (48～70 mg/kg)	
		絶食	摂餌	絶食	摂餌
T_{max}	h	5.33 ± 9.16	3.67 ± 0.816	12.7 ± 12.4	4.17 ± 3.13
C_{max}/dose	nmol/L/mg/kg	23.5 ± 14.5	47.4 ± 12.6	15.2 ± 8.68	45.9 ± 4.56
AUC_{last}/dose	nmol/L•h/mg/kg	298 ± 162	603 ± 173	261 ± 130	706 ± 141
$t_{1/2}$	h	6.94 ± 0.798[a]	9.89 ± 2.90	9.53 ± 2.47	9.61 ± 1.84
AUC_{inf}/dose	nmol/L•h/mg/kg	353 ± 102[a]	604 ± 173	263 ± 128	708 ± 141

(2) 4.2.2.7-3

パラメータ	単位	カプセル (50～64 mg/kg)	
		絶食	摂餌
T_{max}	h	5.83 ± 8.95	4.83 ± 2.71
C_{max}/dose	nmol/L/mg/kg	44.1 ± 19.6	55.1 ± 18.9
AUC_{last}/dose	nmol/L•h/mg/kg	857 ± 309	831 ± 304
$t_{1/2}$	h	7.83 ± 3.37	6.02 ± 1.24
AUC_{inf}/dose	nmol/L•h/mg/kg	860 ± 308	831 ± 304

値は6例の平均値 ± 標準偏差を示す（[a]n=5）。

【4.2.2.7-2 SUMMARY，4.2.2.7-3 SUMMARY より作成】

2.6.4.9 考察及び結論

エヌトレクチニブの吸収，分布，代謝及び排泄の評価は，主として非臨床毒性試験に使用したラット及びイヌを用い，また，一部の試験では薬効薬理試験で使用したマウスを用いて実施した。ヒトにおける血漿蛋白結合，代謝及び薬物相互作用に関しては，ヒト由来試料を用いて *in vitro* で評価した。

マウス，ラットあるいはイヌに単回経口投与後，本薬の血漿中濃度は，いずれの動物種においても多くの投与群で投与後3時間前後に C_{max} に達し，2～4時間の $t_{1/2}$で消失した。マウス，ラット及びイヌでの F は31～76%の範囲であり，吸収性は比較的良好であった。本薬10 mg/kg 単回静脈内投与試験において，CL は肝血流量に対してマウス，ラット及びイヌでそれぞれ約0.15倍，0.3～0.4倍及び0.55倍であったことから，本薬のクリアランスはマウスでは小さく，ラット及びイヌでは中程度であった。分布容積はいずれの動物種においても体内水分量より約5～10倍大きいことから，本薬の組織移行性が高いことが推察され，このことは，[^{14}C]エヌトレクチニブを投与したラット QWBA 試験において比較的高い放射能が体内に広く分布したことと一致した。

マウス，ラット及びイヌに反復経口投与した試験での曝露量は，いずれの動物種も概ね用量に比例して増加した。ラット及びイヌにおいて最長で13週間の反復投与により，曝露量の軽度な上昇（多くの投与群で約2倍以内）がみられた。本薬の曝露量は，ラットでは雌の方が雄より高いもののその差は2倍以内であり，イヌでは明らかな性差は認められなかった。幼若ラットの初回投与（PND 7）では，成熟ラットを用いた13週間連日投与試験の初回投与時に比べ曝露量が高く，性差も認められなかった。しかし PND 97では，曝露量の低下がみられ，成熟ラ

ットでの試験と同様な曝露量と性差を示した。

上述した本薬の単回及び反復投与試験においては，活性代謝物 M5（脱メチル体）の生成がラット及びイヌともに認められた。M5生成の割合はイヌのほうがラットより多く，[^{14}C]エヌトレクチニブを単回経口投与したラット及びイヌでの血漿中 M5は血漿中総放射能との AUC 比でそれぞれ1%未満及び27%であった。本薬の13週間連日経口投与毒性試験での，M5の本薬に対する AUC 比はラットで0.13以下，イヌで1～3であり，M5がイヌ循環血中の主要な代謝物であることが示唆された。ラット及びイヌにおける M5の $t_{1/2}$は本薬より2~3倍程度長かった（表 2.6.4.3.2-2，表 2.6.4.3.2-5）。また，ヒト肝細胞での固有クリアランスも本薬の1/2程度と低かったことから，M5の体内からの消失は未変化体である本薬より緩徐であることが推察された。

ヒト血漿を用いた *in vitro* 血漿蛋白結合試験において，本薬及び M5の非結合型分率は濃度によらず1%未満であり，動物血漿においてもほぼ同様な値を示した。ヒト及びげっ歯類の *in vitro* での検討では，本薬及び M5の血液／血漿分配比は1.0～2.0であり，いずれも血球への移行性が示唆された。 [^{14}C]エヌトレクチニブを単回経口投与したラット及びイヌでは血液中の放射能の AUC が血漿中より2.5倍程度高く，本薬由来物質の血球への移行性が認められた。

白色ラット又は有色ラットを用いた[^{14}C]エヌトレクチニブ単回経口投与 QWBA 試験では，ラットの系統によらず，放射能は広く同程度に組織に分布し，ほとんどの組織では投与後8時間までに最高値を示した。有色ラットでは白色ラットに比べ，メラニン含有組織，特にブドウ膜で放射能が著しく高かったものの，その放射能は投与後72時間から168時間にかけて緩やかに低下したことから，メラニン含有組織への移行は可逆的であると推察された。本 QWBA 試験では，大脳や小脳ではほとんど放射能が検出下限（179 ng eq/g，0.32 µmol/L）未満であったものの，本薬を反復経口投与後24時間のマウス，ラット及びイヌより採取した脳組織を LC-MS/MS 法（検出下限 20 ng/g）で測定したところ，本薬の脳組織中濃度と血漿中濃度の比（脳／血漿）はそれぞれ0.38～0.43，0.57～1.1及び 1.4～2.2であったこと，またラットに本薬を単回経口投与した際の，本薬及び M5の AUC の脳／血漿比はそれぞれ0.219及び0.315であったことより，経口投与後，本薬及び M5が脳組織に移行することが示唆された。本薬をラットに点滴持続静脈内投与した試験では，点滴開始後6時間で脳組織中/血漿中濃度比は0.6に達しており，その際の血漿中濃度は約1.4 µmol/L で，臨床で600 mg を連日投与した際の平均濃度2.0 µmol/L（RXDX-101-01試験における F2A 製剤600 mg 投与群の定常状態時 AUC 平均値 48.0 µmol/L•h/24h より算出）と同程度であった。CSF 中の本薬濃度は点滴開始後5，6時間で約1 nmol/L であり，定常状態に近い脳組織での非結合型濃度から予想された濃度の1/3程度であった。しかし，これらの脳組織中非結合型の濃度（1~3 nmol/L）は TRK 及び ROS1の IC_{50}値（それぞれ0.1～1.7 nmol/L 及び0.2 nmol/L，2.6.2.2.1 (1)）を上回っており， KM12-Luc 細胞頭蓋内移植モデルマウスで腫瘍増殖抑制及び生存率の改善が1日1回30 mg/kg 投与（$AUC_{0\text{-}24h}$/24h として算出した平均血漿中濃度 約2 µmol/L）で認められたことと一致した。

動物（マウス，ラット，イヌ及びサル）及びヒトの肝ミクロソーム並びに肝細胞を用いた *in vitro* 試験において，本薬は穏やかに代謝された。主要な代謝過程は脱メチル化，酸化，グルクロン酸抱合であった。ヒト UGT1A4で生成すると推察される N–グルクロン酸抱合体 M11を除き，ヒト試料で認められた主要な代謝物は毒性試験の動物種であるラット及びイヌでも認められた。また，ヒト由来試料を用いた検討で，本薬のヒトでの代謝には種々の CYP 分子種が関与しているが，その中でも CYP3A4の寄与が大きいこと，また CYP3A4は M5の生成にも関与していることが示唆された。本薬経口投与後の主要代謝物は，ラット血漿中及び糞中でそれぞれ M12（N–グルクロン酸抱合体）及び M5であり，イヌではともに M5であった。なお，経口投与後のラット血漿中に認められた M12は，ラット静脈内投与後の生体試料や *in vitro* 試験では検出されなかったことから，主に腸管で生成するものと推察された。

ラット及びイヌにおける[^{14}C]エヌトレクチニブ単回経口及び静脈内投与後の放射能の尿糞中

排泄より，本薬は吸収後，本薬及び代謝物としてそのほとんどが糞中に排泄されること，並びにそれらの体内からの消失に腎排泄の寄与は小さいことが示唆された。

In vitro での検討により，本薬は投与後，主に CYP3A4で代謝を受けるとともに，CYP3A4を阻害する可能性，また，CYP3A4を誘導する可能性が示唆された。本薬は弱い P-gp の基質であり，M5は P-gp 及び BCRP の基質であると考えられた。本薬投与により P-gp，BCRP, OATP1B1並びに MATE1による輸送が阻害される可能性が示唆された。臨床での薬物相互作用試験として，itraconazol（CYP3A4阻害薬）あるいは riphampicin（CYP3A4誘導薬）併用による本薬の薬物動態への影響，midazolam（CYP3A4基質）併用による midazolam の薬物動態への影響，及び digoxin（P-gp 基質）との併用による digoxin の薬物動態への影響が評価されている（2.7.2.2.2.2）。

以上， 本薬の薬物動態学的な特徴は，ラット及びイヌが非臨床安全性評価に適した動物種であること，及び本薬ががん患者の治療に使用可能であることを支持している。

2.6.4.10 図表

本文中に記載した。

2.6.4.11 参考文献

1） Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res 1993;10:1093-5.

2） Allegaert K, Vanhaesebrouck S, Verbesselt R, van den Anker JN. *In vivo* glucuronidation activity of drugs in neonates: extensive interindividual variability despite their young age. Ther Drug Monit 2009;31:411–5.

3） de Zwart L, Scholten M, Monbaliu JG, Annaert PP, Van Houdt JM, Van den Wyngaert I, et al. The ontogeny of drug metabolizing enzymes and transporters in the rat. Reprod Toxicol. 2008;26:220-30.

4） Johnson TN, Tanner MS, Tucker GT. A comparison of the ontogeny of enterocytic and hepatic cytochromes P450 3A in the rat. Biochem Pharmacol. 2000;60:1601-10.

5） Belli S, Assmus F, Wagner B, Honer M, Fischer H, Schuler F, et al. Estimation of drug binding to brain tissue: Methodology and *in vivo* application of a distribution assay in brain polar lipids. Mol Pharm. 2015;12:4529-41.

ロズリートレクカプセル100 mg
ロズリートレクカプセル200 mg
（エヌトレクチニブ）

第2部　（モジュール2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.5 薬物動態試験概要表

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours	0から24時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the plasma concentration–time curve from 0 to the last measurable time point	0から最終濃度確認時点までの血漿中濃度–時間曲線下面積
AUC_{inf}	area under the plasma concentration–time curve from time zero to extrapolated infinity	0から無限時間までを外挿した血漿中濃度–時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
BSEP	bile salt export protein	胆汁酸塩排出ポンプ
Caco-2	Continuous cell of heterogeneous human epithelial colorectal adenocarcinoma cells	—
CL	total clearance	全身クリアランス
C_{max}	maximum (peak) plasma concentration	最高血漿中薬物濃度
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
eq	equivalent of [^{14}C]entrectinib	[^{14}C]entrectinib 当量
F	bioavailability	バイオアベイラビリティ
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HLM	human liver microsomes	—
IC_{50}	half maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
IV	intravenous	静脈内
LC-MS/MS	liquid chromatography–tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム型質量分析
LSC	liquid scintillation counter	液体シンチレーションカウンター
MATE	multidrug and toxin extrusion	—
MDCKII	Madin- Darby canine kidney II	—
NADPH	β-Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form.	—
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
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白
PK	pharmacokinetics	薬物動態
PO	per os	経口
QWBA	quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中薬物濃度到達時間
UGT	UDP-Glucuronosyltransferase	UDP–グルクロノシルトランスフェラーゼ
V_{ss}	volume of distribution at steady-state	定常状態における分布容積

目次

頁
2.6.5 薬物動態試験概要表 6
2.6.5.1 薬物動態試験一覧表 6
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 10
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 15
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 22
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 52
2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合 65
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 68
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 69
2.6.5.9 薬物動態試験：*In Vivo* における代謝 75
2.6.5.10 薬物動態試験：*In Vitro* における代謝 78
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 86
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 87
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 88
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 90
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 107

図一覧

該当なし

表一覧

表 2.6.5.1-1 薬物動態試験一覧 6
表 2.6.5.2-1 分析法及びバリデーション一覧 10
表 2.6.5.3-1 マウス単回経口又は静脈内投与試験 15
表 2.6.5.3-2 ラット単回経口又は静脈内投与試験 16
表 2.6.5.3-3 ラット単回経口又は静脈内投与試験 17
表 2.6.5.3-4 イヌ単回経口又は静脈内投与試験 19
表 2.6.5.3-5 イヌ単回経口又は静脈内投与試験 20
表 2.6.5.4-1 マウス 5 日間連日経口投与 22
表 2.6.5.4-2 マウス 2 週間連日経口投与 23
表 2.6.5.4-3 KM12-Luc 細胞頭蓋内移植マウスモデル連日経口投与 24
表 2.6.5.4-4 KM12-Luc 細胞皮下移植マウスモデル連日経口投与 30
表 2.6.5.4-5 ラット 4 週間間欠経口投与 39
表 2.6.5.4-6 ラット 4 週間連日経口投与 40
表 2.6.5.4-7 ラット 13 週間連日経口投与 42
表 2.6.5.4-8 幼若ラット 13 週間連日経口投与 44
表 2.6.5.4-9 イヌ 4 週間間欠経口投与 46
表 2.6.5.4-10 イヌ 4 週間連日経口投与 48
表 2.6.5.4-11 イヌ 13 週間連日経口投与 50
表 2.6.5.5-1 白色ラット単回経口投与後の組織中濃度 52
表 2.6.5.5-2 有色ラット単回経口投与後の組織中濃度 58
表 2.6.5.5-3 ラット単回経口投与後の血漿・血液濃度比 64
表 2.6.5.6-1 *In vitro* 血漿蛋白結合（entrectinib） 65
表 2.6.5.6-2 *In vitro* 血漿蛋白結合（M5） 66
表 2.6.5.6-3 *In vitro* 血漿蛋白結合（entrectinib 及び M5） 67
表 2.6.5.8-1 *In vitro* 血球移行並びにヒト肝細胞及びヒト肝ミクロソーム試料への結合性 69
表 2.6.5.8-2 *In vivo* 血球移行 70
表 2.6.5.8-3 脳への移行性（ラット経口投与） 72
表 2.6.5.8-4 脳への移行性（ラット点滴静脈内投与） 73
表 2.6.5.8-5 LIMBA による脳組織への結合性 74
表 2.6.5.9-1 ラット血漿中及び糞中代謝物プロファイル 75
表 2.6.5.9-2 イヌ血漿中及び糞中代謝物プロファイル 76
表 2.6.5.9-3 ヒト血漿中及び尿糞中代謝物プロファイル 77
表 2.6.5.10-1 肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験 78

表 2.6.5.10-2 ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験 （固有クリアランス）.....80
表 2.6.5.10-3 ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験（120 分間インキュベーション）.....81
表 2.6.5.10-4 肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験.....82
表 2.6.5.10-5 発現系ヒト CYP 及びヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験.....83
表 2.6.5.10-6 発現系ヒト UGT 及びヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験 (UGT Phenotyping).....85
表 2.6.5.13-1 ラットにおける尿糞中排泄.....88
表 2.6.5.13-2 イヌにおける尿糞中排泄.....89
表 2.6.5.15-1 ヒト肝ミクロソームを用いたヒト CYP 代謝酵素に対する entrectinib の阻害作用.....91
表 2.6.5.15-2 ヒト肝ミクロソームを用いたヒト CYP 代謝酵素に対する entrectinib の時間依存的阻害作用.....92
表 2.6.5.15-3 ヒト肝ミクロソームを用いたヒト CYP2B6 代謝酵素に対する entrectinib の阻害作用.....93
表 2.6.5.15-4 ヒト肝ミクロソームを用いたヒト CYP 代謝酵素に対する entrectinib の阻害作用（追加）.....94
表 2.6.5.15-5 ヒト肝ミクロソームを用いたヒト CYP 代謝酵素に対する M5 の阻害作用.....96
表 2.6.5.15-6 ヒト肝細胞を用いたヒト CYP 代謝酵素に対する entrectinib の誘導作用.....97
表 2.6.5.15-7 ヒト肝細胞を用いたヒト CYP 代謝酵素に対する entrectinib の誘導作用.....98
表 2.6.5.15-8 ヒト肝細胞を用いたヒト CYP 代謝酵素に対する M5 の誘導作用.....99
表 2.6.5.15-9 Caco-2 単層膜透過性.....100
表 2.6.5.15-10 MDR1 あるいは Mdr1a 発現細胞での entrectinib 及び M5 の能動輸送並びに透過性.....101
表 2.6.5.15-11 ヒト薬物トランスポーターに対する entrectinib の作用.....103
表 2.6.5.15-12 ヒト OAPT1B1 に対する entrectinib の阻害作用.....104
表 2.6.5.15-13 ヒト薬物トランスポーターに対する entrectinib 及び M5 の作用.....105
表 2.6.5.15-14 ヒト薬物トランスポーターに対する M5 の作用.....106
表 2.6.5.16-1 結晶形 Form I 及び Form II の PK 比較.....107
表 2.6.5.16-2 剤型及び食餌の影響.....108
表 2.6.5.16-3 食餌の影響.....109

添付資料一覧

該当なし

2.6.5　薬物動態試験概要表

2.6.5.1　薬物動態試験一覧表

表 2.6.5.1-1　薬物動態試験一覧

Type of Study	Test System	Method of Administration	GLP (Y/N)	Testing Facility	Study Number (Report No.)	Location in CTD
Absorption						
Permeability	Caco-2	*In vitro*	No	[redacted]	SR-[redacted]-012 (1087481)	4.2.2.2-1
PK after single dose	Nu/Nu Mouse	PO, IV	No	[redacted]	0010-[redacted] (1087276)	4.2.2.2-2
PK after single dose of [^{14}C]entrectinib	Rat	PO, IV	No	[redacted]	SR-[redacted]-004 (1087302)	4.2.2.2-3
PK after single dose	Rat	PO, IV	No	[redacted]	0078-[redacted] (1087277)	4.2.2.2-4
PK after single dose of [^{14}C]entrectinib	Dog	PO, IV	No	[redacted]	SR-[redacted]-013 (1087301)	4.2.2.2-5
PK after single dose	Dog	PO, IV	No	[redacted]	0105-[redacted] (1087278)	4.2.2.2-6
PK after repeat dose 5 Day	Nu/Nu Mouse	PO	No	[redacted]	PPK-002-11 (1087310)	4.2.2.2-7
TK after Repeat dose 2W	CD-1 Mouse	PO	No	[redacted]	0518-[redacted] (1087345)	4.2.3.2-1
PK/PD study in KM12-Luc (TPM3 NTRK1) intracranial tumor model	Nu/Nu Mouse	PO	No	[redacted]/ Roche	1090134	4.2.1.1-25
PK/PD study in KM12-Luc (TPM3 NTRK1) subcutaneous tumor model	Nu/Nu Mouse	PO	No	[redacted]/ Roche	1090136	4.2.1.1-12
TK after Repeat dose intermittent 4W	Rat	PO	Yes	[redacted]	0163-[redacted] (1087346)	4.2.3.2-3
TK after Repeat dose daily 4W	Rat	PO	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-006 (1087348)	4.2.3.2-4
TK after Repeat dose daily 13W	Rat	PO	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-024 (1087349)	4.2.3.2-5
TK after Repeat dose daily 13W	Juvenile Rat	PO	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-001 (1087245)	4.2.3.5.4-3
TK after Repeat dose intermittent 4W	Dog	PO	Yes	[redacted]	0157-[redacted] (1087335)	4.2.3.2-7
TK after Repeat dose daily 4W	Dog	PO	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-007 (1087342)	4.2.3.2-9
TK after Repeat dose daily 13W	Dog	PO	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-029 (1087343)	4.2.3.2-10

表 2.6.5.1-1 薬物動態試験一覧（続）

Type of Study	Test System	Method of Administration	GLP (Y/N)	Testing Facility	Study Number (Report No.)	Location in CTD
Distribution						
Plasma protein binding for entrectinib	Mouse, rat, dog, monkey, human	*In vitro*	No	[redacted]	0218-[redacted] (1087282)	4.2.2.3-1
Plasma protein binding for M5	Mouse, rat, dog, monkey, human	*In vitro*	No	[redacted]	SR-[redacted]-005 (1087285)	4.2.2.3-2
Protein binding in different matrix and blood cell partitioning for entrectinib and M5	Mouse, rat, dog, human	*In vitro*	No	Roche	1088992	4.2.2.3-10
Partition between plasma and red blood cells	Rat	PO, IV	No	[redacted]	SR-[redacted]-004 (1087302)	4.2.2.2-3
Partition between plasma and red blood cells	Dog	PO, IV	No	[redacted]	SR-[redacted]-013 (1087301)	4.2.2.2-5
Single dose tissue distribution (QWBA)	Rat	PO	No	[redacted]	SR-[redacted]-003 (1087284)	4.2.2.3-5
Single dose plasma and brain PK for entrectinib and M5	Rat	PO	No	[redacted]	SR-[redacted]-001 (1087283)	4.2.2.3-6
IV infusion dose plasma and brain PK for entrectinib and M5	Rat	IV	No	Roche	1090366	4.2.2.3-11
Estimation of binding to brain tissue using LIMBA	Porcine	*In vitro*	No	Roche	1090266	4.2.2.3-12

表 2.6.5.1-1　薬物動態試験一覧（続）

Type of Study	Test System	Method of Administration	GLP (Y/N)	Testing Facility	Study Number (Report No.)	Location in CTD
Metabolism						
Metabolism in hepatocytes	Mouse, rat, dog, monkey, human	*In vitro*	No	[redacted]	T0627-R (1087704)	4.2.2.4-1
Metabolism in hepatocytes (entrectinib &M5)	Human	*In vitro*	No	Roche	1090334	4.2.2.4-7
Metabolism in hepatocytes ([^{14}C]entrectinib)	Human	*In vitro*	No	Roche	1090424	4.2.2.4-8
Metabolism in liver microsomes	Mouse, rat, dog, monkey, human	*In vitro*	No	[redacted]	SR-[redacted]-021 (1087479)	4.2.2.4-2
Stability in CYPs and liver microsomes	Human	*In vitro*	No	[redacted]	0305-[redacted] (1087482)	4.2.2.4-3
UGT phenotyping	Human	*In vitro*	No	[redacted]	SR-[redacted]-016 (1087298)	4.2.2.4-4
Metabolic profiling in plasma and feces	Rat	PO, IV	No	[redacted]	SR-[redacted]-004-Met (1087296)	4.2.2.4-5
Metabolic profiling in plasma and feces	Dog	PO, IV	No	[redacted]	SR-[redacted]-013-Met (1087297)	4.2.2.4-6
Metabolic profiling in plasma, urine and feces	Human	PO	No	[redacted]	RXDX-101-05	5.3.3.1-2
Excretion						
Urinary and fecal excretion	Rat	PO, IV	No	[redacted]	SR-[redacted]-004 (1087302)	4.2.2.2-3
Urinary and fecal excretion	Dog	PO, IV	No	[redacted]	SR-[redacted]-013 (1087301)	4.2.2.2-5

表 2.6.5.1-1 薬物動態試験一覧（続）

Type of Study	Test System	Method of Administration	GLP (Y/N)	Testing Facility	Study Number (Report No.)	Location in CTD
Pharmacokinetic Interaction						
CYP inhibition	Human	*In vitro*	No	[redacted]	0205-[redacted] (1087287)	4.2.2.6-1
CYP inhibition (time dependent)	Human	*In vitro*	No	[redacted]	0370-[redacted] (1087295)	4.2.2.6-2
CYP2B6 inhibition	Human	*In vitro*	No	[redacted]	SR-[redacted]-018 (1087300)	4.2.2.6-3
CYP inhibition for M5	Human	*In vitro*	No	[redacted]	SR-[redacted]-023 (1087289)	4.2.2.6-4
CYP inhibition	Human	*In vitro*	No	[redacted]	1089383	4.2.2.6-11
CYP induction	Human	*In vitro*	No	[redacted]	0248-[redacted] (1087293)	4.2.2.6-5
CYP induction	Human	*In vitro*	No	[redacted]	SR-[redacted]-017 (1087299)	4.2.2.6-6
CYP induction for M5	Human	*In vitro*	No	[redacted]	SR-[redacted]-022 (1087288)	4.2.2.6-7
Transporter interaction for entrectinib	Human	*In vitro*	No	[redacted]	XT148029 (1087291)	4.2.2.6-8
Transporter substrate assessment for M5	Human	*In vitro*	No	[redacted]	SR-[redacted]-016 (1087292)	4.2.2.6-9
Transporter substrate assessment and permeability for entrectinib and M5	Mouse, human	*In vitro*	No	Roche	1088452	4.2.2.6-12
Transporter inhibition assessment for entrectinib and M5	Human	*In vitro*	No	[redacted]	SR-[redacted]-023 (1087486)	4.2.2.6-10
OATP1B1 inhibition assessment for entrectinib	Human	*In vitro*	No	Roche	1090527	4.2.2.6-13
Others						
PK after single dose (2 polymorph forms)	Dog	PO	No	[redacted]	0275-[redacted] (1087279)	4.2.2.7-1
PK after single dose (fed vs fasted)	Dog	PO	No	[redacted]	0303-[redacted] (1087280)	4.2.2.7-2
PK after single dose (fed vs fasted)	Dog	PO	No	[redacted]	[redacted]-0054 (1087281)	4.2.2.7-3

[redacted] USA); [redacted] Italy); [redacted], China); [redacted], USA); [redacted] USA); [redacted], Italy); [redacted] USA); [redacted], USA) or [redacted], USA), [redacted], USA), Roche: F. Hoffmann-La Roche Ltd. (Basel, Switzerland), [redacted], USA), [redacted], USA), [redacted], China).

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

表 2.6.5.2-1　分析法及びバリデーション一覧

Species/ Sample Matrix	Analyte	Calibration Range	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	Study Number (Report No.)	Location in CTD
Rat/Plasma	Entrectinib	10.0 to 10000 ng/mL	LC-MS/MS	Protein precipitation with methanol	Intra-run precision (%CV) was tested at 5 QC levels (10.0, 30.0, 300, 8000 and 50 x dilution of 50000 ng/mL) and was ≤ 15.5%. Intra- run bias at the same levels was 1.0% to 8.0%.	0184-[redacted] (1087321)	4.2.2.1-1
Rat/Plasma	Entrectinib	10.0 to 10000 ng/mL	LC-MS/MS	Protein precipitation with methanol	Intra-run precision (%CV) was tested at 3 QC levels (30.0, 750, 7500 ng/mL) and was ≤ 6.43%. Intra-run bias at the same levels was -6.80% to 4.67%. Inter-run precision for the same levels was ≤ 4. 81%. Inter-run bias for the same levels was -4.67% to 2.67%.	[redacted] Study 8559.012715.1 (1087320)	4.2.2.1-2
Rat/Plasma	M5	10.0 to 10000 ng/mL	LC-MS/MS	Protein precipitation with methanol	Intra-run precision (%CV) was tested at 3 QC levels (30.0, 750, 7500 ng/mL) and was ≤ 5.68%. Intra-run bias at the same levels was -6.93% to 7.67%. Inter-run precision for the same levels was ≤ 4.42%. Inter-run bias for the same levels was -3.87% to 2.67%.	[redacted] Study 8559.012715.1 (1087320)	4.2.2.1-2

表 2.6.5.2-1　分析法及びバリデーション一覧（続）

Species/ Sample Matrix	Analyte	Calibration Range	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	Study Number (Report No.)	Location in CTD
Rat/Plasma	Entrectinib	10.0 to 10000 ng/mL	LC-MS/MS	Protein precipitation with acetonitrile	Intra-run precision (%CV) was tested at 4 QC levels (10.0, 30.0, 750, and 7500 ng/mL) and was ≤ 8.8%. Intra-run bias at the same levels was -18.4% to 3.5%. Inter-run precision for the same levels was ≤ 6.5%. Inter- run bias for the same levels was -9.1% to -0.9%.	SR-[redacted]-027 (1087313)	4.2.2.1-3
Rat/Plasma	M5	10.0 to 10000 ng/mL	LC-MS/MS	Protein precipitation with acetonitrile	Intra-run precision (%CV) was tested at 4 QC levels (10.0, 30.0, 750, and 7500 ng/mL) and was ≤ 9.9% Intra-run bias at the same levels was -12.8% to 3.9%. Inter-run precision for the same levels was ≤ 7.3%. Inter-run bias for the same levels was -7.3% to -1.7%.	SR-[redacted]-027 (1087313)	4.2.2.1-3
Dog/Plasma	Entrectinib	10.0 to 10000 ng/mL	LC-MS/MS	Protein precipitation with methanol	Intra-run precision (%CV) was tested at 5 QC levels (10.0, 30.0, 300, 8000 and 50 x dilution of 50000 ng/mL) and was ≤ 17.4%. Intra-run bias at the same levels was 0.8% to 14.3%. Inter-run precision for the same levels was ≤ 9.7%. Inter-run bias for the same levels was 6.0% to 9.4%.	[redacted] Study 0183-[redacted] (1087319)	4.2.2.1-5

表 2.6.5.2-1　分析法及びバリデーション一覧（続）

Species/ Sample Matrix	Analyte	Calibration Range	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	Study Number (Report No.)	Location in CTD
Dog/Plasma	Entrectinib	10.0 to 10000 ng/mL	LC-MS/MS	Protein precipitation with methanol	Intra-run precision (%CV) was tested at 3QC levels (30.0, 750, and 7500 ng/mL) and was ≤7.31%. Intra-run bias at the same levels was -13.0% to 2.80%. Inter-run precision for the same levels was ≤ 7.24%. Inter- run bias for the same levels was -7.00% to 0.267%.	[redacted] Study 8562.032015.1 (1087318)	4.2.2.1-6
Dog/Plasma	M5	10.0 to 10000 ng/mL	LC-MS/MS	Protein precipitation with methanol	Intra-run precision (%CV) was tested at 3QC levels (30.0, 750, 7500 ng/mL) and was ≤ 5.18%. Intra-run bias at the same levels was -12.3% to -2.00%. Inter-run precision for the same levels was ≤ 5.00%. Inter-run bias for the same levels was -8.67% to -5.60%.	[redacted] Study 8562.032015.1 (1087318)	4.2.2.1-6

表 2.6.5.2-1　分析法及びバリデーション一覧（続）

Species/ Sample Matrix	Analyte	Calibration Range	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	Study Number	Location in CTD
Mouse/Plasma	Entrectinib	5 to 19100 ng/mL	LC-MS/MS	Plasma protein precipitation with methanol	Not applicable	0010-[redacted] (1087276)	4.2.2.2-2
Mouse/Plasma	Entrectinib	5 to 5000 ng/mL	LC-MS/MS	Plasma protein precipitation with acetonitrile/methanol (90/10)	Not applicable	PPK-002-11 (1087310)	4.2.2.2-7
Rat/Plasma	Entrectinib	4.95 to 18900 ng/mL	LC-MS/MS	Plasma protein precipitation with methanol	Not applicable	0078-[redacted] (1087277)	4.2.2.2-4
Rat/Brain	Entrectinib	20 to 10000 ng/g	LC-MS/MS	Homogenization and extraction with methanol	Not applicable	0163-[redacted] (1087346)	4.2.3.2-3
Dog/Plasma	Entrectinib	4.95 to 18900 ng/mL	LC-MS/MS	Plasma protein precipitation with methanol	Not applicable	0105-[redacted] (1087278)	4.2.2.2-6
Dog/Brain	Entrectinib	20 to 10000 ng/g	LC-MS/MS	Homogenization and extraction with methanol	Not applicable	0157-[redacted] (1087335)	4.2.3.2-7
Rat/Plasma	Entrectinib M5	1 to 5000 ng/mL	LC-MS/MS	Plasma protein precipitation with methanol	Not applicable	SR-[redacted]-004 (1087302)	4.2.2.2-3
Dog/Plasma	Entrectinib M5	1 to 5000 ng/mL	LC-MS/MS	Plasma protein precipitation with methanol	Not applicable	SR-[redacted]-013 (1087301)	4.2.2.2-5
Rat/Brain	Entrectinib M5	2.5 to 5000 ng/g	LC-MS/MS	Homogenization and extraction with acetonitrile	Not applicable	SR-[redacted]-001 (1087283)	4.2.2.3-6

表 2.6.5.2-1　分析法及びバリデーション一覧（続）

Mouse/Plasma	Entrectinib M5	1 to 1000 ng/mL	LC-MS/MS	Plasma protein precipitation with methanol	Qualified methods Bias (QC samples) Entrectinib: -5.07 – 2.33% M5: -1.87 – 6.00% Precision (QC samples) Entrectinib: 2.91 – 6.74% M5: 2.94 – 4.44%	1090134	4.2.1.1-25
Mouse/Plasma	Entrectinib M5	1 to 1000 ng/mL	LC-MS/MS	Plasma protein precipitation with methanol	Qualified methods Bias (QC samples) Entrectinib: 1.33 – 5.00% M5: 5.20 – 11.0% Precision (QC samples) Entrectinib: 3.38 – 8.13% M5: 2.59 – 5.50%	1090136	4.2.1.1-12
Rat/Plasma	Entrectinib M5	1 to 1000 ng/mL	LC-MS/MS	Plasma protein precipitation with acetonitrile/methanol (80:20,v/v)	Accuracy Entrectinib: 93.7 – 98.9% M5: 93.7 – 98.3%	1090366	4.2.2.3-11
Rat/CSF	Entrectinib M5	0.1 to 100 ng/mL	LC-MS/MS	Protein precipitation with acetonitrile/methanol (80:20,v/v)	Accuracy Entrectinib: 102.4 – 104.0% M5: 97.3 – 100.5%	1090366	4.2.2.3-11
Rat/Brain	Entrectinib M5	4 to 4000 ng/g	LC-MS/MS	Homogenization and extraction with acetonitrile/methanol (80:20,v/v)	Not applicable	1090366	4.2.2.3-11

2.6.5.3　薬物動態試験：単回投与後の吸収

表 2.6.5.3-1　マウス単回経口又は静脈内投与試験

			Test Article: Entrectinib
			Location in CTD: 4.2.2.2-2
			Study No. 0010-[redacted] (1087276)
Species	Mouse (Nu/Nu)		
Gender (M/F)/Number of Animals:	3 M/dose/route; total: 9 M		
Feeding Condition:	Not specified		
Vehicle/Formulation:	HCl in situ salt saline/IV, 0.5% Methocel/PO		
Method of Administration:	IV, PO		
Dose (mg/kg):	IV (10), PO (10, 100)		
Sample:	Plasma		
Analyte:	Entrectinib		
Assay:	LC-MS/MS (not-validated)		
PK parameters: Route	IV	PO	PO
Dose (mg/kg)	10	10	100
T_{max} (h)	NA	2.5 ± 3.04	1 ± 0.00
C_{max} (µmol/L)	4.90 ± 1.35	1.33 ± 0.191	10.2 ± 0.917
AUC_{last} (µmol/L·h)	19.4 ± 1.51	17.1 ± 0.36	149 ± 22.7
AUC_{inf} (µmol/L·h)	19.6 ± 1.50	17.4 ± 0.21	202 ± 49.2
$t_{1/2}$ (h)	3.59 ± 0.47	2.94 ± 0.099	12.3 ± 4.46
V_{ss} (L/kg)	3.34 ± 0.599	NA	NA
CL (mL/min/kg)	13.5 ± 1.05	NA	NA
F (%) [1]	NA	76	69

[1] F calculation based on AUC_{last}; NA: Not applicable; Nu: Nude.

表 2.6.5.3-2　ラット単回経口又は静脈内投与試験

		Test Article: Entrectinib	
		Location in CTD: 4.2.2.2-4	
		Study No. 0078-[redacted] (1087277)	
Species	Rat (Sprague Dawley)		
Gender (M/F)/Number of Animals:	3 M/group; total: 12 M		
Feeding Condition:	Not specified		
Vehicle/Formulation:	10% tween80 in saline/IV, 0.5% Methocel/PO		
Method of Administration:	IV, PO		
Dose (mg/kg):	IV (10), PO (10, 30)		
Sample:	Plasma		
Analyte:	Entrectinib		
Assay:	LC-MS/MS (not-validated)		
PK parameters: Route	IV	PO	PO
Dose (mg/kg)	10	10	30
T_{max} (h)	NA	3.08 ± 0.00	6 ± 0.00
C_{max} (µmol/L)	11.0 ± 1.054	0.461 ± 0.113	1.43 ± 0.261
AUC_{last} (µmol/L·h)	15.1 ± 1.50	3.93 ± 1.96	19.2 ± 3.74
AUC_{inf} (µmol/L·h)	15.1 ± 1.54	5.13 (n=2)	19.4 ± 3.79
$t_{1/2}$ (h)	3.54 ± 0.249	3.82 (n=2)	3.93 ± 0.245
V_{ss} (L/kg)	3.98 ± 0.375	NA	NA
CL (mL/min/kg)	20.8 ± 2.10	NA	NA
F (%) [1]	NA	33	48

[l] F calculation based on AUC_{last}; NA:　Not applicable

表 2.6.5.3-3　ラット単回経口又は静脈内投与試験

					Test Article: [^{14}C]entrectinib			
					Location in CTD: 4.2.2.2-3			
					Study No. SR-[redacted]-004 (1087302)			
Species	Rat (Sprague Dawley)							
Gender (M/F) /Number of Animals:	3 M, 3 F/time point/dose route; total: 9 M, 9 F/dose route							
Feeding Condition:	Fed							
Vehicle/Formulation:	10% Tween®80, 2 molar equivalents hydrochloric acid (HCl) in sterile saline/IV 0.5% methylcellulose and 1% Tween®80 in reverse osmosis (RO) water/PO							
Method of Administration:	IV, PO							
Specific activity	26.8 µCi/mg/IV,　2.83 µCi/mg/PO							
Sample:	Blood for radioactivity, plasma for radioactivity, entrectinib and M5							
Analyte:	Blood radioactivity (^{14}C)		Plasma radioactivity (^{14}C)		Blood radioactivity (^{14}C)		Plasma radioactivity (^{14}C)	
Assay:	LSC		LSC		LSC		LSC	
PK Parameters: Route	IV		IV		PO		PO	
Dose (mg/kg)	2		2		20		20	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
T_{max} (h)	0.083	0.083	0.083	0.083	6	4	2	4
C_{max} (ng-eq/g or mL)	2730	2680	1080	1140	2650	3450	1150	1310
AUC_{inf} (ng-eq•h/g or mL)	9930	12900	3320	3730	40200	51600	17900	18800
$t_{1/2}$ (h)	6.68	6.86	9.36	9.07	8.07	7.37	9.02	8.49
F_{abs} (%)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	56.6	52.6
Blood:Plasma C_{max} ratio	NA	NA	2.53	2.35	NA	NA	2.30	2.63
Blood:Plasma AUC_{inf} ratio	NA	NA	2.99	3.47	NA	NA	2.25	2.74

表 2.6.5.3-3　ラット単回経口又は静脈内投与試験（続）

					Test Article: [^{14}C]entrectinib			
Analyte:	Entrectinib		M5		Entrectinib		M5	
Assay:	LC-MS/MS		LC-MS/MS		LC-MS/MS		LC-MS/MS	
PK　Parameters: Route	IV		IV		PO		PO	
Dose (mg/kg)	2		2		20		20	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
T_{max} (h)	0.083	0.083	1	4	8	4	8	4
C_{max} (ng/mL)	754	768	3.29	2.15	446	604	14.0	14.6
AUC_{inf} (ng•h/mL)	1490	1980	52.7	NA	5240	7480	NA	136
$t_{1/2}$ (h)	3.28	3.70	10.8	NA	5.24	4.18	NA	7.23
CL (L/h/kg)	1.34	1.01	NA	NA	NA	NA	NA	NA
V (L/kg)	6.34	5.40	NA	NA	NA	NA	NA	NA
F (%)	NA	NA	NA	NA	36.9	39.5	NA	NA
Entrectinib or M5:Plasma radioactivity C_{max} ratio	0.698	0.673	0.00305	0.00188	0.388	0.461	0.0122	0.0111
Entrectinib or M5:Plasma radioactivity AUC_{inf} ratio	0.448	0.530	0.0159	NA	0.293	0.395	NA	0.00724
M5:Entrectinib C_{max} ratio	NA	NA	0.00437	0.00280	NA	NA	0.0314	0.0242
M5:Entrectinib AUC_{inf} ratio	NA	NA	0.0354	NA	NA	NA	NA	0.0182

NA: Not applicable.

表 2.6.5.3-4　イヌ単回経口又は静脈内投与試験

		Test Article: Entrectinib	
		Location in CTD: 4.2.2.2-6	
		Study No. 0105-[redacted] (1087278)	
Species	Dog (Beagle)		
Gender (M/F)/Number of Animals:	3 M/route; total: 3 M with 1-week washout period		
Feeding Condition:	Fasted overnight		
Vehicle/Formulation:	10% tween80 in saline/IV, 0.5% Methocel/PO		
Method of Administration:	IV, PO		
Dose (mg/kg):	IV (10), PO (10, 60)		
Sample:	Plasma		
Analyte:	Entrectinib		
Assay:	LC-MS/MS (not-validated)		
PK parameters: Route	IV	PO	PO
Dose (mg/kg)	10	10	60
T_{max} (h)	NA	2.00 ± 0.00	3.50 ± 3.04
C_{max} (μmol/L)	8.55 ± 2.45	0.595 ± 0.154	2.70 ± 1.43
AUC_{last} (μmol/L·h)	17.1 ± 3.00	5.35 ± 2.36	48.5 ± 30.3
AUC_{inf} (μmol/L·h)	17.6 ± 3.25	5.65 ± 2.55	49.5 ± 31.2
$t_{1/2}$ (h)	11.9 ± 6.01	15.2 ± 8.93	8.99 ± 1.77
V_{ss} (L/kg)	6.70 ± 0.95	NA	NA
CL (mL/min/kg)	17.5 ± 3.59	NA	NA
F (%) [1]	NA	31.2 ± 10.5	48.0 ± 28.0

[l] F calculation based on AUC_{inf}; NA:　Not applicable

表 2.6.5.3-5　イヌ単回経口又は静脈内投与試験

					Test Article: [^{14}C]entrectinib			
					Location in CTD: 4.2.2.2-5			
					Study No. SR-[redacted]-013 (1087301)			
Species	Dog (Beagle)							
Gender(M/F)/ Number of Animals:	3 M/route							
Feeding Condition:	Fasted overnight through 4 hours postdose/PO, Fed/IV							
Vehicle/Formulation:	0.15% lactic acid, 0.05% benzyl alcohol in 5% D-mannitol, in 5% dextrose water /IV 0.5% methylcellulose and 1% Tween®80 in reverse osmosis (RO) water/PO							
Method of Administration:	IV, PO							
Specific activity	41.1 μCi/mg/IV,　4.24 μCi/mg/PO							
Sample:	Blood for radioactivity, plasma for radioactivity, entrectinib and M5							
Analyte:	Blood radioactivity (^{14}C)		Plasma radioactivity (^{14}C)		Entrectinib		M5	
Assay:	LSC		LSC		LC-MS/MS		LC-MS/MS	
PK Parameters: Route	IV	PO	IV	PO	IV	PO	IV	PO
Dose (mg/kg)	1	10	1	10	1	10	1	10
T_{max} (h)	0.083 ± 0.00	1.7 ± 0.6	0.083 ± 0.00	1.7 ± 0.6	0.083 ± 0.00	1.3 ± 0.6	4.67 ± 1.16	4.0 ± 3.5
C_{max} (ng-eq/g or mL)	1510 ± 85.4	2270 ± 551	395 ± 35.2	557 ± 130	116 ± 8.54	305 ± 84.1	8.79 ± 0.751	229 ± 51.6
AUC_{inf} (ng-eq•h/g or mL)	8150 ± 466	35700 ± 5200	3250 ± 131	13100 ± 1100	243 ± 4.21	1820 ± 381	147 ± 9.13	3540 ± 276
$t_{1/2}$ (h)	68.0 ± 6.51	51.7 ± 6.29	78.7 ± 25.0	56.8 ± 6.36	3.20 ± 0.329	4.0 ± 0.444	9.53 ± 1.84	15.8 ± 2.93

表 2.6.5.3-5　イヌ単回経口又は静脈内投与試験（続）

Sample:	Blood for radioactivity, plasma for radioactivity, entrectinib and M5							
Analyte:	Blood radioactivity (^{14}C)		Plasma radioactivity (^{14}C)		Entrectinib		M5	
Assay:	LSC		LSC		LC-MS/MS		LC-MS/MS	
PK Parameters: Route	IV	PO	IV	PO	IV	PO	IV	PO
Dose (mg/kg)	1	10	1	10	1	10	1	10
CL (L/h/kg)	0.125 ± 0.00712	NA	0.312 ± 0.0135	NA	4.17 ± 0.0702	NA	NA	NA
V (L/kg)	12.2 ± 1.39	NA	35.1 ± 9.56	NA	19.3 ± 2.27	NA	NA	NA
F_{abs} (%)	NA	NA	NA	40.0	NA	NA	NA	NA
F (%)	NA	NA	NA	NA	NA	74.4	NA	NA
Blood radioactivity or Entrectinib or M5:Plasma radioactivity C_{max} ratio	3.82	4.08	NA	NA	0.295	0.545	0.0224	0.411
Blood radioactivity or Entrectinib or M5:Plasma radioactivity AUC_{inf} ratio	2.51	2.71	NA	NA	0.0748	0.138	0.0454	0.270
M5:Entrectinib C_{max} ratio	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.0764	0.761
M5:Entrectinib AUC_{inf} ratio	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.606	1.98

NA: Not applicable; F_{abs}: oral absorption for radioactivity

2.6.5.4　薬物動態試験：反復投与後の吸収

表 2.6.5.4-1　マウス5日間連日経口投与

					Test Article: Entrectinib	
					Location in CTD: 4.2.2.2-7	
					Study No. PPK-002-11 (1087310)	
Species		Mouse (Nu/Nu)				
Gender(M/F)/Number of Animals:		3 M for each dose group ; total: 9 M				
Feeding Condition:		Not Specified				
Vehicle/Formulation:		0.5% Methocel +1% Tween 80				
Method of Administration:		PO (daily 5 days)				
Dose (mg/kg):		29.2, 58.4, 87.6				
Sample Type:		Plasma				
Analyte:		Entrectinib				
Assay:		LC-MS/MS (not-validated)				
PK Parameters/Dose (mg/kg/day):	29.2		58.4		87.6	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
$t_{1/2}$ (h)	4.302	0.439	5.289	0.593	6.547	1.042
T_{max} (h)	4.000	1.732	3.000	0.000	1.000	1.000
C_{max} (μmol/L)	2.909	0.582	4.240	0.605	7.868	1.072
AUC_{last} (μmol/L·h)	37.048	3.511	58.595	3.921	96.803	4.334
AUC_{inf} (μmol/L·h)	37.848	3.319	61.285	4.740	104.834	3.820
AUC_{inf} /Dose (μmol/L·h/mg/kg)	1.296	0.114	1.049	0.081	1.197	0.044

表 2.6.5.4-2　マウス2週間連日経口投与

			Test Article: Entrectinib	
			Location in CTD: 4.2.3.2-1	
			Study No. 0518-[redacted] (1087345)	
Species	CD-1 mouse			
Gender (M/F)/Number of Animals:	6 F/dose for TK; total: 12 F (3 F/time point/dose)			
Feeding Condition:	Not specified			
Vehicle/Formulation:	0.5% Methylcellulose 400 cP solution (Methocel)			
Method of Administration:	PO daily for 14 days			
Dose (mg/kg):	120, 240			
Sample Type:	Plasma, brain			
Analyte:	Entrectinib			
Assay:	LC-MS/MS (not-validated)			
PK parameters:				
Dose (mg/kg)	120	120	240	240
Day	Day 1	Day 14	Day 1	Day 14
C_{max} (µmol/L)	7.76	5.85	9.30	8.73
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L·h)	68.7	99.8	152	152
Mean brain to plasma ratio (n=3, at 24 h post last dosing)	NA	0.38	NA	0.43
Additional Information: The extent of blood-brain barrier penetration in the mouse after repeated administration was also measured in the satellite groups treated similarly to the main study groups. Following 14-day repeated oral administration at 120 and 240 mg/kg/day dose, plasma concentrations of entrectinib were comparable to those observed after single dose. The maximal concentration was observed at 1 h at both doses. Detectable levels of entrectinib were found in brain at 24 h post dosing.				

NA:　Not applicable

表 2.6.5.4-3　KM12-Luc 細胞頭蓋内移植マウスモデル連日経口投与

	Test Article: Entrectinib
	Location in CTD: 4.2.1.1-25
	Study No. 1090134
Species	Mouse (Nu/Nu) bearing KM12-Luc intracranial tumors
Gender(M/F)/Number of Animals:	9 F (6 F for PK)/dose group; total: 54 F (36 F for PK) in efficacy study (Day 1 and Day 8) 12 F /dose group ; total: 48 F in PK/PD study (Day 2)
Feeding Condition:	Not Specified
Vehicle/Formulation:	0.5% Methocel +1% Tween 80
Method of Administration:	PO
Dose (mg/kg):	1 BID, 5 BID, 10 QD, 15 BID, 30 QD, and 60 BID for efficacy study 5 BID, 15 BID, 30 BID, and 60 BID for PK/PD study
Sample Type:	Plasma
Sampling Time:	Day1: 1, 3, 6, 12 (BID only), 24 (QD only)h post-dose Day2: 3, 8, 12 (BID only) h post-dose Day8: predose, 3, 6 h post-dose
Analyte:	Entrectinib, M5
Assay:	LC-MS/MS (qualified)

表 2.6.5.4-3 KM12-Luc 細胞頭蓋内移植マウスモデル連日経口投与（続）

Parameter				Cmax	tmax	tlast	Clast[a]	AUC(0-6h)	AUC(0-12h)[b]	AUC(0-24h)[b]	AR[c] AUC(0-24h)
Unit				µmol/L	h	h	µmol/L	h*µmol/L	h*µmol/L	h*µmol/L	-
Analyte	Day	Group	Dose (mg/kg)								
entrectinib	1	2D	1 BID	0.129	3.00	12.0	0.00535	0.561	0.730	1.46	NA
		3D	5 BID	1.01	3.00	12.0	0.0393	4.61	5.98	12.0	NA
		4D	10 QD	1.80	3.00	24.0	0.00775	8.54	13.7	17.8	NA
		5D	15 BID	2.67	3.00	12.0	0.288	12.1	17.1	34.2	NA
		6D	30 QD	4.13	3.00	24.0	0.0163	21.6	39.2	53.4	NA
		7D	60 BID	7.74	3.00	12.0	1.74	36.3	55.1	110	NA
entrectinib	8	2D	1 BID	0.108	3.00	6.00	0.00258	0.388	0.515	1.03	0.71
		3D	5 BID	0.717	3.00	6.00	0.0323	2.46	3.07	6.14	0.51
		4D	10 QD	1.54	3.00	6.00	0.0193	5.79	9.67	12.9	0.72
		5D	15 BID	2.84	3.00	6.00	0.293	11.1	16.3	32.6	0.95
		6D	30 QD	4.23	3.00	6.00	0.0205	17.0	31.2	42.8	0.80
		7D	60 BID	5.31	3.00	6.00	1.37	25.3	43.9	87.8	0.80

AUC(0-12h) for Groups 4D and 6D (QD dosing) calculated by interpolation. AUC(0-24h) for Groups 2D, 3D, 5D and 7D (BID dosing) calculated by doubling of AUC(0-12h). [a]On Day 8, predose concentrations (C0h) were listed as Clast instead of the C6h.
[b]For the AUC(0-12h) and AUC(0-24h) calculations on Day 8, C0h were mirrored as C12h for the BID groups (Groups 2D, 3D, 5D and 7D) or as C24h for the QD groups (Groups 4D and 6D). [c]AR: Accumulation ratio = AUC(0-24h) on Day 8/ AUC(0-24h) on Day 1.
NA: not applicable.

表 2.6.5.4-3 KM12-Luc 細胞頭蓋内移植マウスモデル連日経口投与（続）

Parameter				Cmax	tmax	tlast	Clast[a]	AUC(0-6h)	AUC(0-12h)[b]	AUC(0-24h)[b]	AR[c] AUC(0-24h)	M/P[d] Ratio
Unit				µmol/L	h	h	µmol/L	h*µmol/L	h*µmol/L	h*µmol/L	-	%
Analyte	Day	Group	Dose (mg/kg)									
M5	1	2D	1 BID	0.0103	3.00	12.0	0.00144	0.0459	0.0657	0.131	NA	9.0
		3D	5 BID	0.0750	3.00	12.0	0.00875	0.352	0.501	1.00	NA	8.4
		4D	10 QD	0.156	3.00	24.0	0.00288	0.725	1.19	1.58	NA	8.9
		5D	15 BID	0.237	3.00	12.0	0.0481	1.04	1.55	3.11	NA	9.1
		6D	30 QD	0.487	3.00	24.0	0.0175	2.23	3.95	5.45	NA	10.2
		7D	60 BID	1.19	3.00	12.0	0.350	4.86	7.67	15.3	NA	13.9
M5	8	2D	1 BID	0.0107	3.00	6.00	0.00183	0.0387	0.0575	0.115	0.79	10.1
		3D	5 BID	0.0556	3.00	6.00	0.00943	0.215	0.312	0.624	0.62	10.2
		4D	10 QD	0.150	3.00	6.00	0.00601	0.572	0.956	1.31	0.83	10.2
		5D	15 BID	0.257	3.00	6.00	0.0537	1.10	1.76	3.52	1.1	10.8
		6D	30 QD	0.493	3.00	6.00	0.0124	1.89	3.21	4.35	0.80	10.2
		7D	60 BID	0.820	3.00	6.00	0.227	3.84	6.59	13.2	0.86	15.0

AUC(0-12h) for Groups 4D and 6D (QD dosing) calculated by interpolation. AUC(0-24h) for Groups 2D, 3D, 5D and 7D (BID dosing) calculated by doubling of AUC(0-12h). [a]On Day 8, predose concentrations (C0h) were listed as Clast instead of the C6h.
[b]For the AUC(0-12h) and AUC(0-24h) calculations on Day 8, C0h were mirrored as C12h for the BID groups (Groups 2D, 3D, 5D and 7D) or as C24h for the QD groups (Groups 4D and 6D). [c]AR: Accumulation ratio = AUC(0-24h) on Day 8/ AUC(0-24h) on Day 1.[d]M/P: Metabolite to parent ratio = AUC(0-24h) M5/ AUC(0-24h) entrectinib.
NA: not applicable.

表 2.6.5.4-3 KM12-Luc 細胞頭蓋内移植マウスモデル連日経口投与（続）

Analyte	Day	Group	Dose (mg/kg)	Cmax/Dose µmol/L/(mg/kg)	AUC(0-12h)/Dose (h*µmol/L)/(mg/kg)	AUC(0-24h)/Dose (h*µmol/L)/(mg/kg)
entrectinib	1	2D	1 BID	0.129	0.730	1.46
		3D	5 BID	0.202	1.20	2.39
		4D	10 QD	0.180	1.37	1.78
		5D	15 BID	0.178	1.14	2.28
		6D	30 QD	0.138	1.31	1.78
		7D	60 BID	0.129	0.918	1.84
entrectinib	8	2D	1 BID	0.108	0.515	1.03
		3D	5 BID	0.143	0.614	1.23
		4D	10 QD	0.154	0.967	1.29
		5D	15 BID	0.189	1.09	2.17
		6D	30 QD	0.141	1.04	1.43
		7D	60 BID	0.0885	0.732	1.46
M5	1	2D	1 BID	0.0103	0.0657	0.131
		3D	5 BID	0.0150	0.100	0.201
		4D	10 QD	0.0156	0.119	0.158
		5D	15 BID	0.0158	0.103	0.207
		6D	30 QD	0.0162	0.132	0.182
		7D	60 BID	0.0198	0.128	0.256
M5	8	2D	1 BID	0.0107	0.0520	0.104
		3D	5 BID	0.0111	0.0624	0.125
		4D	10 QD	0.0150	0.0956	0.131
		5D	15 BID	0.0171	0.117	0.235
		6D	30 QD	0.0164	0.107	0.145
		7D	60 BID	0.0137	0.110	0.220

表 2.6.5.4-3　KM12-Luc 細胞頭蓋内移植マウスモデル連日経口投与（続）

Parameter				Cmax	tmax	tlast	Clast	AUC(0-12h)	AUC(0-24h)	M/P* Ratio
Unit				µmol/L	h	h	µmol/L	h*µmol/L	h*µmol/L	%
Analyte	Day	Group	Dose (mg/kg)							
entrectinib	2	2A	5 BID	0.566	3	12	0.109	3.21	6.42	NA
		3A	15 BID	1.82	3	12	0.510	11.9	23.8	NA
		4A	30 BID	2.58	3	12	1.43	22.1	44.2	NA
		5A	60 BID	5.79	3	12	2.37	47.1	94.2	NA
M5	2	2A	5 BID	0.0575	3	12	0.0334	0.395	0.790	12.3
		3A	15 BID	0.183	3	12	0.105	1.30	2.60	10.9
		4A	30 BID	0.383	3	12	0.203	2.92	5.84	13.2
		5A	60 BID	0.960	3	12	0.402	6.84	13.7	14.5

Samples collected at 3, 8 and 12h after the 3rd dose on Day 2. For the AUC(0-12h) calculations on Day 2, predose concentrations (C0h) were set equal to C12h. AUC(0-24h) were calculated by doubling the AUC(0-12h) values.

*M/P: Metabolite to parent ratio = AUC(0-24h) M5/ AUC(0-24h) entrectinib.

NA: not applicable.

表 2.6.5.4-3　KM12-Luc 細胞頭蓋内移植マウスモデル連日経口投与（続）

Parameter				Cmax/ Dose	AUC(0-12h)/ Dose	AUC(0-24h)/ Dose
Unit				µmol/L/ (mg/kg)	(h*µmol/L)/ (mg/kg)	(h*µmol/L)/ (mg/kg)
Analyte	Day	Group	Dose (mg/kg)			
entrectinib	2	2A	5 BID	0.113	0.642	1.28
		3A	15 BID	0.121	0.793	1.59
		4A	30 BID	0.0860	0.737	1.47
		5A	60 BID	0.0965	0.785	1.57
M5	2	2A	5 BID	0.0115	0.0790	0.158
		3A	15 BID	0.0122	0.0867	0.173
		4A	30 BID	0.0128	0.0973	0.195
		5A	60 BID	0.0160	0.114	0.228

表 2.6.5.4-4　KM12-Luc 細胞皮下移植マウスモデル連日経口投与

	Test Article: Entrectinib
	Location in CTD: 4.2.1.1-12
	Study No. 1090136
Species	Mouse (Nu/Nu) bearing KM12-Luc subcutaneous tumors
Gender(M/F)/Number of Animals:	10 F (6 F for PK)/dose group; total: 90 F (60 F for PK) in efficacy study (Day 1 and Day 8) 12 F /dose group ; total: 48 F in PK/PD study (Day 2)
Feeding Condition:	Not Specified
Vehicle/Formulation:	0.5% Methocel +1% Tween 80
Method of Administration:	PO
Dose (mg/kg):	0.050 BID, 0.10 QD, 0.50 BID, 1.0 QD, 1.5 BID, 3.0 QD, 5.0 BID, 10 QD, 15 BID, and 30 QD for efficacy study (Day 1 and Day 8) 1 BID, 5 BID, 15 BID, 30 BID, and 60 BID for PK/PD study (Day 2)
Sample Type:	Plasma
Sampling Time:	Day1: 1, 3, 6, 12 (BID only), 24 (QD only)h post-dose Day2: 3, 8, 12 (BID only) h post-dose Day8: predose, 3, 6 h post-dose
Analyte:	Entrectinib, M5
Assay:	LC-MS/MS (qualified)

表 2.6.5.4-4 KM12-Luc 細胞皮下移植マウスモデル連日経口投与（続）

Parameter				Cmax	tmax	Clast	tlast	AUC(0-6h)	AUC(0-12h)	AUC(0-24h)
Unit				µmol/L	h	µmol/L	h	h*µmol/L	h*µmol/L	h*µmol/L
Analyte	Day	Group	Dose (mg/kg)							
entrectinib	1	2C	0.050 BID	0.00309	1.00	0.00154	3.00	NR	NR	NR
		3C	0.10 QD	0.00887	1.00	0.00233	6.00	0.0266	0.0381	0.0476
		4C	0.50 BID	0.0349	1.00	0.00335	12.0	0.115	0.147	0.294
		5C	1.0 QD	0.0559	3.00	0.0395	6.00	0.271	0.465	0.626
		6C	1.5 BID	0.0997	3.00	0.0207	12.0	0.442	0.609	1.22
		7C	3.0 QD	0.358	3.00	0.000802	24.0	1.55	2.21	2.74
		8C	5.0 BID	0.455	3.00	0.0553	12.0	1.94	2.67	5.34
		9C	10 QD	1.03	3.00	0.00485	24.0	4.70	7.90	10.5
		10C	15 BID	2.10	3.00	0.419	12.0	9.35	13.6	27.2
		11C	30 QD	3.87	3.00	0.0594	24.0	17.8	31.7	43.2

BID = twice daily; QD = once a day; NR = nor reportable (insufficient data).

AUC(0-12h) for Groups 3C, 5C, 7C, 9C and 11C (QD dosing) calculated by interpolation.

AUC(0-24h) for Groups 2C, 4C, 6C, 8C and 10C (BID dosing) calculated by doubling of AUC(0-12h).