目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 6
2.6.4.1 まとめ 6
2.6.4.1.1 分析法 6
2.6.4.1.2 吸収及び薬物動態 6
2.6.4.1.3 分布 7
2.6.4.1.4 代謝 8
2.6.4.1.5 排泄 8
2.6.4.2 分析法 9
2.6.4.2.1 放射能の測定 9
2.6.4.2.2 ロキサデュスタット及び代謝物の定量 10
2.6.4.2.3 代謝物の同定及び分析 10
2.6.4.3 吸収及び薬物動態 10
2.6.4.3.1 ラットへの ^{14}C-ロキサデュスタットの単回経口投与 10
2.6.4.3.2 ラットへのロキサデュスタットの単回静脈内及び経口投与 11
2.6.4.3.3 ウサギへのロキサデュスタットの単回静脈内及び経口投与 11
2.6.4.3.4 カニクイザルへの ^{14}C-ロキサデュスタットの単回経口投与 12
2.6.4.3.5 カニクイザルへのロキサデュスタットの単回静脈内及び経口投与 12
2.6.4.3.6 マウスへのロキサデュスタットの反復経口投与 15
2.6.4.3.7 ラットへのロキサデュスタットの反復経口投与 15
2.6.4.3.8 カニクイザルへのロキサデュスタットの反復経口投与 16
2.6.4.4 分布 17
2.6.4.4.1 有色ラットへの ^{14}C-ロキサデュスタットの単回経口投与後の組織中放射能濃度 17
2.6.4.4.2 胎盤通過性 25
2.6.4.4.3 血漿蛋白結合 25
2.6.4.4.4 血球移行 25
2.6.4.5 代謝 26
2.6.4.5.1 In vitro 代謝 26
2.6.4.5.2 In vivo 代謝 26

2.6.4.5.2.1　ラットにおける代謝 27
2.6.4.5.2.2　カニクイザルにおける代謝 27
2.6.4.5.2.3　ヒトにおける代謝 28
2.6.4.5.3　動物種間の血漿中代謝物の比較 31
2.6.4.6　排泄 32
2.6.4.6.1　尿，糞及び胆汁中排泄 32
2.6.4.6.1.1　ラット 32
2.6.4.6.1.2　カニクイザル 32
2.6.4.6.2　動物種間の比較 33
2.6.4.6.3　乳汁への排泄 34
2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用 34
2.6.4.8　その他の薬物動態試験 34
2.6.4.9　考察及び結論 35
2.6.4.10　参考文献 36

表

表 2.6.4-1　雄性ラットにロキサデュスタットを単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ 11
表 2.6.4-2　雌性ウサギにロキサデュスタットを単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ 12
表 2.6.4-3　雄性カニクイザルにロキサデュスタットを単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ 14
表 2.6.4-4　雌性カニクイザルにロキサデュスタットを単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ 14
表 2.6.4-5　雄性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの組織中放射能濃度 19
表 2.6.4-6　雌性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの組織中放射能濃度 21
表 2.6.4-7　動物及びヒト尿，糞及び胆汁中の代謝物一覧 29
表 2.6.4-8　動物とヒトにおける血漿中代謝物の比較 31
表 2.6.4-9　雌雄ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットを 20 mg/kg 単回経口投与したときの尿及び糞中放射能排泄率 32

表 2.6.4-10 雄性カニクイザルに ^{14}C-ロキサデュスタットを 10 mg/kg 単回経口投与したときの尿及び糞中放射能排泄率 33
表 2.6.4-11 雄性カニクイザルに ^{14}C-ロキサデュスタットを 10 mg/kg 単回経口投与したときの尿及び胆汁中放射能排泄率.....33
表 2.6.4-12 ^{14}C-ロキサデュスタット投与後の動物及びヒトの尿及び糞中放射能排泄率.....34

図

図 2.6.4-1 ^{14}C-ロキサデュスタットの化学構造.....9
図 2.6.4-2 雄性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの組織中放射能濃度 18
図 2.6.4-3 雌性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの組織中放射能濃度 18
図 2.6.4-4 雄性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの投与後 1 時間の定量的全身オートラジオグラム.....23
図 2.6.4-5 雌性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの投与後 1 時間の定量的全身オートラジオグラム.....24
図 2.6.4-6 ロキサデュスタットの推定代謝経路（in vivo） 30

略語及び用語の一覧

略語及び用語	定義
ADME	吸収，分布，代謝及び排泄
AUC	濃度–時間曲線下面積
$AUC_{24h\ or\ 48h}$	投与時から投与後 24 又は 48 時間までの濃度–時間曲線下面積
AUC_{inf}	0 時間から無限時間まで外挿した濃度–時間曲線下面積
AUC_{last}	0 時間から最終濃度測定可能時間までの濃度–時間曲線下面積
BLQ	定量限界未満
B/P	血液／血漿
CL_{tot}	全身クリアランス
C_{max}	最高濃度
F	絶対バイオアベイラビリティ
F344	Fischer 344
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
HPLC-UV	高速液体クロマトグラフィーー紫外検出法
IV	静脈内
LC-MS	液体クロマトグラフィーー質量分析法
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィーータンデム質量分析法
$LC\text{-}MS^n$	液体クロマトグラフィーー多段階質量分析法
LLOQ	定量下限
LSC	液体シンチレーションカウンター
MET1	ロキサデュスタット代謝物:4-*O*-β-グルクロン酸抱合体, FG-10579, M12, MP4，Peak 3，H1
MET2	ロキサデュスタット代謝物：4-*O*-β-グルコース抱合体，FG-12442，M11，MP3，Peak 2，H5
MET3	ロキサデュスタット代謝物:4’-水酸化体の硫酸抱合体，FG-10949，MP6，Peak 7，H4
MET4	ロキサデュスタット代謝物：4’-水酸化体，FG-6003，Peak 6，H3
MET5	ロキサデュスタット代謝物:アシル-1-*O*-β-グルクロン酸抱合体，Peak 5，H2
MET6	ロキサデュスタット代謝物：*N*-脱カルボキシメチル体，FG-6595，Peak 4
MET7	ロキサデュスタット代謝物：*N*-脱カルボキシメチル体の酸化物，Peak 1
MET8	ロキサデュスタット代謝物：*O*-脱フェニル体，M4，MP2
MET9	ロキサデュスタット代謝物：*O*-脱フェニル体の硫酸抱合体，M5
MET10	ロキサデュスタット代謝物：*N*-脱カルボキシメチル水酸化体の硫酸抱合体，M7
MET11-1/2	ロキサデュスタット代謝物：水酸化体，M17=MET11-1，M19=MET11-2
MET12	ロキサデュスタット代謝物：水酸化体の硫酸抱合体，M16
MET13	ロキサデュスタット代謝物：水酸化体の硫酸抱合体，MP5
MS/MS	タンデム質量分析法
NA	該当せず
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NC	算出せず又は算出不能
ND	検出されず又は検出不能
NMR	核磁気共鳴法
NR	表示せず
PK	薬物動態
PO	経口

略語及び用語	定義
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー
SD	Sprague-Dawley
$t_{1/2}$	消失半減期
TK	トキシコキネティクス
t_{max}	最高濃度到達時間
V_{ss}	定常状態での分布容積

2.6.4　薬物動態試験の概要文

2.6.4.1　まとめ

ロキサデュスタットの吸収，分布，代謝及び排泄（ADME）特性を明らかにするため，マウス，ラット，ウサギ及びカニクイザルを用いた各種 in vivo 試験，並びにヒト及び動物の生体試料を用いた in vitro 試験を実施した（2.7.2 臨床薬理試験）。これらの試験では，非臨床薬理試験及び毒性試験に用いた動物種を使用した（2.6.2 薬理試験及び 2.6.6 毒性試験）。In vivo 試験の投与経路は，薬理試験，毒性試験及び臨床試験と同じである経口投与を主体とし，一部試験においては静脈内投与を用いた。

2.6.4.1.1　分析法

マウス，ラット，ウサギ及びカニクイザルにおける血漿中ロキサデュスタット濃度は，高速液体クロマトグラフィー－紫外検出法（HPLC-UV）又は液体クロマトグラフィー－タンデム質量分析法（LC-MS/MS）により測定した。ラットにおける MET6（*N*-脱カルボキシメチル体）の血漿中濃度は，LC-MS/MS により測定した。^{14}C 標識したロキサデュスタット（^{14}C-ロキサデュスタット）を投与後の生体試料中の放射能濃度は，試料に直接，若しくは，サンプルオキシダイザーで $^{14}CO_2$ を捕集した後に液体シンチレーション溶液を添加することにより液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定するか，又は定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）により測定した。放射性成分は，HPLC－放射能検出法によりプロファイリングを行った。代謝物の構造は，標準品との同時クロマトグラフィー及び液体クロマトグラフィー－質量分析法（LC-MS），液体クロマトグラフィー－多段階質量分析法（LC-MS^n）又は核磁気共鳴法（NMR）により同定又は推定した。

2.6.4.1.2　吸収及び薬物動態

Long Evans ラット（20 mg/kg）及びカニクイザル（10 mg/kg）に ^{14}C-ロキサデュスタットを単回経口投与したとき，血漿中放射能濃度はそれぞれ投与後 1 及び 1.2 時間に最高濃度（C_{max}）に達した。

Sprague-Dawley（SD）ラット（20 mg/kg）及びカニクイザル（3，10 及び 30 mg/kg）にロキサデュスタットを単回静脈内投与したとき，血漿中ロキサデュスタット濃度はそれぞれ 3.6 及び 6.9～10.8 時間の消失半減期（$t_{1/2}$）で低下した。全身クリアランス（CL_{tot}）は両動物種ともに小さく，ラットで 33.7 mL/h/kg，カニクイザルで 54.0～283 mL/h/kg であった。定常状態での分布容積（V_{ss}）は，ラットでは 177.6 mL/kg と血漿量よりも大きく，カニクイザルでは 120～600 mL/kg と血漿量よりも大きいか，体内総水分量に近い値であった。

SD ラット（6，20 及び 60 mg/kg）及びカニクイザル（3，10 及び 30 mg/kg）にロキサデュスタットを単回経口投与したとき，血漿中ロキサデュスタット濃度はそれぞれ投与後 0.3～2.1 及び 0.8～2.3 時間に C_{max} に達した。ラットでは，0 時間から無限時間まで外挿した濃度–時間曲線下面積

（AUC_{inf}）は用量に比例して増加したが，C_{max} の増加は用量比を下回っていた。カニクイザルでは，C_{max} 及び AUC_{inf} は用量比を上回って増加した（3～10 mg/kg 経口投与時の雄を除く）。ロキサデュスタットの絶対バイオアベイラビリティ（F）は，ラットで 85.6%～100.0%，カニクイザルで 40.4%～82.8%であり，経口吸収性は良好であった。

マウス, ラット及びカニクイザルに週 3 回反復経口投与したときのトキシコキネティクス（TK）試験では，ロキサデュスタットは速やかに吸収され，反復投与による顕著な薬物の蓄積や $t_{1/2}$ 値の変動は認められなかった。概して，げっ歯類の TK 試験ではほぼ用量に比例した曝露量の増加が認められたが，カニクイザルでは用量比を上回る曝露量の増加が認められた。マウス，ラット及びカニクイザルにおいて，曝露量に明らかな性差は認められなかった。

2.6.4.1.3 分布

有色（Long Evans）ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットを単回経口投与（20 mg/kg）したとき，放射能濃度はほとんどの組織で投与後 1 時間に C_{max} に達した。放射能の C_{max} が高値であった組織は，腎皮質，腎臓，肝臓，腎髄質及び肺であった。組織内放射能濃度は，消化管，肝臓及び皮膚を除いて，投与後 48 時間までに定量限界未満まで減少した。ラットにおいて，放射能の分布に明らかな性差は認められなかった。

出生前及び出生後の発生に関する試験の一環として，ロキサデュスタットを雌性 SD ラットに妊娠 7 日から 20 日まで 1 日 1 回反復経口投与（5，10 及び 20 mg/kg/日）し，胎盤通過性を評価した。検討した全ての用量において, 妊娠 20 日の胎児の血漿中からロキサデュスタットが検出され，ロキサデュスタットは胎盤を介して胎児に移行することが示唆された。

2～400 µg/mL の範囲における ^{14}C-ロキサデュスタットの in vitro 血漿蛋白結合率は，マウスで 90.12%～94.51%，ラットで 95.17%～98.60%，モルモットで 92.41%～97.61%，ウサギで 97.06%～98.57%，カニクイザルで 98.08%～98.70%であり，2～40 µg/mL の範囲におけるヒトの in vitro 血漿蛋白結合率は 98.95%～99.01%であった。マウス，ラット，モルモット及びウサギでは，高濃度（40～400 µg/mL）において，蛋白結合率が僅かに低くなる傾向が認められた。ヒト血漿中では，ロキサデュスタットは主にアルブミンに結合した。

0.4～400 µg/mL の範囲における ^{14}C-ロキサデュスタットの in vitro 血球移行率は, マウスで 23.7%～49.5%，ラットで 4.3%～19.5%，ウサギで 3.8%～11.5%，カニクイザルで 3.9%～8.8%であり，0.4～40 µg/mL の範囲におけるヒトの in vitro 血球移行率は 2.2%～6.3%であった。検討した全ての動物種において，ロキサデュスタットの in vitro 血球移行率は低く，血液／血漿（B/P）比は 0.6～1.1 であった。本傾向は，ラット及びカニクイザルを用いた in vivo マスバランス試験でも同様であった。

2.6.4.1.4 代謝

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）の存在下で，ロキサデュスタットをマウス，ラット，イヌ，カニクイザル及びヒト肝ミクロソームとともに 90 分間反応させたとき，ロキサデュスタットはほとんど代謝されなかった。一方，^{14}C-ロキサデュスタットとマウス，ラット，カニクイザル及びヒト凍結肝細胞との反応液中の主成分は，検討した全ての動物種において未変化体であったものの，13 種類の代謝物が検出された。ヒト肝細胞で生成した全ての代謝物は，ラット及びカニクイザルの肝細胞でも検出され，ヒト特異的な代謝物は検出されなかった。

^{14}C-ロキサデュスタットを経口投与後のラット，カニクイザル及びヒトから採取した血漿，尿，糞又は胆汁を用いた代謝物プロファイリング試験で，計 13 種類の代謝物（MET1～MET13）を同定又は推定した。血漿では，ヒトを含む全ての動物種において，未変化体が主成分であった。ラット血漿中では，未変化体に加えて，構造未知の 2 種類の代謝物が僅かに検出され，26 週間ラット毒性試験の血漿試料には MET6（*N*-脱カルボキシメチル体）も検出された。カニクイザル血漿中では，未変化体に加え MET3（4'-水酸化体の硫酸抱合体）が検出された。ヒト血漿では未変化体に加え MET3 が検出されたが，総薬物関連物質の 10%を超える主要代謝物は認められなかった。尿中では，ヒトを含む全ての動物種において，未変化体は僅かに検出されたのみであった。ラット尿中では，MET12（水酸化体の硫酸抱合体），MET1（4-*O*-β-グルクロン酸抱合体），MET11-1（水酸化体）及び MET8（*O*-脱フェニル体）が検出され，カニクイザル尿中では，MET1，MET3 及び MET8 が検出されたことから，酸化代謝に加え，グルクロン酸抱合及び硫酸抱合もロキサデュスタットの代謝に寄与していることが示された。ラット糞中では，未変化体が主成分であり，MET11-1 及び MET11-2（水酸化体）も検出された。カニクイザル胆汁中では，MET1 及び MET3 が未変化体よりも多く検出された。

ラットとカニクイザルに共通するロキサデュスタットの代謝経路はグルクロン酸抱合，グルコース抱合，水酸化又は酸化後の硫酸抱合及び脱フェニル化であった。ヒトでは，グルクロン酸抱合，グルコース抱合，水酸化後の硫酸抱合など同じ代謝経路が認められた。

動物種間の比較により，3 種の動物種（ラット，カニクイザル及びヒト）全てにおいて，血漿中の主成分は未変化体であり，尿中への未変化体の排泄は低かった。ヒトとカニクイザルでは，尿中代謝物 MET1 及び血漿中代謝物 MET3 が共通して認められた。ヒトとラットでは，同じ糞中成分（未変化体及びその水酸化体）が認められた。ヒトにおいて，総薬物関連物質の 10%を超える血漿中代謝物は認められなかった。ヒト血漿中で最も多く存在する代謝物は MET3 であった。本代謝物はカニクイザル血漿でも検出されており，ヒト特異的な代謝物ではなかった。その他のヒト血漿で認められた代謝物は極めて微量であった。

2.6.4.1.5 排泄

^{14}C-ロキサデュスタットを SD ラットに単回経口投与（20 mg/kg）したときの投与後 120 時間までの尿及び糞中への累積放射能排泄率は，それぞれ投与量の 16.3%～16.8%及び 77.4%～78.5%で

あった。^{14}C-ロキサデュスタットをカニクイザルに単回経口投与（10 mg/kg）したときの投与後168時間までの尿及び糞中への累積放射能排泄率は,それぞれ投与量の24.9%及び73.5%であった。^{14}C-ロキサデュスタットを胆管カニューレ処置カニクイザルに単回経口投与したときの投与後72時間までの胆汁中への放射能排泄率は51.7%であった。したがって，ラット及びカニクイザルにおける主要な放射能排泄経路は，胆汁排泄を介した糞中排泄と推察された。一方，ヒトでは尿及び糞中への放射能排泄率はほぼ等しく，投与後192時間までの尿中排泄率は投与量の45.8%，糞中排泄率は投与量の50.4%であった。

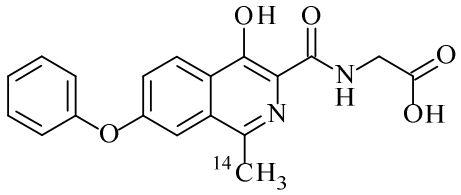
出生前及び出生後の発生に関する試験の一環として，ロキサデュスタットを雌性ラットに妊娠7日から授乳20日まで1日1回反復経口投与（5，10及び20 mg/kg）し，ロキサデュスタットの乳汁中への排泄について評価した。授乳10日のロキサデュスタットの乳汁中濃度は，同じ時点の母体血漿中濃度と比べて高かった。出生後4日及び21日の哺乳児では，ロキサデュスタットが血漿中から検出された。これらの結果から，ロキサデュスタットは乳汁中に排泄され，乳汁の摂取を介して哺乳児に吸収されることが示唆された。

2.6.4.2　分析法

2.6.4.2.1　放射能の測定

^{14}C-ロキサデュスタットは [redacted] 社([redacted], 米国)及び [redacted] 社([redacted], 英国）において合成され，比放射能は0.1887～5.671 MBq/mg（5.1～153 μCi/mg）であった。放射化学的純度は，使用した全ての試験において97%以上であった。標識位置は，イソキノリン環のメチル基であった（図2.6.4-1)。

図2.6.4-1 ^{14}C-ロキサデュスタットの化学構造



^{14}C-ロキサデュスタットを投与後の生体試料中放射能濃度は，試料に直接，若しくは，サンプルオキシダイザーで$^{14}CO_2$を捕集した後に液体シンチレーション溶液を添加することによりLSCで測定するか，又はQWBAにより測定した。血液，血漿及び組織中放射能濃度は，比放射能に基づくロキサデュスタット当量として表記した。計測効率は，適切な外部標準法を用いて補正した。検出限界はバックグラウンド値の2倍（dpm）に設定した。肝細胞，血漿，尿，胆汁及び糞中の放射性成分をHPLC－放射能検出法により測定した（2.6.4.2.3 代謝物の同定及び分析)。

2.6.4.2.2 ロキサデュスタット及び代謝物の定量

添付資料 4.2.2.1-1, 4.2.2.1-2, 4.2.2.1-3, 4.2.2.1-4, 4.2.2.1-5, 4.2.2.1-6, 4.2.2.1-7, 4.2.2.1-8, 4.2.2.1-9, 4.2.2.1-10，4.2.2.1-11，4.2.2.1-12，4.2.2.1-13，4.2.2.1-14，4.2.2.2-3，4.2.2.2-4，4.2.2.2-5（参）

マウス, ラット, ウサギ及びカニクイザルにおける血漿中ロキサデュスタット濃度は, HPLC-UV 又は LC-MS/MS により測定した。定量下限（LLOQ）は，0.05 mL のマウス，ラット，ウサギ及びカニクイザル血漿を用いた LC-MS/MS で 0.000977～0.01 µg/mL，0.025 mL のラット血漿を用いた LC-MS/MS で 0.5 µg/mL, 0.02 mL のラット血漿を用いた LC-MS/MS で 0.1 µg/mL, 0.002 mL のラット血漿を用いた LC-MS/MS で 0.01 µg/mL 又は 0.05 mL のウサギ血漿を用いた HPLC-UV で 0.1 µg/mL であった。ラットにおける MET6 の血漿中濃度は, LC-MS/MS により測定した。0.025 mL のラット血漿を用いたときの LLOQ は 0.02 µg/mL であった。また，ラットにおけるロキサデュスタットの乳汁中濃度は LC-MS/MS により測定した。0.01 mL のラット乳汁を用いたときの LLOQ は 0.0005 µg/mL であった。

ほとんどの測定法は選択性，直線性，感度，回収率，日内・日間の精度及び真度並びに安定性がバリデートされた方法であるが，一部の測定法では少なくとも直線性並びに日内の精度及び真度を確認した。また，マウス血漿では抗凝固剤（リチウム及びヘパリンナトリウム）の違いに関して，ラット血漿では抗凝固剤（リチウム及びヘパリンナトリウム），系統（SD ラットと Fischer 344［F344］ラット），妊娠状態（非妊娠，妊娠推定 7 日及び 17 日）及び年齢（胎児及び哺乳児血漿）の違いに関して，ウサギ血漿では妊娠状態（非妊娠，妊娠推定 7 日及び 19 日）の違いに関して部分バリデーションを実施した。マウス及びラット血漿での抗凝固剤の違い，ラットの系統及び年齢の違い，並びにラット及びウサギの妊娠状態の違いで，ロキサデュスタットの定量性に明らかな差は認められなかった。これらの試験の結果の要約を非臨床薬物動態試験の概要表（2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験）に示した。

2.6.4.2.3 代謝物の同定及び分析

ロキサデュスタットの代謝を明らかにするため, HPLC－放射能検出法により代謝物のプロファイリングを行った。代謝物の構造は，標準品との同時クロマトグラフィー及び液体クロマトグラフィー－質量分析法（LC-MS），液体クロマトグラフィー－多段階質量分析法（LC-MS^n）又は核磁気共鳴法（NMR）により同定又は推定した。また，放射活性又は標準品（入手可能な場合）を用いて代謝物濃度の定量を行った。必要に応じて代謝物濃度をロキサデュスタット当量に換算した。

2.6.4.3 吸収及び薬物動態

2.6.4.3.1 ラットへの ^{14}C-ロキサデュスタットの単回経口投与

添付資料 4.2.2.2-1

雌雄 Long Evans ラットに ^{14}C-ロキサデュスタット（20 mg/kg）を単回経口投与したとき，雌雄いずれにおいても，血液中及び血漿中放射能濃度は投与後 1 時間に C_{max} に達した後，投与後 96 時間まで経時的に低下した（2.6.5.3 吸収：単回投与（その１））。放射能濃度の B/P 比は，投与後 48 時間までほぼ一定であった（雄で 0.54～0.60，雌で 0.56～0.63）。

2.6.4.3.2 ラットへのロキサデュスタットの単回静脈内及び経口投与

添付資料 4.2.2.2-3

雄性 SD ラットにロキサデュスタット(20 mg/kg)を単回静脈内投与したとき, 血漿中ロキサデュスタット濃度は 3.6 時間の $t_{1/2}$ で低下した（表 2.6.4-1）。CL_{tot} 及び V_{ss} は，それぞれ 33.7 mL/h/kg 及び 177.6 mL/kg であった。ラットにおけるロキサデュスタットの CL_{tot} は小さかった。V_{ss} は血漿量（31.2 mL/kg）［Davies, 1993］よりも大きく，血漿外コンパートメントへの分布が示唆された。

雄性 SD ラットにロキサデュスタット（6，20 及び 60 mg/kg）を単回経口投与したとき，血漿中ロキサデュスタット濃度は投与後 0.3～2.1 時間に C_{max} に達した後, 2.7～5.5 時間の $t_{1/2}$ で低下した。AUC_{inf} は用量に比例して増加したが, C_{max} の増加は用量比を下回っていた。F は, それぞれ 85.6%, 100.0%及び 89.5%であった。

表 2.6.4-1 雄性ラットにロキサデュスタットを単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ

Dosing route	IV	PO	PO	PO
Dose (mg/kg)	20	6	20	60
Pharmacokinetic parameters				
CL_{tot} (mL/h/kg)	33.7 ± 2.7	NA	NA	NA
V_{ss} (mL/kg)	177.6 ± 18.8	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	0.31 ± 0.13	2.00 ± 2.68	2.06 ± 2.65
C_{max} (μg/mL)	NA	30.4 ± 7.4	70.5 ± 20.7	151 ± 3
AUC_{inf} (μg·h/mL)	596 ± 50	153 ± 50	596 ± 72	1600 ± 280
$t_{1/2}$ (h)	3.58 ± 1.39	4.11 ± 1.94	2.66 ± 0.06	5.53 ± 0.39
F (%)	NA	85.6	100.0	89.5

NA: Not applicable

Mean ± standard deviation of 3−4 animals.

2.6.4.3.3 ウサギへのロキサデュスタットの単回静脈内及び経口投与

添付資料 4.2.2.2-5（参）

探索的試験として，開発初期に，雌性 New Zealand White ウサギを用いてロキサデュスタットの薬物動態を検討した。

雌性ウサギにロキサデュスタット（30 mg/kg）を単回静脈内投与したとき，血漿中ロキサデュスタット濃度は 4.4 時間の $t_{1/2}$ で低下した（表 2.6.4-2）。CL_{tot} 及び V_{ss} はそれぞれ 106 mL/h/kg 及び 158 mL/kg であった。他の動物種と同様，ウサギにおけるロキサデュスタットの CL_{tot} は小さく，

V_{ss} は血漿量（44 mL/kg）［Davies, 1993］よりも大きく，血漿外コンパートメントへの分布が示唆された。

雌性ウサギにロキサデュスタット（5，30，100 及び 200 mg/kg）を単回経口投与したとき，血漿中ロキサデュスタット濃度は投与後 0.3～0.7 時間に C_{max} に達した後，3.3～5.6 時間の $t_{1/2}$ で低下した。C_{max} の増加は，5～30 mg/kg では用量比を上回ったが，30～200 mg/kg では用量比を下回った。AUC_{inf} 及び 0 時間から最終濃度測定可能時間までの濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）の増加は，5～200 mg/kg で用量比を上回った。

表 2.6.4-2 雌性ウサギにロキサデュスタットを単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ

Dosing route	IV	PO	PO	PO	PO
Dose (mg/kg)	30	5	30	100	200
Pharmacokinetic parameters					
CL_{tot} (mL/h/kg)	106 ± 12.2	NA	NA	NA	NA
V_{ss} (mL/kg)	158 ± 11.1	NA	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	0.300	0.728 ± 0.275	0.583 ± 0.382	0.308
C_{max} (μg/mL)	NA	4.39	50.4 ± 23.3	128 ± 39.3	168
AUC_{last} (μg·h/mL)	282 ± 32.5	6.56	103 ± 13.7	526 ± 65.7	1290
AUC_{inf} (μg·h/mL)	284 ± 30.6	NC	104 ± 14.6	528 ± 65.9	1300
$t_{1/2}$ (h)	4.39 ± 0.215	NC	5.55 ± 2.63	3.36 ± 0.565	3.25
F (%)	NA	NC	36.6	NC	NC

NA: Not applicable, NC: Not calculated or Not calculable
Mean of 2 animals (at 5 and 200 mg/kg), or mean ± standard deviation of 3 animals (at 30 and 100 mg/kg).

2.6.4.3.4 カニクイザルへの ^{14}C-ロキサデュスタットの単回経口投与

添付資料 4.2.2.2-2

雄性カニクイザルに ^{14}C-ロキサデュスタット（10 mg/kg）を単回経口投与したとき，血液中及び血漿中放射能濃度は投与後 1.2 時間に C_{max} に達した後，血液中で 10.3 時間，血漿中で 9.7 時間の $t_{1/2}$ で低下した（2.6.5.3 吸収：単回投与（その 1））。放射能濃度の B/P 比は，投与後 48 時間までほぼ一定であった（0.54～0.67）。

2.6.4.3.5 カニクイザルへのロキサデュスタットの単回静脈内及び経口投与

添付資料 4.2.2.2-4

雌雄カニクイザルにロキサデュスタット（3，10 及び 30 mg/kg）を単回静脈内投与したとき，血漿中ロキサデュスタット濃度は雄で 6.9～10.7 時間，雌で 8.6～10.8 時間の $t_{1/2}$ で低下した（表 2.6.4-3 及び表 2.6.4-4）。CL_{tot} は雄で 57.4～181 mL/h/kg，雌で 54.0～283 mL/h/kg であり，V_{ss} は雄で 120～327 mL/kg，雌で 148～600 mL/kg であった。CL_{tot} と V_{ss} はいずれも用量の増加に伴って減少した。カニクイザルにおけるロキサデュスタットの CL_{tot} は小さかった。V_{ss} の値は，雌雄いず

れにおいても血漿量（44.8 mL/kg）よりも大きく，雌の低用量（3 mg/kg）では体内総水分量（693 mL/kg）に近い値であり［Davies, 1993］，組織コンパートメントへの分布が示唆された。

雌雄カニクイザルにロキサデュスタット（3，10 及び 30 mg/kg）を単回経口投与したとき，血漿中ロキサデュスタット濃度は雄で投与後 0.8～2.3 時間，雌で投与後 0.8～2.0 時間に C_{max} に達した後，雄で 12.2～15.6 時間，雌で 11.5～15.0 時間の $t_{1/2}$ で低下した。

雌雄いずれにおいても，3～30 mg/kg を単回静脈内及び経口投与したとき，C_{max} 及び AUC_{inf} の増加は用量比を上回った（3～10 mg/kg 経口投与時の雄を除く）。

ロキサデュスタットを 3，10 及び 30 mg/kg の用量で単回経口投与したときの F は，雄でそれぞれ 72.2%，40.4%及び 57.5%，雌でそれぞれ 66.4%，51.7%及び 82.8%であった。F や他の PK パラメータに，明らかな性差は認められなかった。

表 2.6.4-3 雄性カニクイザルにロキサデュスタットを単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ

Dosing route	IV			PO		
Dose (mg/kg)	3	10	30	3	10	30
Pharmacokinetic parameters						
CL_{tot} (mL/h/kg)	181 ± 7	126 ± 24	57.4 ± 8.5	NA	NA	NA
V_{ss} (mL/kg)	327 ± 39	169 ± 16	120 ± 3	NA	NA	NA
t_{max} (h)	0.0830[a]	0.0830[a]	0.0830[a]	0.833 ± 0.289	1.33 ± 0.58	2.33 ± 1.53
C_{max} (µg/mL)	27.4 ± 0.981[a]	117 ± 29.7[a]	345 ± 15.0[a]	9.11 ± 2.91	14.0 ± 3.96	91.6 ± 47.8
AUC_{inf} (µg·h/mL)	16.609 ± 0.655	81.244 ± 15.796	531.156 ± 85.960	11.944 ± 1.151	33.042 ± 8.663	311.656 ± 113.217
$t_{1/2}$ (h)	6.91 ± 2.71	9.89 ± 1.18	10.7 ± 1.1	15.6 ± 1.4	15.2 ± 1.7	12.2 ± 2.2
F (%)	NA	NA	NA	72.2 ± 9.8	40.4 ± 2.8	57.5 ± 11.4

NA: Not applicable
Mean ± standard deviation of 3 animals.
[a] All vales are at the first sampling point after completion of IV administration.

表 2.6.4-4 雌性カニクイザルにロキサデュスタットを単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータ

Dosing route	IV			PO		
Dose (mg/kg)	3	10	30	3	10	30
Pharmacokinetic parameters						
CL_{tot} (mL/h/kg)	283 ± 38	102 ± 19	54.0 ± 17.0	NA	NA	NA
V_{ss} (mL/kg)	600 ± 139	174 ± 21	148 ± 44	NA	NA	NA
t_{max} (h)	0.0830[a]	0.0830[a]	0.0830[a]	0.833 ± 0.289	1.33 ± 0.58	2.00 ± 0.00
C_{max} (µg/mL)	25.1 ± 2.02[a]	95.4 ± 5.45[a]	300 ± 29.1[a]	4.41 ± 1.87	30.4 ± 26.6	125 ± 25.7
AUC_{inf} (µg·h/mL)	10.740 ± 1.388	100.905 ± 21.373	589.660 ± 166.210	7.136 ± 1.181	55.756 ± 44.440	475.798 ± 85.795
$t_{1/2}$ (h)	8.64 ± 2.42	9.07 ± 3.10	10.8 ± 1.8	15.0 ± 4.2	13.2 ± 2.8	11.5 ± 1.6
F (%)	NA	NA	NA	66.4 ± 4.7	51.7 ± 32.2	82.8 ± 12.2

NA: Not applicable
Mean ± standard deviation of 3 animals.
[a] All vales are at the first sampling point after completion of IV administration.

2.6.4.3.6 マウスへのロキサデュスタットの反復経口投与

添付資料 4.2.3.2-1，4.2.3.4.1-1

ICR マウスを用いた 13 週間毒性試験において, TK 評価を実施した。ロキサデュスタットを 10，30，60 及び 80 mg/kg/日（80 mg/kg/日は投与 3 日に 45 mg/kg/日に減量）の用量で週 3 回 13 週間反復経口投与し，血漿中ロキサデュスタット濃度を測定した（2.6.6.3.1 CD-1 マウスを用いた 13 週間間歇投与試験）。

ICR マウスを用いた 2 年間がん原性試験において，TK 評価を実施した。ロキサデュスタットを 15，30 及び 60 mg/kg/日の用量で週 3 回反復経口投与し，血漿中ロキサデュスタット濃度を測定した（2.6.6.5.1 CD-1 マウスを用いたがん原性試験）。

各試験の用量範囲（13 週間試験で 10～80/45 mg/kg，2 年間がん原性試験で 15～60 mg/kg）において，ほぼ用量に比例した曝露量（AUC 及び C_{max}）の増加が認められた。ロキサデュスタットを経口投与したときの最高濃度到達時間（t_{max}）は 0.5～4 時間であり，その後，ロキサデュスタット濃度は 2～6 時間の $t_{1/2}$ で低下した。t_{max} や $t_{1/2}$ には投与量や反復投与による顕著な影響は認められなかった。最長 18 カ月間の週 3 回投与において，反復投与後の明らかな血漿中濃度の蓄積は認められなかった。また，PK パラメータに性差は認められなかった。

2.6.4.3.7 ラットへのロキサデュスタットの反復経口投与

添付資料 4.2.3.2-3，4.2.3.2-4，4.2.3.2-5，4.2.3.4.1-2

連日投与又は間歇投与によるラット毒性試験において，TK 評価を実施した。初期の毒性試験は 1 日 1 回の連日投与で実施したが，現在の臨床での用法は週 3 回の間歇投与のため，26 週間毒性試験及び 2 年間がん原性試験は週 3 回投与で実施した。

SD ラットを用いた 4 週間毒性試験では，ロキサデュスタットを 2，20 及び 60 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 28 日間反復経口投与し，ロキサデュスタットの血漿中濃度を測定した（2.6.6.3.3 SD ラットを用いた 4 週間連日投与試験）。ロキサデュスタットの AUC_{24h} 及び C_{max} は投与期間によらず用量に比例して増加したことから, 単回投与では 2～60 mg/kg, 28 日間反復投与では 2～20 mg/kg の用量範囲においてロキサデュスタットの薬物動態に線形性が示された。1 日目と 28 日目の曝露量は同程度で，反復投与による蓄積又は減少は認められなかった。また，PK パラメータに明らかな性差は認められなかった。

ラットの 26 週間毒性試験（F344 及び SD ラットに 5，15，30 及び 40 mg/kg/日）及び 2 年間がん原性試験（SD ラットに 2.5，5 及び 10 mg/kg/日）では，週 3 回間歇投与し，血漿中ロキサデュスタット濃度を測定した（2.6.6.3.4 SD ラットを用いた 26 週間間歇投与試験，2.6.6.3.5 F344 ラットを用いた 26 週間間歇投与試験及び 2.6.6.5.2 SD ラットを用いたがん原性試験）。いずれの試験の用量範囲（26 週間試験で 5～40 mg/kg/日，2 年間がん原性試験で 2.5～10 mg/kg/日）においても，ほぼ用量に比例した曝露量（AUC 及び C_{max}）の増加が認められた。ロキサデュスタットを経口投与したときの t_{max} は 0.5～4 時間であり，その後，ロキサデュスタット濃度は 2～10 時間の $t_{1/2}$ で低

下した。t_{max} や $t_{1/2}$ には投与量や反復投与による顕著な影響は認められなかった。最長 2 年間の週 3 回反復投与による明らかな血漿中濃度の蓄積は認められなかった。また，PK パラメータに性差は認められなかった。

2.6.4.3.8 カニクイザルへのロキサデュスタットの反復経口投与

添付資料 4.2.3.2-7，4.2.3.2-8，4.2.3.2-9

連日投与又は間歇投与によるカニクイザル毒性試験において，TK 評価を実施した。初期の毒性試験は 1 日 1 回の連日投与で実施されたが，現在の臨床での用法は週 3 回の間歇投与のため，22 週間及び 52 週間毒性試験は週 3 回投与で実施した。

カニクイザルを用いた 4 週間毒性試験では，ロキサデュスタットを 1，10 及び 30 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 28 日間反復経口投与し，血漿中ロキサデュスタット濃度を測定した（2.6.6.3.7 カニクイザルを用いた 4 週間連日投与試験）。AUC_{24h} 及び C_{max} は投与期間によらず用量比を上回って増加したことから，1～30 mg/kg の用量範囲で単回及び反復投与後のロキサデュスタットの薬物動態に非線形性が示された。28 日目の各用量群の AUC_{24h} 及び C_{max} は 1 日目よりも高く（それぞれ 59%～197%及び 64%～303%高い），反復投与後のロキサデュスタットの蓄積が示唆された。また，単回投与後の雄の AUC_{24h} は雌よりも高く（37%～52%），その傾向は 28 日目の方がより顕著であった（雄の方が 70%～118%高かった）。

カニクイザルの 22 週間毒性試験（1，10，30 及び 40 mg/kg/日）及び 52 週間毒性試験（3，10，20 及び 30 mg/kg/日）では，週 3 回間歇投与し，血漿中ロキサデュスタット濃度を測定した（2.6.6.3.8 カニクイザルを用いた 22 週間間歇投与試験及び 2.6.6.3.9 カニクイザルを用いた 52 週間間歇投与試験）。いずれの試験の用量範囲（22 週間試験で 1～40 mg/kg/日，52 週間試験で 3～30 mg/kg/日）においても，用量比を上回る曝露量の増加が全体的に認められた。ロキサデュスタットは投与後，速やかに吸収され（t_{max} は 1～3 時間），その後，血漿中ロキサデュスタット濃度は 8～12 時間の $t_{1/2}$ で低下した。t_{max} や $t_{1/2}$ には投与量や反復投与による顕著な影響は認められなかった。最長約 12 カ月間の週 3 回反復投与による明らかな血漿中濃度の蓄積は認められなかった。また，PK パラメータに性差は認められなかった。

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 有色ラットへの ^{14}C-ロキサデュスタットの単回経口投与後の組織中放射能濃度

添付資料 4.2.2.2-1

雌雄有色（Long Evans）ラットに ^{14}C-ロキサデュスタット（20 mg/kg）を単回経口投与し，QWBA により投与後 96 時間までの放射能の組織分布を評価した（図 2.6.4-2，図 2.6.4-3，表 2.6.4-5 及び表 2.6.4-6）。

投与後 1 時間（最初の採取時点）において，放射能は検討した全ての組織において検出された（図 2.6.4-4 及び図 2.6.4-5）。ほとんどの組織において，放射能濃度は投与後 1 時間に C_{max} に達した。放射能濃度は，血流量の多い，消失に関与する組織（例：肝臓，腎臓）で高い傾向を示した。放射能は，消化管，肝臓及び皮膚を除いて，投与後 48 時間までに検出限界未満まで減少した。消化管を除き，放射能の C_{max} が高値であった組織は（高い順から），雄で腎皮質，腎臓，肝臓，腎髄質，肺及び心筋，雌で腎皮質，肝臓，腎臓，腎髄質，肺及び副腎であった。放射能の C_{max} が低値であった組織は（低い順から），雄で精嚢，髄質，脊髄，大脳，骨及び眼球，雌で脊髄，髄質，嗅葉，大脳，小脳及び眼球であった。投与後 96 時間では，雄の皮膚並びに雌の肝臓及び皮膚を除いて，検討した全ての組織において，放射能は検出限界未満であった。放射能の分布に明らかな性差は認められなかった。

図 2.6.4-2 雄性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの20 mg/kg を単回経口投与したときの組織中放射能濃度

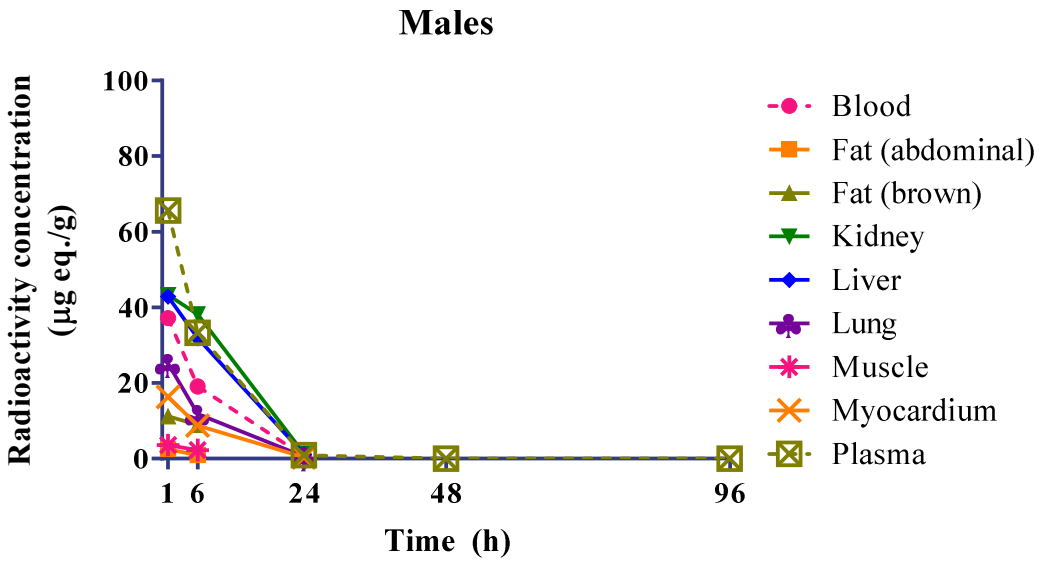


図 2.6.4-3 雌性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの20 mg/kg を単回経口投与したときの組織中放射能濃度

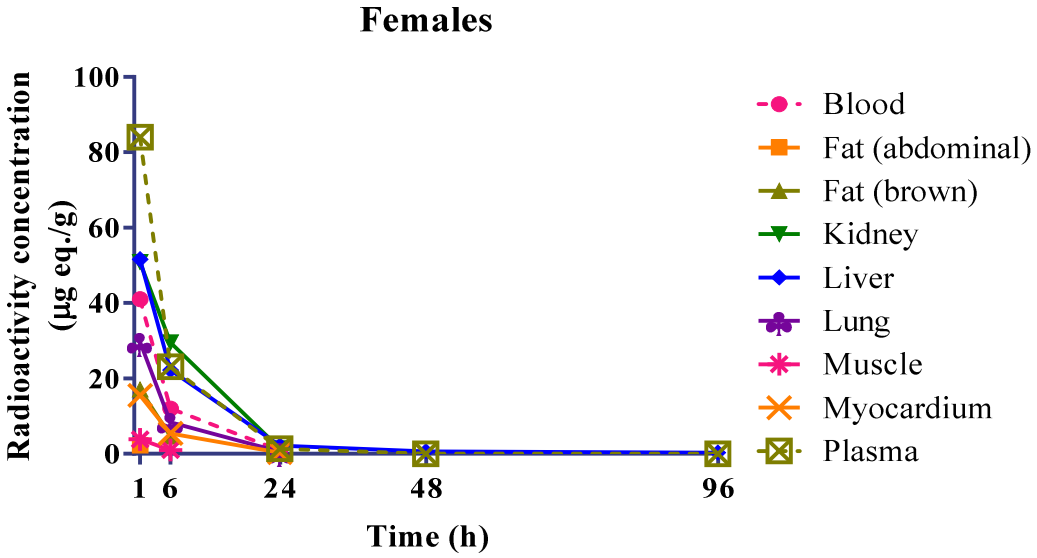


表 2.6.4-5 雄性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの組織中放射能濃度

Tissue	Radioactivity concentrations in tissue (μg eq./g)				
	1 h	6 h	24 h	48 h	96 h
Adrenal gland	14.0	9.41	ND	ND	ND
Bile	169	112	ND	ND	ND
Blood	37.2	19.1	0.633	ND	ND
Bone	0.875	0.455	ND	ND	ND
Bone marrow	7.79	5.66	ND	ND	ND
Cecum	8.63	9.24	2.02	BLQ	ND
Cecum contents	8.96	634	39.3	1.96	ND
Cerebellum	1.06	0.389	BLQ	ND	ND
Cerebrum	0.632	0.405	BLQ	ND	ND
Diaphragm	8.35	4.26	BLQ	ND	ND
Epididymis	5.60	5.94	0.305	ND	ND
Esophageal contents	5.53	0.530	BLQ	ND	ND
Esophagus	12.0	4.77	ND	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	12.3	8.33	0.419	ND	ND
Eye	1.05	0.613	BLQ	ND	ND
Eye (lens)	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
Fat (abdominal)	2.58	0.918	BLQ	ND	ND
Fat (brown)	11.2	8.95	ND	ND	ND
Harderian gland	9.60	5.16	0.330	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	13.1	8.60	0.337	ND	NR
Kidney	43.3	38.2	1.34	BLQ	ND
Large intestinal contents	0.391	316	36.4	2.23	ND
Large intestine	11.5	6.12	1.99	BLQ	ND
Liver	42.9	31.9	1.17	BLQ	ND
Lung	25.2	11.9	0.501	ND	ND
Medulla	0.525	BLQ	BLQ	ND	ND
Muscle	3.62	2.33	BLQ	ND	ND
Myocardium	16.4	8.75	0.375	ND	ND
Nasal turbinates	10.9	5.40	0.322	ND	ND
Olfactory lobe	1.39	0.344	BLQ	ND	ND
Pancreas	8.21	3.98	0.348	ND	ND
Pituitary gland	14.4	7.32	ND	ND	ND
Preputial gland	3.93	2.84	0.373	ND	ND
Prostate	4.06	2.76	ND	ND	ND
Renal cortex	52.2	47.4	1.40	ND	ND
Renal medulla	28.7	22.1	1.17	ND	ND
Salivary gland	15.9	6.37	0.417	ND	ND
Seminal vesicle	0.491	0.355	ND	ND	ND
Skin	9.72	7.65	1.79	1.75	0.528
Small intestinal contents	1070	201	9.18	0.782	ND
Small intestine	25.4	6.30	0.642	BLQ	ND
Spinal cord	0.628	BLQ	BLQ	ND	ND
Spleen	6.51	3.35	BLQ	ND	ND
Stomach	8.44	3.95	0.489	ND	ND
Stomach contents	303	0.48	BLQ	BLQ	ND

表 2.6.4-5 雄性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの組織中放射能濃度（続き）

Tissue	Radioactivity concentrations in tissue (μg eq./g)				
	1 h	6 h	24 h	48 h	96 h
Testis	3.28	3.20	0.414	ND	ND
Thymus	4.71	2.60	ND	ND	ND
Thyroid	12.9	5.94	ND	ND	ND
Urinary bladder	10.9	6.71	0.346	ND	ND
Urine	10.0	33.9	1.05	ND	ND
Uveal tract	ND	4.42	ND	ND	ND
Blood (LSC)	35.7	19.8	0.564	0.0354	BLQ
Plasma (LSC)	65.6	33.3	0.933	0.0637	0.0202

BLQ: Below limit of quantitation, LSC: Liquid scintillation counter, ND: Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue), NR: Not represented (tissue not present in section)

表 2.6.4-6 雌性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの組織中放射能濃度

Tissue	Radioactivity concentrations in tissue (μg eq./g)				
	1 h	6 h	24 h	48 h	96 h
Adrenal gland	19.1	4.95	0.309	ND	ND
Bile	81.1	52.3	9.62	ND	ND
Blood	41.0	12.0	0.973	ND	ND
Bone	1.25	BLQ	ND	ND	ND
Bone marrow	11.2	3.09	ND	ND	ND
Cecum	16.8	10.9	1.65	BLQ	ND
Cecum contents	9.28	678	27.7	2.13	BLQ
Cerebellum	0.857	0.435	ND	ND	ND
Cerebrum	0.595	0.577	ND	ND	ND
Diaphragm	8.21	3.71	0.300	ND	ND
Esophageal contents	3.17	BLQ	BLQ	ND	ND
Esophagus	16.4	3.61	BLQ	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	13.5	3.40	0.431	ND	ND
Eye	0.889	BLQ	BLQ	ND	ND
Eye (lens)	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
Fat (abdominal)	2.31	BLQ	BLQ	ND	ND
Fat (brown)	17.1	4.62	ND	ND	ND
Harderian gland	15.7	3.83	ND	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	16.8	4.04	ND	ND	ND
Kidney	50.9	29.5	1.48	BLQ	ND
Large intestinal contents	NR	NR	58.9	4.14	ND
Large intestine	15.8	5.50	0.828	BLQ	ND
Liver	51.6	22.2	2.19	0.744	0.338
Lung	29.7	8.35	0.657	ND	ND
Medulla	0.565	BLQ	ND	ND	ND
Muscle	3.91	1.08	ND	ND	ND
Myocardium	15.5	5.45	0.372	ND	ND
Nasal turbinates	8.44	1.99	ND	ND	ND
Olfactory lobe	0.583	0.576	ND	ND	ND
Ovary	13.2	4.92	0.355	ND	ND
Pancreas	10.0	2.63	BLQ	ND	ND
Pituitary gland	14.6	5.99	ND	ND	ND
Preputial gland	6.80	1.69	ND	ND	ND
Renal cortex	54.8	25.1	1.31	ND	ND
Renal medulla	49.9	30.5	1.77	ND	ND
Salivary gland	14.0	3.90	0.448	ND	ND
Skin	8.25	4.14	1.28	1.44	0.582
Small intestinal contents	860	181	23.0	1.61	ND
Small intestine	33.5	12.0	1.16	BLQ	ND
Spinal cord	0.411	BLQ	ND	ND	ND
Spleen	8.19	2.12	ND	ND	ND
Stomach	12.9	2.96	0.352	ND	ND
Stomach contents	296	2.97	0.729	BLQ	ND
Thymus	5.65	2.10	ND	ND	ND
Thyroid	13.0	4.46	BLQ	ND	ND

表 2.6.4-6 雌性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの組織中放射能濃度（続き）

Tissue	Radioactivity concentrations in tissue (μg eq./g)				
	1 h	6 h	24 h	48 h	96 h
Urinary bladder	10.7	5.58	ND	ND	ND
Urine	NR	37.9	ND	ND	ND
Uterus	11.3	4.99	ND	ND	ND
Uveal tract	6.30	3.07	ND	ND	ND
Blood (LSC)	46.7	12.9	0.792	0.0352	BLQ
Plasma (LSC)	84.0	23.1	1.34	0.0561	0.0148

BLQ: Below limit of quantitation, LSC: Liquid scintillation counter, ND: Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue), NR: Not represented (tissue not present in section)

図 2.6.4-4 雄性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの投与後 1 時間の定量的全身オートラジオグラム

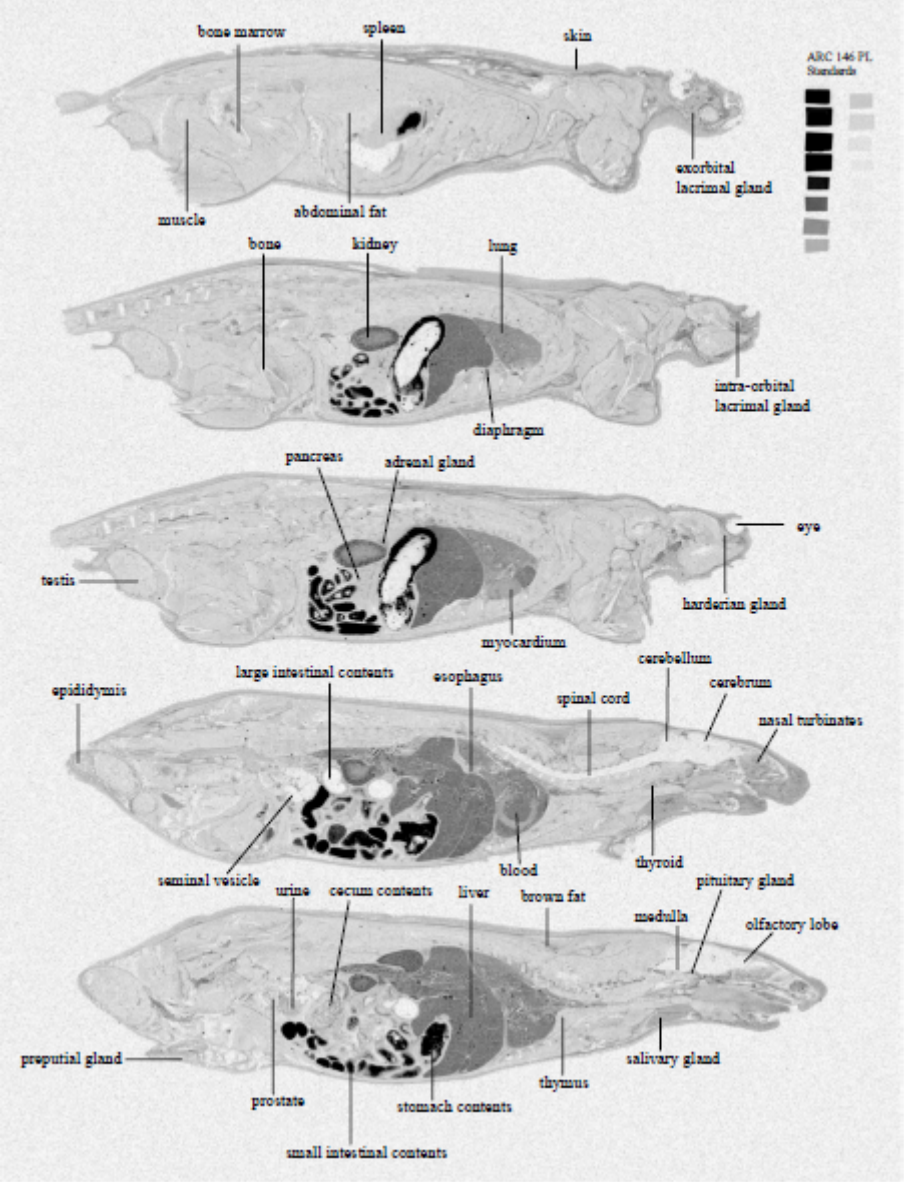
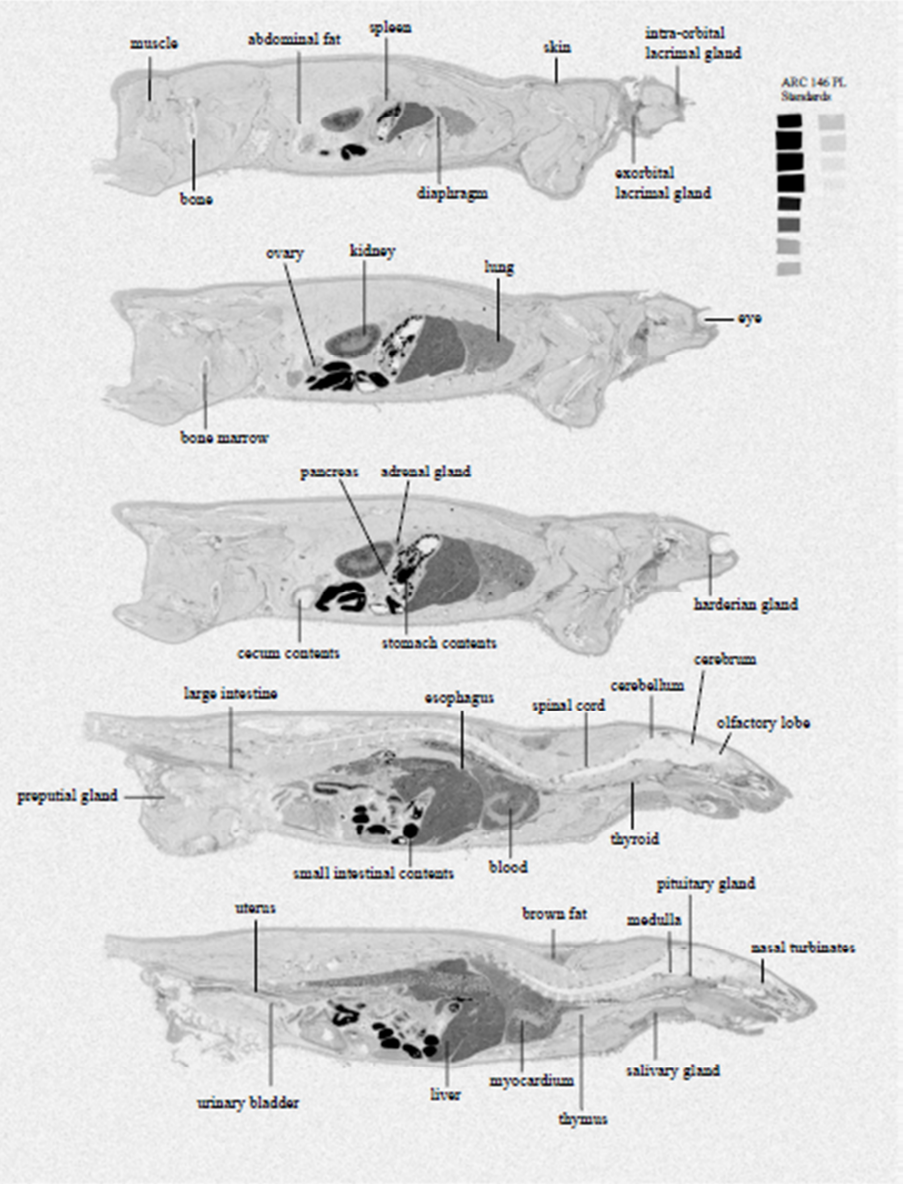


図 2.6.4-5 雌性有色ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットの 20 mg/kg を単回経口投与したときの投与後 1 時間の定量的全身オートラジオグラム



2.6.4.4.2 胎盤通過性

添付資料 4.2.3.5.3-1

出生前及び出生後の発生に関する試験の一環として，ロキサデュスタットを雌性 SD ラットに妊娠 7 日から 20 日まで 5，10 及び 20 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回反復経口投与し，母体及び胎児におけるロキサデュスタット濃度を評価した（2.6.5.6 妊娠又は授乳動物における試験）。妊娠 20 日の母体及び胎児から血漿を採取し，ロキサデュスタット濃度を LC-MS/MS により測定した。検討した全ての用量において，ロキサデュスタットが胎児血漿中から検出され，ロキサデュスタットが胎盤を介して胎児に移行することが示唆された。

2.6.4.4.3 血漿蛋白結合

添付資料 5.3.2.1-1

マウス，ラット，モルモット，ウサギ，カニクイザル及びヒトにおける ^{14}C-ロキサデュスタットの in vitro 血漿蛋白結合を，平衡透析法により測定した（2.6.5.5 蛋白結合）。

2～400 μg/mL の範囲における ^{14}C-ロキサデュスタットの血漿蛋白結合率は，マウスで 90.12%～94.51%，ラットで 95.17%～98.60%，モルモットで 92.41%～97.61%，ウサギで 97.06%～98.57%，カニクイザルで 98.08%～98.70%であり，2～40 μg/mL の範囲におけるヒトの血漿蛋白結合率は 98.95%～99.01%であった。これらの結果から，ロキサデュスタットの血漿蛋白結合率は高く，マウス，ラット，モルモット，ウサギ及びヒトでは 2～40 μg/mL の範囲で，カニクイザルでは 2～400 μg/mL の範囲で，明らかな濃度依存性を示さないことが明らかとなった。一方，マウス，ラット，モルモット及びウサギの血漿蛋白結合率は，40～400 μg/mL の範囲で僅かに低下した。ヒト血漿中では，ロキサデュスタットは主にアルブミンに結合した（2.7.2.2.1.1.1 In vitro 血漿蛋白結合率）。

2.6.4.4.4 血球移行

添付資料 4.2.2.2-1，4.2.2.2-2，5.3.2.1-2

マウス，ラット，ウサギ，カニクイザル及びヒトにおける ^{14}C-ロキサデュスタットの in vitro 血球移行率を検討した（2.6.5.7 血球移行）。

0.4～400 μg/mL の範囲における ^{14}C-ロキサデュスタットの血球移行率は，マウスで 23.7%～49.5%，ラットで 4.3%～19.5%，ウサギで 3.8%～11.5%，カニクイザルで 3.9%～8.8%であり，0.4～40 μg/mL の範囲におけるヒトでの血球移行率は 2.2%～6.3%であった。放射能濃度の B/P 比は，マウスで 0.8～1.1，ラットで 0.6～0.7，ウサギで 0.6，カニクイザルで 0.6～0.7，ヒトで 0.6 であった。検討した全ての動物種において，ロキサデュスタットの血球移行率は低く，マウス，ラット，ウサギ及びヒトでは 0.4～40 μg/mL の範囲で，カニクイザルでは 0.4～400 μg/mL の範囲で，明らかな濃度依存性は認められなかった。

ラットを用いた in vivo マスバランス試験においても，放射能濃度の B/P 比が低い傾向が認められ，投与後 48 時間までの値は雄で 0.54～0.60，雌で 0.56～0.63 であった（2.6.4.3.1 ラットへの ^{14}C-ロキサデュスタットの単回経口投与）。カニクイザルを用いた in vivo マスバランス試験においても，放射能濃度の B/P 比は低く，投与後 48 時間までほぼ一定であった（0.54～0.67）（2.6.4.3.4 カニクイザルへの ^{14}C-ロキサデュスタットの単回経口投与）。

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 In vitro 代謝

添付資料 5.3.2.2-1，5.3.2.2-2

ロキサデュスタットの in vitro 代謝安定性を，NADPH の存在下で，マウス，ラット，イヌ，カニクイザル及びヒト肝ミクロソームを用いて検討した（2.6.5.8 代謝 : In vitro（その１・ミクロソーム））。また，マウス，ラット，カニクイザル及びヒト肝細胞を用いて，代謝物の構造推定を含む ^{14}C-ロキサデュスタットの in vitro 代謝プロファイリングを実施した（2.6.5.8 代謝 : In vitro（その２・肝細胞））。

ロキサデュスタットは，NADPH を補酵素として含む動物及びヒト肝ミクロソーム中で 90 分間反応させたとき，ほとんど代謝されなかった。

^{14}C-ロキサデュスタット（200 μmol/L）をマウス，ラット，カニクイザル及びヒト凍結肝細胞と反応させた後，反応液の抽出物を，HPLC－放射能検出法及び MS/MS を用いて分析した。代謝物の構造推定には，様々な種類の質量分析スキャンモード（フルスキャン，ニュートラルロス，前駆イオン及びプロダクトイオンスキャン）を用いた。^{14}C-ロキサデュスタットとマウス，ラット，カニクイザル及びヒト肝細胞を反応させることにより計 13 種類の代謝物成分が検出されたが，検討した全ての動物種において，未変化体である ^{14}C-ロキサデュスタットが主成分であった。ヒト肝細胞反応液中の最大代謝物ピークは，水酸化体と推定される C10（総放射能の約 3.0%）であり，この代謝物は，検討した全ての動物種で検出された。マウス及びカニクイザルにおける主要な代謝物ピークは，ロキサデュスタットのグルクロン酸抱合体と推定される C4（それぞれ総放射能の約 18.5%及び約 5.2%）及び C5（それぞれ総放射能の約 12.5%及び約 3.9%）であった。ラットでは，最大の代謝物ピークは，C7（総放射能の約 8.0%）であり，*N*-脱カルボキシメチル体及びロキサデュスタットと同じ質量数を持つ構造未知の代謝物の混合物と推定された。ヒト特異的な代謝物ピークは検出されなかった。

2.6.4.5.2 In vivo 代謝

添付資料 4.2.2.2-1，4.2.2.4-1，5.3.2.2-6

雌雄 Long Evans 及び SD ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットを単回経口投与後の血漿（Long Evans ラット），尿及び糞（SD ラット），並びに雄性カニクイザルに ^{14}C-ロキサデュスタットを単回経口投与後の血漿，尿及び胆汁を用いて，代謝物の構造同定又は推定を含む in vivo 代謝プロファイリ

ングを実施した（表 2.6.4-7，図 2.6.4-6，2.6.5.9 代謝：In vivo）。放射能検出による定量的代謝物プロファイリングでは，血漿中の結果は含有率（血漿中総放射能量に対する割合）として示し，尿，糞及び胆汁中の結果は排泄率（投与量に対する割合）として表記した。また，代謝物の構造を LC-MS 又は $LC\text{-}MS^n$ により推定し，一部の代謝物は標準物質との同時クロマトグラフィーにより同定した。

2.6.4.5.2.1　ラットにおける代謝

添付資料 4.2.2.2-1

雌雄ラットに ^{14}C-ロキサデュスタット（20 mg/kg）を単回経口投与したとき，投与後 1，6 及び 24 時間の血漿では，血漿中放射能の 96%～100%が未変化体であった。加えて，2 つの構造未知の代謝物（M15 及び M20）が僅かに検出された（血漿中放射能の 3%未満）。26 週間ラット毒性試験では，MET6（*N*-脱カルボキシメチル体）の血漿中濃度を測定し，未変化体の AUC_{48h} に対する割合は 4.9%であった（2.6.6.3.5 F344 ラットを用いた 26 週間間歇投与試験）。

投与後 24 時間までの未変化体の尿中累積排泄率は僅かであり，雌では投与量の 0.33%であり，雄では検出されなかった。雄では，MET12（水酸化体の硫酸抱合体），MET1（4-*O*-β-グルクロン酸抱合体）及び MET11-1（水酸化体）が多く検出され，それぞれ投与量の 8.25%，2.51%及び 1.26%であった。雌では，MET12，MET11-1，MET8（*O*-脱フェニル体）及び MET1 が多く検出され，それぞれ投与量の 4.86%，3.93%，2.11%及び 1.79%であった。MET8 は雄でも検出され，投与量の 0.89%であった。雌雄ともに，MET9（*O*-脱フェニル体の硫酸抱合体），MET10（*N*-脱カルボキシメチル水酸化体の硫酸抱合体）及び構造未知の代謝物を含む他の残りの代謝物が僅かに（それぞれ投与量の 1.07%以下）検出された。これらのデータから，酸化代謝に加えグルクロン酸抱合及び硫酸抱合が代謝に寄与していることが示唆された。

投与後 48 時間までの未変化体の糞中累積排泄率は，雄及び雌でそれぞれ投与量の 21.1%及び 25.5%であった。雄及び雌において，検出された主要な糞中代謝物は MET11-1 であり，それぞれ投与量の 23.6%及び 20.0%であった。その他，MET11-2（水酸化体）及び M14（構造未知の代謝物）が検出され，雄でそれぞれ投与量の 3.09%及び 3.11%，雌でそれぞれ投与量の 7.15%及び 5.50%であった。構造未知の代謝物を含む他の残りの代謝物は，雌雄いずれにおいても投与量の 1.50%以下であった。

2.6.4.5.2.2　カニクイザルにおける代謝

添付資料 4.2.2.4-1，5.3.2.2-6

カニクイザルに ^{14}C-ロキサデュスタット（10 mg/kg）を単回経口投与したとき，投与後 0.25，1，2，4，6 及び 8 時間の血漿では，未変化体が主成分であり，血漿中放射能の 58.8%～81.8%であった。血漿中で検出可能であった代謝物のうち，MET3（4’-水酸化体の硫酸抱合体）が最も多く，血漿中放射能の 9.5%～19.7%であった。その他，MET8，MET1，MET13（水酸化体の硫酸抱合体）

及び 2 つの構造未知の代謝物（MP7 及び MP9）が僅か（血漿中放射能の 2.8%以下）に検出された。

投与後 24 時間までの未変化体の尿中累積排泄率は僅か(投与量の 1.1%)であった。また, MET1, MET3 及び MET8 が主要な尿中代謝物であり, それぞれ投与量の 10.5%, 5.0%及び 3.2%であった。これらのデータから，酸化代謝に加えグルクロン酸抱合及び硫酸抱合が代謝に寄与していることが示唆された。

投与後 24 時間までの未変化体の胆汁中累積排泄率は投与量の 4.3%であった。また，MET1 及び MET3 が主要な胆汁中代謝物であり，それぞれ投与量の 22.4%及び 17.6%であった。

2.6.4.5.2.3　ヒトにおける代謝

添付資料 5.3.2.2-5，5.3.2.2-6

健康男性被験者に ^{14}C-ロキサデュスタットを 200 mg の用量で単回経口投与したヒトマスバランス試験（FGCL-058 試験，2.7.2.2.2.6 マスバランス試験（海外試験））の血漿，尿及び糞中代謝プロファイルを検討した。投与後 48 時間までの全ての時点の血漿及び投与後 48 時間までのプール血漿で, 主要成分は未変化体であった(投与後 48 時間までの各時点の血漿中放射能の 82.7～96.6%及び投与後 48 時間までのプール血漿中放射能の 92%)。その他，MET3 が僅かに検出された（投与後 4 時間で血漿中放射能の 8.4%，投与後 48 時間までのプール血漿中では検出されなかった)。尿中では，主要成分は MET1 であった（投与量の 28.3%)。その他に，MET2（4-*O*-β-グルコース抱合体）（投与量の 8.1%)，MET3（投与量の 3.3%）及び MET5（アシル-1-*O*-β-グルクロン酸抱合体）（投与量の 0.6%）が検出された。尿中の未変化体は投与量の 3.3%であった。糞中では，主要成分は未変化体であった（投与量の 28.3%)。その他に，MET4（4'-水酸化体）（投与量の 17.2%)，MET7（*N*-脱カルボキシメチル体の酸化物）（投与量の 2.6%）及び MET6（*N*-脱カルボキシメチル体）（投与量の 1.1%）が検出された。

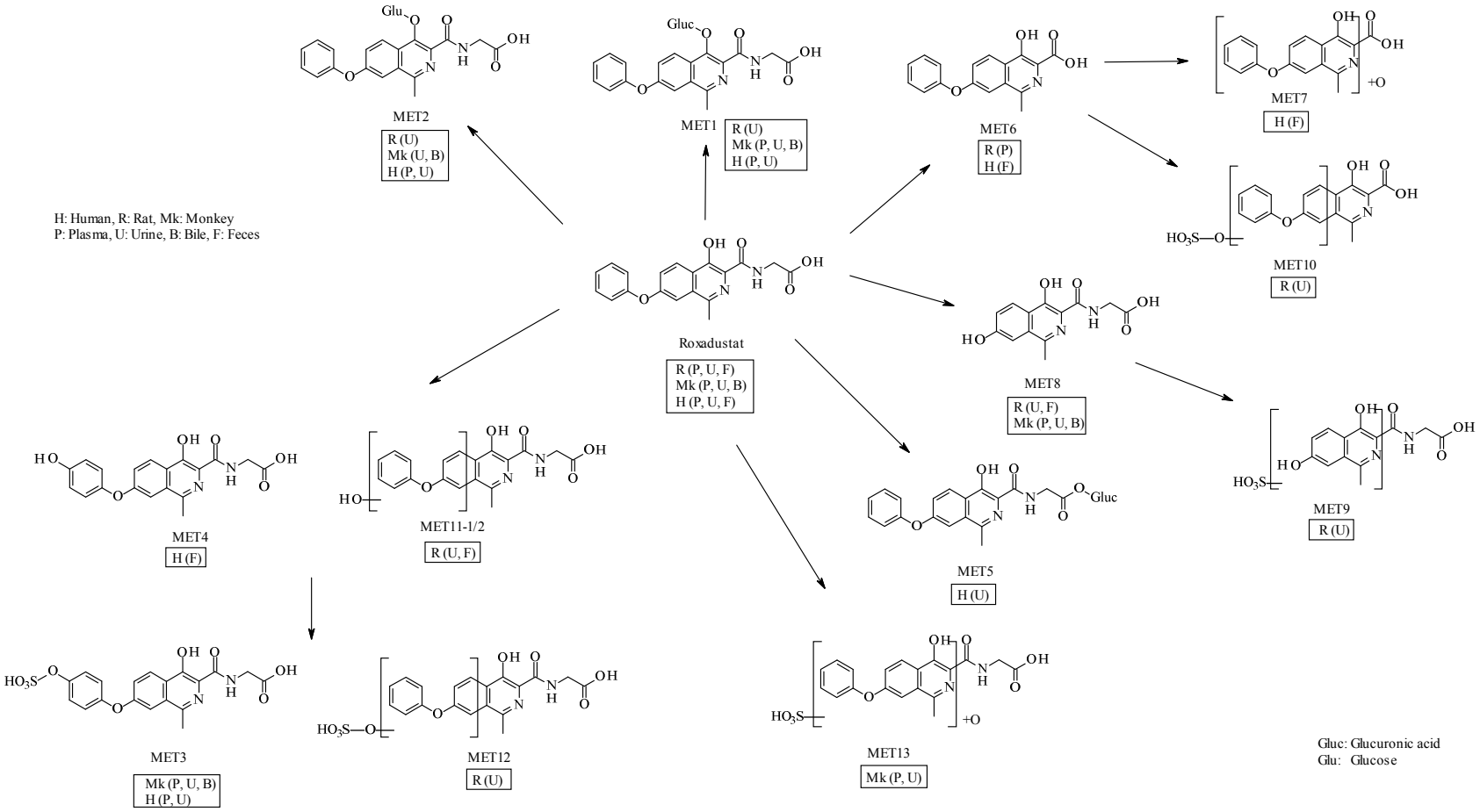
表 2.6.4-7 動物及びヒト尿，糞及び胆汁中の代謝物一覧

Metabolite ID		% of radioactivity dose							
		Rat				Cynomolgus Monkey		Human	
		Urine		Feces		Urine	Bile	Urine	Feces
		M	F	M	F	M	M	M	M
MET1	4-*O*-β-glucuronide of roxadustat	2.51	1.79	ND	ND	10.5	22.4	28.3	ND
MET2	4-*O*-β-glucoside of roxadustat	ND	0.32	ND	ND	0.5	0.9	8.1	ND
MET3	4'-*O*-sulfate conjugate of 4'-hydroxy roxadustat	NA	NA	NA	NA	5.0	17.6	3.3	ND
MET4	4'-hydroxy roxadustat	NA	NA	NA	NA	ND	ND	ND	17.2
MET5	acyl-1-*O*-β-glucuronide of roxadustat	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.6	ND
MET6	*N*-descarboxymethyl roxadustat	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1
MET7[a]	*N*-descarboxymethyl roxadustat oxide	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.6
MET8	*O*-desphenyl roxadustat	0.89	2.11	0.98	1.50	3.2	0.7	ND	ND
MET9	sulfate conjugate of *O*-desphenyl roxadustat	0.40	0.15	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MET10	sulfate conjugate of *N*-descarboxymethyl hydroxy roxadustat	0.45	0.28	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MET11-1[b]	hydroxy roxadustat	1.26	3.93	23.6	20.0	NA	NA	NA	NA
MET11-2[b]	hydroxy roxadustat	ND	ND	3.09	7.15	NA	NA	NA	NA
MET12[c]	sulfate conjugate of hydroxy roxadustat	8.25	4.86	ND	ND	NA	NA	NA	NA
MET13	sulfate conjugate of hydroxy roxadustat	ND	ND	ND	ND	0.1	ND	ND	ND
Roxadustat	unchanged parent	ND	0.33	21.1	25.5	1.1	4.3	3.3	28.3

F = Females; M = Males; ND = Not detected; NA = Not applicable
All values are estimated % of radioactivity administered

[a]: MET7 appears to be a precursor metabolite for MET10
[b]: One of MET11-1/11-2 is likely to be MET4 from LC-MS analysis in rat ADME study [Report/Study No. 301_06_3510_093].
[c]: MET12 is likely to be MET3 from LC-MS analysis in rat ADME study [Report/Study No. 301_06_3510_093].

図 2.6.4-6 ロキサデュスタットの推定代謝経路（in vivo）



2.6.4.5.3 動物種間の血漿中代謝物の比較

添付資料 4.2.2.2-1，4.2.2.4-1，5.3.2.2-5，5.3.2.2-6

ヒトに ^{14}C-ロキサデュスタット（200 mg）を単回経口投与したとき，MET3（4’-水酸化体の硫酸抱合体）及び Peak 9（構造未知の代謝物）が，血漿中代謝物として僅かに検出された（表 2.6.4-8，2.7.2.2.1.2.6 ヒト及びサル血漿中代謝物 MET3 の同定）。MET3 は血漿中放射能の 8.4%以下であった。Peak 9 は投与後 4 時間の血漿中でのみ検出され，血漿中放射能の 1%未満であった。単回投与臨床試験［CL-0508 試験，CL-0532 試験及び CL-0543 試験］では，LC-MS/MS を用いて MET3，MET1 及び MET2 を測定し，未変化体に対する各代謝物の割合の平均値は MET3 で 5.5%～7.3%，MET1 で 0.4%～0.5%，MET2 で 0.2%であった（表 2.6.4-8，2.7.2.3.1.4.1 代謝）。以上のとおり，ロキサデュスタットをヒトに投与したとき，血漿中の主成分は未変化体であり，総薬物関連物質の 10%を超える血漿中代謝物はなかった。また，ヒト血漿中で最も多く存在する代謝物は MET3 であったが，本代謝物はカニクイザル血漿でも検出されており（表 2.6.4-8），ヒト特異的な代謝物ではなかった。その他のヒト血漿で認められた代謝物は極めて微量であった。なお，MET3，MET1 及び MET2 の $t_{1/2}$ 値はそれぞれ 9.5～15.9 時間，8.1～11.0 時間及び 8.5 時間であり，週 3 回投与であることを考慮すると，ロキサデュスタットをヒトに反復投与したとき，MET1, MET2 及び MET3 は顕著に蓄積しないと予想される（2.7.2.3.1.4.1 代謝）。

表 2.6.4-8 動物とヒトにおける血漿中代謝物の比較

Human (healthy subject)	Rat	Cynomolgus Monkey
Roxadustat (82.7%–96.6%)[a] MET3 (≤8.4%)[a], [5.5%–7.3%][b] Peak 9† (≤0.9%)[a] MET1 [0.4%–0.5%][b] MET2 [0.2%][b]	Roxadustat (96.3%–100%)[a] M15† (≤2.7%)[a] M20† (≤2.0%)[a] MET6 [4.9%][c]	Roxadustat (58.8%–81.8%)[a] MET3 (9.5%–19.7%)[a] MET8 (≤2.4%)[a] MET1 (≤1.4%)[a] MET13 (≤2.8%)[a] MP7† (≤1.2%)[a] MP9† (≤0.9%)[a]

†: Unidentified metabolite.

[a] The number in parenthesis is the percentage of the sample radioactivity.

[b] The number in square bracket is the metabolite to parent ratio of AUC_{inf} (corrected for molecular weight).

[c] The number in square bracket is the metabolite to parent ratio of AUC_{48h}.

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 尿，糞及び胆汁中排泄

2.6.4.6.1.1 ラット

添付資料 4.2.2.2-1

雌雄 SD ラットに ^{14}C-ロキサデュスタット（20 mg/kg）を単回経口投与したとき，投与後 120 時間までの累積放射能排泄率は，尿中で投与量の 16.3%～16.8%，糞中で投与量の 77.4%～78.5%であった（表 2.6.4-9）。経口投与後の総放射能回収率は，雄で 95.8%，雌で 95.1%であり，排泄率の明らかな性差は認められなかった。

表 2.6.4-9 雌雄ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットを 20 mg/kg 単回経口投与したときの尿及び糞中放射能排泄率

Sampling periods	Cumulative excretion of radioactivity (% of dose)			
	Males		Females	
	Urine	Feces	Urine	Feces
0 to 6 h	2.20 ± 1.16	0.00 ± 0.01	4.13 ± 3.01	0.01 ± 0.02
0 to 12 h	11.0 ± 1.7	6.50 ± 6.00	11.1 ± 6.1	0.01 ± 0.02
0 to 24 h	16.1 ± 0.7	61.6 ± 9.2	15.1 ± 7.2	52.5 ± 16.7
0 to 48 h	16.7 ± 0.6	77.5 ± 1.8	16.2 ± 6.2	75.9 ± 3.8
0 to 72 h	16.7 ± 0.6	78.3 ± 1.5	16.2 ± 6.1	77.3 ± 5.1
0 to 96 h	16.8 ± 0.6	78.5 ± 1.5	16.3 ± 6.2	77.4 ± 5.2
0 to 120 h	16.8 ± 0.6	78.5 ± 1.5	16.3 ± 6.2	77.4 ± 5.2
Cage rinse (% of dose)[a]	0.48 ± 0.33		1.15 ± 0.54	
Cage wash (% of dose)[b]	0.02 ± 0.02		0.17 ± 0.05	
Cage wipe (% of dose)[b]	0.01 ± 0.02		0.03 ± 0.04	
Expired air (% of dose)[c]	0.03 ± 0.01		0.00 ± 0.00	
Total recovery (% of dose)[c]	95.8 ± 2.0		95.1 ± 0.5	

Mean ± standard deviation of 3 animals.

[a] up to 96 h

[b] at 120 h

[c] up to 120 h

2.6.4.6.1.2 カニクイザル

添付資料 4.2.2.2-2

雄性カニクイザルに ^{14}C-ロキサデュスタット（10 mg/kg）を単回経口投与したとき，投与後 168 時間までの累積放射能排泄率は，尿中で投与量の 24.9%，糞中で投与量の 73.5%であった（表 2.6.4-10）。経口投与後の総放射能回収率は 98.4%であった。

表 2.6.4-10 雄性カニクイザルに ^{14}C-ロキサデュスタットを 10 mg/kg 単回経口投与したときの尿及び糞中放射能排泄率

Sampling periods	Cumulative excretion of radioactivity (% of dose)	
	Urine	Feces
0 to 6 h	18.0 ± 6.7	–
0 to 24 h	22.8 ± 7.0	29.5 ± 18.6
0 to 48 h	24.0 ± 6.6	61.5 ± 2.3
0 to 72 h	24.4 ± 6.5	69.0 ± 1.4
0 to 96 h	24.8 ± 6.3	71.2 ± 2.5
0 to 120 h	24.8 ± 6.3	72.8 ± 3.9
0 to 144 h	24.9 ± 6.3	73.2 ± 4.3
0 to 168 h	24.9 ± 6.3	73.5 ± 4.6
Total recovery (% of dose)	98.4 ± 1.9	
Cage wash (% of dose)[a]	0.6 ± 0.4	

–: Not determined

Mean ± standard deviation of 3 animals.

[a] at 168 h

雄性（胆管カニューレ処置）カニクイザルに ^{14}C-ロキサデュスタット（10 mg/kg）を単回経口投与したとき，投与後 72 時間までの累積放射能排泄率は，尿中で投与量の 30.9%，胆汁中で投与量の 51.7%であったことから，ロキサデュスタットは消化管から良好に吸収されることが示唆された（表 2.6.4-11）。

表 2.6.4-11 雄性カニクイザルに ^{14}C-ロキサデュスタットを 10 mg/kg 単回経口投与したときの尿及び胆汁中放射能排泄率

Sampling periods	Cumulative excretion of radioactivity (% of dose)	
	Urine	Bile
0 to 6 h	27.4 ± 0.9	38.8 ± 4.8
0 to 24 h	30.1 ± 1.4	50.5 ± 9.7
0 to 48 h	30.8 ± 1.8	51.5 ± 8.6
0 to 72 h	30.9 ± 1.7	51.7 ± 8.6

Mean ± standard deviation of 3 animals.

2.6.4.6.2 動物種間の比較

添付資料 4.2.2.2-1，4.2.2.2-2，5.3.3.1-5

^{14}C-ロキサデュスタットを単回経口投与したときの尿及び糞中放射能排泄率は, ラットとカニクイザルで同程度であった。ラットとカニクイザルのいずれにおいても，胆汁中排泄を介した糞中排泄（カニクイザルに関しては 2.6.4.6.1.2 カニクイザルに示した）が主な排泄経路と推察され，尿中への放射能排泄は低かった（16%～25%）。対照的に，ヒトでは，尿中と糞中の放射能排泄率はほぼ等しく（2.7.2.2.2.6 マスバランス試験（海外試験)），動物とヒトでは主要排泄経路に差が

あることが示唆された（表 2.6.4-12）。また，カニクイザル胆汁中では未変化体はマイナーであったが（投与量の約 4%），ラット及びヒト糞中では未変化体が多く検出された（それぞれ投与量の 21%～26%及び 28%）。

表 2.6.4-12 ^{14}C-ロキサデュスタット投与後の動物及びヒトの尿及び糞中放射能排泄率

Species	Matrix	% of dose
Rat	Urine	16.3–16.8
	Feces	77.4–78.5
Cynomolgus Monkey	Urine	24.9
	Feces	73.5
Human	Urine	45.8
	Feces	50.4

2.6.4.6.3 乳汁への排泄

添付資料 4.2.3.5.3-1

出生前及び出生後の発生に関する試験の一環として，ロキサデュスタットを授乳中の雌性ラットに 5，10 及び 20 mg/kg の用量で妊娠 7 日から授乳 20 日まで 1 日 1 回反復経口投与し，ロキサデュスタットの乳汁中への排泄を評価した（2.6.5.15 排泄：乳汁中）。授乳 10 日に母体から母乳及び血漿を採取し，出生後 4 日及び 21 日の哺乳児から血漿を採取した。ロキサデュスタットの乳汁及び血漿中濃度を LC-MS/MS により測定した。

検討した全ての用量において，授乳 10 日のロキサデュスタットの乳汁中濃度は，同じ時点の血漿中濃度（投与約 2 時間後）に比べて高く，用量の増加に伴い増加した。出生後 4 日及び 21 日の全ての哺乳児においてロキサデュスタットが血漿から検出され，用量の増加に伴い増加した。これらの結果から，ロキサデュスタットは乳汁中に排泄され，乳汁の摂取を介して哺乳児に吸収されることが示唆された。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

動物を用いた薬物動態学的薬物相互作用試験は実施しなかった。ロキサデュスタットの in vitro 薬物相互作用試験の結果は，臨床薬理試験の項（2.7.2.2.1.3 代謝に基づく薬物相互作用試験）に示す。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

動物を用いたその他の薬物動態試験は実施しなかった。

2.6.4.9　考察及び結論

マウス，ラット，ウサギ及びカニクイザルに経口投与後，ロキサデュスタットは速やかに吸収され，F が高かったことから，動物において経口吸収性は良好であり，初回通過効果は小さいことが示された。げっ歯類のほとんどの試験で，ほぼ用量に比例した曝露量の増加が認められたが，カニクイザルでは，試験の用量範囲において用量比を上回る曝露量の増加が認められた。マウス，ラット及びカニクイザルに週 3 回反復経口投与したときの TK 試験では，ロキサデュスタットは速やかに吸収され，反復投与による顕著な薬物の蓄積や $t_{1/2}$ の変動は認められなかった。マウス，ラット及びカニクイザルにおいて，明らかな曝露量の性差は認められなかった。

ラット及びカニクイザルに単回静脈内投与したとき，ロキサデュスタットの CL_{tot} は小さく，$t_{1/2}$ はそれぞれ 3.6 及び 6.9～10.8 時間であった。ラット及びカニクイザルにおける V_{ss} は血漿量よりも大きく，血漿外コンパートメントへの分布が示唆された。ラットに ^{14}C-ロキサデュスタットを経口投与したとき，放射能は主に消化管及び消失臓器に分布し，ほとんどの組織の t_{max} 値は血漿の t_{max} 値に近かった（約 1 時間）。また，ラット組織中の放射能分布に明らかな性差は認められなかった。

ロキサデュスタットの血漿蛋白結合率は検討した全ての動物種で高かった（90%超）。ロキサデュスタットの in vitro 血球移行率は，検討した全ての動物種において低く，ロキサデュスタットは主に血漿中に存在することが示された。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験において，ロキサデュスタットが胎児血漿中で検出されたことから，胎盤を介した胎児への移行が示唆された。ロキサデュスタットの乳汁中濃度は，同じ時点の血漿中濃度に比べて高かった。ロキサデュスタットが哺乳児の血漿中で検出されたことから，ロキサデュスタットが乳汁中に排泄され，乳汁の摂取を介して哺乳児に吸収されることが示唆された。

^{14}C-ロキサデュスタットをマウス，ラット，カニクイザル及びヒト凍結肝細胞と反応させた in vitro 代謝試験では，ロキサデュスタットはほとんど代謝されなかった。^{14}C-ロキサデュスタット由来の 13 種類の代謝物成分が僅かに検出されたが，ヒト特異的な代謝物は認められなかった。

In vivo における動物種間の代謝物比較では，いずれの動物種においても未変化体が血漿中の主要成分であった。ヒト血漿中では，総薬物関連物質の 10%を超える代謝物は検出されなかった。ヒト血漿中で最も多く存在する代謝物は MET3（4’-水酸化体の硫酸抱合体）であったが，本代謝物はカニクイザル血漿でも検出されており，ヒト特異的な代謝物ではなかった。その他のヒト血漿で認められた代謝物は極めて微量であった。尿中では，3 種の動物種全てにおいて，未変化体の割合は低かった。ヒト及びカニクイザルの尿中で最も多く認められた代謝物は MET1（4-*O*-β-グルクロン酸抱合体）であり，本代謝物はラット尿中にも認められた。ヒトとラットの糞中では，未変化体とその水酸化体が多く認められた。以上の結果から，主なヒト代謝物はラット及びカニクイザルでカバーされ，これらの動物種を毒性試験で使用するのは適切と考えられた。

ラットとカニクイザルに共通するロキサデュスタットの代謝経路はグルクロン酸抱合，グルコース抱合，水酸化又は酸化後の硫酸抱合及び脱フェニル化であった。ヒトでは，グルクロン酸抱合，グルコース抱合，水酸化後の硫酸抱合などが主要代謝経路であった。

ラット又はカニクイザルに ^{14}C-ロキサデュスタットを単回経口投与したとき，放射能の大部分は糞中に排泄され（ラットで 77%～79%，カニクイザルで 74%），少量が尿中に排泄された（ラットで 16%～17%，カニクイザルで 25%）。対照的に，ヒトでは，尿中と糞中の放射能の排泄率はほぼ等しく（尿中で 46%，糞中で 50%），動物とヒトでは経口投与後の主要排泄経路に差が認められた。

2.6.4.10 参考文献

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

目次

2.6.5　薬物動態試験概要表 3
2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表 3
2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表（続き） 4
2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表（続き） 5
2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験 6
2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験（続き） 7
2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験（続き） 8
2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験（続き） 9
2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験（続き） 10
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与（その１） 11
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与（その２） 12
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与（その３） 13
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与（その３・続き） 14
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与（その４） 15
2.6.5.4　薬物動態試験：分布 16
2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き） 17
2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き） 18
2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き） 19
2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き） 20
2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き） 21
2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き） 22
2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き） 23
2.6.5.5　薬物動態試験：蛋白結合 24
2.6.5.5　薬物動態試験：蛋白結合（続き） 25
2.6.5.6　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 26
2.6.5.7　薬物動態試験：血球移行 27
2.6.5.8　薬物動態試験：代謝：In vitro（その１・ミクロソーム） 28
2.6.5.8　薬物動態試験：代謝：In vitro（その２・肝細胞） 29
2.6.5.8　薬物動態試験：代謝：In vitro（その２・肝細胞・続き） 30

2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（ラット）.....31
2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（ラット・続き）.....32
2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（ラット・続き）.....33
2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（カニクイザル）.....34
2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（カニクイザル・続き）.....35
2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（カニクイザル・続き）.....36
2.6.5.10　薬物動態試験：推定代謝経路.....37
2.6.5.10　薬物動態試験：推定代謝経路（続き）.....38
2.6.5.10　薬物動態試験：推定代謝経路（続き）.....39
2.6.5.11　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害.....40
2.6.5.12　薬物動態試験：排泄：尿・糞中（ラット）.....41
2.6.5.13　薬物動態試験：排泄：尿・糞中（カニクイザル）.....42
2.6.5.14　薬物動態試験：排泄：胆汁中.....43
2.6.5.15　薬物動態試験：排泄：乳汁中.....44
2.6.5.16　薬物動態試験：薬物相互作用.....45
2.6.5.17　薬物動態試験：その他.....46

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

被験物質：ロキサデュスタット

Type of Study	Species	Method	Testing Facility	Report/Study Number	CTD Number
Measurement Method					
Determination of plasma concentrations	Mouse	LC-MS/MS	[redacted]	301_06_3010_096	4.2.2.1-1
Determination of plasma concentrations	Mouse	LC-MS/MS	[redacted]	301_06_3010_101	4.2.2.1-2
Determination of plasma concentrations	Mouse	LC-MS/MS	[redacted]	352011024	4.2.2.1-3
Determination of plasma concentrations	Rat	LC-MS/MS	[redacted]	1517-ME-0030	4.2.2.2-3
Determination of plasma concentrations	Rat	LC-MS/MS	[redacted]	301_05_3010_055	4.2.2.1-4
Determination of plasma concentrations	Rat	LC-MS/MS	[redacted]	301-09-3520-135	4.2.2.1-5
Determination of plasma concentrations	Rat	LC-MS/MS	[redacted]	301-08-3520-127	4.2.2.1-6
Determination of plasma concentrations	Rat	LC-MS/MS	[redacted]	352014012	4.2.2.1-7
Determination of plasma concentrations	Rat	LC-MS/MS	[redacted]	352010009	4.2.2.1-8
Determination of plasma concentrations	Rat	LC-MS/MS	[redacted]	326574	4.2.2.1-13
Determination of milk concentrations	Rat	LC-MS/MS	[redacted]	352014011	4.2.2.1-9
Determination of milk concentrations	Rat	LC-MS/MS	[redacted]	327028	4.2.2.1-14
Determination of plasma concentrations	Rabbit	LC-MS/MS	[redacted]	352010021	4.2.2.1-10
Determination of plasma concentrations	Rabbit	LC-MS/MS	[redacted]	352010010	4.2.2.1-11
Determination of plasma concentrations	Cynomolgus monkey	LC-MS/MS	[redacted]	301_06_3510_077	4.2.2.2-4
Determination of plasma concentrations	Cynomolgus monkey	LC-MS/MS	[redacted]	301_05_3010_051	4.2.2.1-12
Absorption after Single Dose					
Single dose; blood and plasma radioactivity levels	Long Evans rat	Oral gavage	[redacted]	301_06_3510_093	4.2.2.2-1
Single dose; blood and plasma radioactivity levels	Cynomolgus monkey	Oral gavage	[redacted]	1517-ME-0027	4.2.2.2-2

[redacted]

LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; [redacted]

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Type of Study	Species	Method	Testing Facility	Report/Study Number	CTD Number
Single dose; roxadustat plasma levels	SD rat	IV bolus and oral gavage	[redacted]	1517-ME-0030	4.2.2.2-3
Single dose; roxadustat plasma levels	Cynomolgus monkey	IV bolus and oral gavage	[redacted]	301_06_3510_077	4.2.2.2-4
Single dose; roxadustat plasma levels (exploratory study)	NZW rabbit	IV bolus and oral gavage	FibroGen	301_07_3510_111	4.2.2.2-5
Distribution					
Tissue distribution after a single dose	Long Evans rat	Oral gavage	[redacted]	301_06_3510_093	4.2.2.2-1
Plasma protein binding	ICR mouse, SD rat, Dunkin Hartley guinea pig, NZW rabbit, Cynomolgus monkey, and human	In vitro	[redacted]	1517-ME-0033	5.3.2.1-1
Placental transfer	SD rat	Oral gavage	[redacted]	352013012	4.2.3.5.3-1
In vitro blood cell transfer	ICR mouse, SD rat, NZW rabbit, Cynomolgus monkey, and human	In vitro	[redacted]	1517-ME-0032	5.3.2.1-2
Metabolism In Vitro					
Metabolism in liver microsomes (exploratory study)	ICR mouse, SD rat, beagle dog, Cynomolgus monkey, and human	In vitro	FibroGen	301_05_3010_029	5.3.2.2-1
Metabolism in hepatocytes	ICR mouse, SD rat, Cynomolgus monkey, and human	In vitro	[redacted]	301_09_3520_132	5.3.2.2-2

[redacted]; FibroGen: FibroGen, Inc.; ICR: Institute of Cancer Research; IV: intravenous administration; [redacted]; NZW: New Zealand White; SD: Sprague-Dawley; [redacted]

2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Type of Study	Species	Method	Testing Facility	Report/Study Number	CTD Number
Metabolism In Vivo					
In vivo metabolism (plasma, urine, and feces)	Long Evans rat, SD rat	Oral gavage	[redacted]	301_06_3510_093	4.2.2.2-1
In vivo metabolism (plasma, urine, and bile)	Cynomolgus monkey	Oral gavage	[redacted]	1517-ME-0028	4.2.2.4-1
In vivo metabolism (plasma)	Cynomolgus monkey	Oral gavage	[redacted]	1517-ME-0051	5.3.2.2-6
Excretion					
Excretion of radioactivity into urine, feces, and expired air	SD rat	Oral gavage	[redacted]	301_06_3510_093	4.2.2.2-1
Excretion of radioactivity into urine and feces	Cynomolgus monkey	Oral gavage	[redacted]	1517-ME-0027	4.2.2.2-2
Excretion of radioactivity into urine and bile	Cynomolgus monkey	Oral gavage	[redacted]	1517-ME-0027	4.2.2.2-2
Excretion into milk	SD rat	Oral gavage	[redacted]	352013012	4.2.3.5.3-1

[redacted]; SD: Sprague-Dawley; [redacted]

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3010_096	301_06_3010_101	352011024	1517-ME-0030	301_05_3010_055
CTD No.	4.2.2.1-1	4.2.2.1-2	4.2.2.1-3	4.2.2.2-3	4.2.2.1-4
Species/Strain	Mouse/ICR	Mouse/ICR	Mouse/ICR	Rat/Sprague-Dawley	Rat/Sprague-Dawley
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Anti-coagulant	Lithium heparin	Lithium heparin /Sodium heparin	Sodium heparin	Sodium heparin	Lithium heparin
Internal standard	FG-6093	FG-6093	FG-7797	FG-7797	FG-6093
Substance analyzed	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat
Analytical instrument	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Extraction method	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation
Volume of matrix (mL)	0.05	0.05	0.05	0.02	0.05
Calibration range (μg/mL)	0.01 to 5	0.01 to 10	0.01 to 5	0.1 to 100	0.01 to 5
LLOQ (μg/mL)	0.01	0.01	0.01	0.1	0.01
Recovery (%)	–	85.2 to 105.1	–	93.8 to 99.8	76.0 to 82.0
Intra-assay accuracy (%)[a] (inter-assay accuracy)	−4.6 to 9 (−4.0 to −0.2)	−3.5 to 7.0 (−0.5 to 5.7)	−9.7 to −2.4 (–)	−10.4 to 0.9 (−8.6 to −0.2)	−3.5 to 7 (0 to 4)
Intra-assay precision (%)[b] (inter-assay precision)	1.15 to 6.93 (1.62 to 3.46)	1.5 to 9.3 (2.1 to 4.5)	2.1 to 4.5 (–)	1.1 to 14.4 (2.4 to 12.5)	0.87 to 5.62 (3.91 to 4.86)
Stability (temperature during storage)	184 days (−20°C and −70°C)	169 days (−80°C to −60°C)	89 days (−80°C)	–	189 days (−20°C), 310 days (−70°C)
Supporting pharmacokinetic or toxicokinetic study	301_06_3510_083	301_06_3510_078	352010016	1517-ME-0030	301_05_3510_018, 301_05_3510_019, 301_06_3510_088

FG-6093: [glycine-1,2-^{13}C] roxadustat; FG-7797: [methyl-CD_3, glycine-1,2-^{13}C] roxadustat

ICR: Institute of Cancer Research; LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LLOQ: Lower limit of quantification; –: Not investigated.
a: % for accuracy = % deviation from 100%
b: % for precision = % coefficient of variation

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_09_3520_135				301_08_3520_127	
CTD No.	4.2.2.1-5				4.2.2.1-6	
Species/Strain	Rat /Sprague-Dawley	Rat /Sprague-Dawley	Rat /Fischer 344	Rat /Fischer 344	Rat /Fischer 344	Rat /Fischer 344
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Anti-coagulant	Lithium heparin	Lithium heparin	Lithium heparin	Lithium heparin	Lithium heparin	Sodium heparin
Internal standard	FG-7797	FG-7797	FG-7797	FG-7797	FG-6093	FG-6093
Substance analyzed	Roxadustat	FG-6595	Roxadustat	FG-6595	Roxadustat	Roxadustat
Analytical instrument	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Extraction method	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation
Volume of matrix (mL)	0.025	0.025	0.025	0.025	0.05	0.05
Calibration range (µg/mL)	0.5 to 200	0.02 to 10	0.5 to 200	0.02 to 10	0.01 to 5	0.01 to 5
LLOQ (µg/mL)	0.5	0.02	0.5	0.02	0.01	0.01
Recovery (%)	–	–	96.7 to 104.6	102.0 to 109.6	83.1 to 106.0	88.9 to 105.7
Intra-assay accuracy (%)[a] (inter-assay accuracy)	−3.2 to 1.6 (–)	−13.0 to 5.0 (–)	−2.7 to 2.0 (−1.3 to 1.2)	−11.5 to 10.0 (−6.5 to 5.0)	−3.3 to 5.0 (−2.3 to 3.0)	−12.0 to 5.6 (−9.4 to 2.4)
Intra-assay precision (%)[b] (inter-assay precision)	1.0 to 2.3 (–)	1.6 to 4.9 (–)	1.2 to 3.5 (2.1 to 3.8)	1.6 to 13.7 (2.1 to 10.9)	0.9 to 4.4 (1.3 to 4.2)	0.8 to 6.1 (3.1 to 3.7)
Stability (temperature during storage)	26 days (−80°C to −60°C)	26 days (−80°C to −60°C)	26 days (−80°C to −60°C)	26 days (−80°C to −60°C)	–	–
Supporting pharmacokinetic or toxicokinetic study	–		352007004		–	

FG-6093: [glycine-1,2-^{13}C] roxadustat; FG-6595: *N*-Descarboxymethyl roxadustat; FG-7797: [methyl-CD_3, glycine-1,2-^{13}C] roxadustat

LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LLOQ: Lower limit of quantification; –: Not investigated.

a: % for accuracy = % deviation from 100%

b: % for precision = % coefficient of variation

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	352014012		352010009		
CTD No.	4.2.2.1-7		4.2.2.1-8		
Species/Strain	Rat /Sprague-Dawley	Rat /Sprague-Dawley	Rat /Sprague-Dawley	Rat /Sprague-Dawley	Rat /Sprague-Dawley
Sample	Plasma (fetus)	Plasma (pup)	Plasma (NG)	Plasma (DG7)	Plasma (DG17)
Anti-coagulant	Sodium heparin	Sodium heparin	Sodium heparin	Sodium heparin	Sodium heparin
Internal standard	FG-7797	FG-7797	FG-7797	FG-7797	FG-7797
Substance analyzed	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat
Analytical instrument	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Extraction method	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation
Volume of matrix (mL)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Calibration range (µg/mL)	0.01 to 5	0.01 to 5	0.01 to 5	0.01 to 5	0.01 to 5
LLOQ (µg/mL)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Recovery (%)	–	–	–	–	–
Intra-assay accuracy (%)[a] (inter-assay accuracy)	−7.7 to 5.7 (–)	−9.8 to −4.0 (–)	−1.0 to 0.6 (–)	−3.0 to 6.0 (–)	−3.5 to 5.6 (–)
Intra-assay precision (%)[b] (inter-assay precision)	1.8 to 2.7 (–)	2.4 to 6.4 (–)	1.6 to 3.9 (–)	1.6 to 2.6 (–)	0.9 to 5.0 (–)
Stability (temperature during storage)	99 days (−80°C)	101 days (−80°C)	174 days (−80°C)	174 days (−80°C)	174 days (−80°C)
Supporting pharmacokinetic or toxicokinetic study	352013012		352012001, 352010001, 352010015		

FG-7797: [methyl-CD_3, glycine-1,2-^{13}C] roxadustat

DG7: 7 day presumed gestation; DG17: 17 day presumed gestation; LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LLOQ: Lower limit of quantification; NG: Non-gravid; –: Not investigated.

a: % for accuracy = % deviation from 100%
b: % for precision = % coefficient of variation

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	326574	352014011	327028	352010021
CTD No.	4.2.2.1-13	4.2.2.1-9	4.2.2.1-14	4.2.2.1-10
Species/Strain	Rat /Sprague-Dawley	Rat /Sprague-Dawley	Rat /Sprague-Dawley	Rabbit /New Zealand White
Sample	Plasma	Milk	Milk	Plasma
Anti-coagulant	K_2EDTA	NA	NA	Sodium heparin
Internal standard	FG-7797	FG-7797	FG-7797	FG-7797
Substance analyzed	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat
Analytical instrument	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Extraction method	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation
Volume of matrix (mL)	0.002	0.01	0.01	0.05
Calibration range (µg/mL)	0.01 to 10	0.0005 to 0.5	0.0005 to 0.5	0.01 to 5
LLOQ (µg/mL)	0.01	0.0005	0.0005	0.01
Recovery (%)	86.5 to 91.3	–	71.1 to 118	94.1 to 108
Intra-assay accuracy (%)[a] **(inter-assay accuracy)**	-18.4 to 13.0 (-5.9 to 11.7)	−1.3 to 15.0 (1.4 to 10.7)	-6.8 to 10.4 (-0.3 to 4.3)	−12.8 to 17.0 (−3.5 to 14.0)
Intra-assay precision (%)[b] **(inter-assay precision)**	2.3 to 13.3 (7.4 to 11.9)	0.9 to 14.8 (2.1 to 11.6)	1.3 to 12.3 (5.4 to 10.1)	2.5 to 5.0 (3.4 to 8.4)
Stability **(temperature during storage)**	70 days[c] (−80°C)	219 days (−80°C)	92 days (−80°C)	69 days (−70°C)
Supporting pharmacokinetic or toxicokinetic study	4150WR	352013012	4150WR	352009028

FG-7797: [methyl-CD_3, glycine-1,2-^{13}C] roxadustat

K_2EDTA: Potassium ethylen diamino tetraacetic acid; LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LLOQ: Lower limit of quantification; NA: Not applicable; –: Not investigated.

a: % for accuracy = % deviation from 100%

b: % for precision = % coefficient of variation

c: Long-term stability was assessed with and without the presence of diluent.

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	352010010			301_06_3510_077	301_05_3010_051
CTD No.	4.2.2.1-11			4.2.2.2-4	4.2.2.1-12
Species	Rabbit /New Zealand White	Rabbit /New Zealand White	Rabbit /New Zealand White	Cynomolgus monkey	Cynomolgus monkey
Sample	Plasma (NG)	Plasma (DG7)	Plasma (DG19)	Plasma	Plasma
Anti-coagulant	Sodium heparin	Sodium heparin	Sodium heparin	K_3EDTA	Sodium heparin
Internal standard	FG-7797	FG-7797	FG-7797	FG-6093	FG-6093
Substance analyzed	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat	Roxadustat
Analytical instrument	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Extraction method	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation	Protein precipitation
Volume of matrix (mL)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Calibration range (µg/mL)	0.01 to 5	0.01 to 5	0.01 to 5	0.000977 to 4	0.01 to 5
LLOQ (µg/mL)	0.01	0.01	0.01	0.000977	0.01
Recovery (%)	–	–	–	–	81.2 to 89.2
Intra-assay accuracy (%)[a] (inter-assay accuracy)	−10.4 to 6.3 (−3.2 to 0.3)	−6.1 to 4.6 (–)	−2.7 to 3.3 (–)	−1.1 to 0.1[c] (–)	−4.75 to 4.00 (−3.75 to 0.667)
Intra-assay precision (%)[b] (inter-assay precision)	1.3 to 6.6 (4.0 to 7.0)	1.8 to 5.8 (–)	1.1 to 3.9 (–)	1.7 to 4.7[c] (–)	1.80 to 5.51 (2.75 to 3.74)
Stability (temperature during storage)	196 days (−80°C)	161 days (−80°C)	161 days (−80°C)	–	503 days (−20°C and −70°C)
Supporting pharmacokinetic or toxicokinetic study	352010002			301_06_3510_077	301_05_3510_021, 301_06_3510_082, 301_06_3520_092

FG-6093: [glycine-1,2-^{13}C] roxadustat

DG7: 7 day presumed gestation; DG19: 19 day presumed gestation; K_3EDTA: Potassium ethylen diamino tetraacetic acid; LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LLOQ: Lower limit of quantification; NG: Non-gravid; –: Not investigated.

a: % for accuracy = % deviation from 100%

b: % for precision = % coefficient of variation

c: Validation parameters are not reported in the study report, but calculated using raw data archived in the study file.

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与（その１）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093				1517-ME-0027	
CTD No.	4.2.2.2-1				4.2.2.2-2	
Species/Strain	Rat/Long Evans				Cynomolgus monkey	
Gender/Number of animals	Male/1 per time point		Female/1 per time point		Male/3	
Feeding condition	Fasted		Fasted		Fasted	
Administered drug	^{14}C-Roxadustat		^{14}C-Roxadustat		^{14}C-Roxadustat	
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80	
Method of administration	Oral gavage		Oral gavage		Oral gavage	
Dose (mg/kg)	20		20		10	
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 µCi/mg)		0.1887 MBq/mg (5.1 µCi/mg)		0.3689 MBq/mg (10.0 µCi/mg)	
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/LSC		^{14}C (total radioactivity)/LSC		^{14}C (total radioactivity)/LSC	
Sample	Blood	Plasma	Blood	Plasma	Blood	Plasma
t_{max} (h)	1	1	1	1	1.2 ± 0.8	1.2 ± 0.8
C_{max} (µg eq./g or mL)	35.7	65.6	46.7	84.0	10.02 ± 4.53	18.54 ± 8.46
AUC_{last} (µg eq.·h/mL)	NC	NC	NC	NC	32.56 ± 5.61	55.67 ± 9.64
AUC_{inf} (µg eq.·h/mL)	NC	NC	NC	NC	33.54 ± 6.26	56.92 ± 10.38
$t_{1/2}$ (h)	NC	NC	NC	NC	10.3 ± 1.0	9.72 ± 0.77

AUC_{inf}: Area under the concentration-time curve (AUC) from time 0 extrapolated to infinity; AUC_{last}: AUC from the time of dosing to the last measurable time; C_{max}: Maximum concentration; LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; NC: Not calculated; t_{max}: Time to reach C_{max}; $t_{1/2}$: Elimination half-life.

Pharmacokinetic parameters in 1517-ME-0027 study are expressed as mean ± standard deviation.

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与（その２）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	1517-ME-0030			
CTD No.	4.2.2.2-3			
Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley			
Gender/Number of animals	Male/3-4 per group			
Feeding condition	Fasted			
Administered drug	Roxadustat			
Vehicle/Formulation	1.1 eq. mol/L Sodium hydroxide in saline	1.1 eq. mol/L Sodium hydroxide in saline		
Method of administration	IV bolus	Oral gavage		
Sample	Plasma	Plasma		
Analte/Assay	Roxadustat/LC-MS/MS	Roxadustat/LC-MS/MS		
Dose (mg/kg)	20	6	20	60
Pharmacokinetic parameters				
t_{max} (h)	NA	0.31 ± 0.13	2.00 ± 2.68	2.06 ± 2.65
C_{max} (µg/mL)	NA	30.4 ± 7.4	70.5 ± 20.7	151 ± 3
AUC_{last} (µg·h/mL)	594 ± 51	122 ± 50	564 ± 85	1600 ± 260
AUC_{inf} (µg·h/mL)	596 ± 50	153 ± 50	596 ± 72	1600 ± 280
CL_{tot} (mL/h/kg)	33.7 ± 2.7	NA	NA	NA
V_{ss} (mL/kg)	177.6 ± 18.8	NA	NA	NA
$t_{1/2}$ (h)	3.58 ± 1.39	4.11 ± 1.94	2.66 ± 0.06	5.53 ± 0.39
F (%)	NA	85.6	100.0	89.5

AUC_{inf}: Area under the concentration-time curve (AUC) from time 0 extrapolated to infinity; AUC_{last}: AUC from the time of dosing to the last measurable time; CL_{tot}: Total body clearance after intravenous administration; C_{max}: Maximum concentration; F: Oral bioavailability; IV: Intravenous administration; LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA: Not applicable; t_{max}: Time to reach C_{max}; $t_{1/2}$: Elimination half-life; V_{ss}: Volume of distribution at steady-state.

Pharmacokinetic parameters are expressed as mean ± standard deviation.

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与（その３）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_077					
CTD No.	4.2.2.2-4					
Species	Cynomolgus monkey					
Gender/Number of animals	Male/3					
Feeding condition	Fasted					
Administered drug	Roxadustat					
Vehicle/Formulation	Phosphate/saline buffer (pH~8)			0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		
Method of administration	IV bolus			Oral gavage		
Sample	Plasma			Plasma		
Analyte/Assay	Roxadustat/LC-MS/MS			Roxadustat/LC-MS/MS		
Dose (mg/kg)	3	10	30	3	10	30
Pharmacokinetic parameters						
t_{max} (h)	0.0830 ± 0.0000	0.0830 ± 0.0000	0.0830 ± 0.0000	0.833 ± 0.289	1.33 ± 0.58	2.33 ± 1.53
C_{max} (µg/mL)	27.400 ± 0.981	117.000 ± 29.700	345.000 ± 15.000	9.110 ± 2.910	14.000 ± 3.960	91.600 ± 47.800
AUC_{inf} (µg·h/mL)	16.609 ± 0.655	81.244 ± 15.796	531.156 ± 85.960	11.944 ± 1.151	33.042 ± 8.663	311.656 ± 113.217
$t_{1/2}$ (h)	6.91 ± 2.71	9.89 ± 1.18	10.7 ± 1.1	15.6 ± 1.4	15.2 ± 1.7	12.2 ± 2.2
CL_{tot} (mL/h/kg)	181 ± 7	126 ± 24	57.4 ± 8.5	NA	NA	NA
V_{ss} (mL/kg)	327 ± 39	169 ± 16	120 ± 3	NA	NA	NA
F (%)	NA	NA	NA	72.2 ± 9.8	40.4 ± 2.8	57.5 ± 11.4

AUC_{inf}: Area under the concentration-time curve (AUC) from time 0 extrapolated to infinity; CL_{tot}: Total body clearance after intravenous administration; C_{max}: Maximum concentration; F: Oral bioavailability; IV: Intravenous administration; LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA: Not applicable; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; t_{max}: Time to reach C_{max}; $t_{1/2}$: Elimination half-life; V_{ss}: Volume of distribution at steady-state.

Pharmacokinetic parameters are expressed as mean ± standard deviation.

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与（その３・続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_077					
CTD No.	4.2.2.2-4					
Species	Cynomolgus monkey					
Gender/Number of animals	Female/3					
Feeding condition	Fasted					
Administered drug	Roxadustat					
Vehicle/Formulation	Phosphate/saline buffer (pH~8)			0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		
Method of administration	IV bolus			Oral gavage		
Sample	Plasma			Plasma		
Assay	Roxadustat/LC-MS/MS			Roxadustat/LC-MS/MS		
Dose (mg/kg)	3	10	30	3	10	30
Pharmacokinetic parameters						
t_{max} (h)	0.0830 ± 0.0000	0.0830 ± 0.0000	0.0830 ± 0.0000	0.833 ± 0.289	1.33 ± 0.58	2.00 ± 0.00
C_{max} (µg/mL)	25.100 ± 2.020	95.400 ± 5.450	300.000 ± 29.100	4.410 ± 1.870	30.400 ± 26.600	125.000 ± 25.700
AUC_{inf} (µg·h/mL)	10.740 ± 1.388	100.905 ± 21.373	589.660 ± 166.210	7.136 ± 1.181	55.756 ± 44.440	475.798 ± 85.795
$t_{1/2}$ (h)	8.64 ± 2.42	9.07 ± 3.10	10.8 ± 1.8	15.0 ± 4.2	13.2 ± 2.8	11.5 ± 1.6
CL_{tot} (mL/h/kg)	283 ± 38	102 ± 19	54.0 ± 17.0	NA	NA	NA
V_{ss} (mL/kg)	600 ± 139	174 ± 21	148 ± 44	NA	NA	NA
F (%)	NA	NA	NA	66.4 ± 4.7	51.7 ± 32.2	82.8 ± 12.2

AUC_{inf}: Area under the concentration-time curve (AUC) from time 0 extrapolated to infinity; CL_{tot}: Total body clearance after intravenous administration; C_{max}: Maximum concentration; F: Oral bioavailability; IV: Intravenous administration; LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA: Not applicable; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; t_{max}: Time to reach C_{max}; $t_{1/2}$: Elimination half-life; V_{ss}: Volume of distribution at steady-state.

Pharmacokinetic parameters are expressed as mean ± standard deviation.

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与（その４）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_07_3510_111 (exploratory study)				
CTD No.	4.2.2.2-5				
Species/Strain	Rabbit/New Zealand White				
Gender/Number of animals	Female/2-3 per group				
Feeding condition	Fasted				
Administered drug	Roxadustat				
Vehicle/Formulation	25 mmol/L phosphate buffer (pH~8)	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80			
Method of administration	IV bolus	Oral gavage			
Sample	Plasma	Plasma			
Analyte/Assay	Roxadustat/ HPLC-UV	Roxadustat/ HPLC-UV			
Dose (mg/kg)	30[a]	5[b]	30[a]	100[a]	200[b]
Pharmacokinetic parameters					
t_{max} (h)	NA	0.300	0.728 ± 0.275	0.583 ± 0.382	0.308
C_{max} (µg/mL)	NA	4.39	50.4 ± 23.3	128 ± 39.3	168
AUC_{last} (µg·h/mL)	282 ± 32.5	6.56	103 ± 13.7	526 ± 65.7	1290
AUC_{inf} (µg·h/mL)	284 ± 30.6	NC	104 ± 14.6	528 ± 65.9	1300
$t_{1/2}$ (h)	4.39 ± 0.215	NC	5.55 ± 2.63	3.36 ± 0.565	3.25
CL_{tot} (mL/h/kg)	106 ± 12.2	NA	NA	NA	NA
V_{ss} (mL/kg)	158 ± 11.1	NA	NA	NA	NA
F (%)	NA	NC	36.6	NC	NC

AUC_{inf}: Area under the concentration-time curve (AUC) from time 0 extrapolated to infinity; AUC_{last}: AUC from the time of dosing to the last measurable time; CL_{tot}: Total body clearance after intravenous administration; C_{max}: Maximum concentration; F: Oral bioavailability; HPLC-UV: High performance liquid chromatography equipped with ultraviolet detector; IV: Intravenous administration; NA: Not applicable; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; NC: Not calculated or Not calculable; t_{max}: Time to reach C_{max}; $t_{1/2}$: Elimination half-life; V_{ss}: Volume of distribution at steady-state.

a: Pharmacokinetic parameters are expressed as mean ± standard deviation of three individual animals.

b: Pharmacokinetic parameters are expressed as mean of two individual animals.

2.6.5.4　薬物動態試験：分布

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093				
CTD No.	4.2.2.2-1				
Species/Strain	Rat/Long Evans				
Gender/Number of animals	Male/ 1 per time point				
Feeding condition	Fasted				
Administered drug	^{14}C-Roxadustat				
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80				
Method of administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg)	20				
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)				
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/ LSC (blood and plasma) and WBA (blood and other tissues)				
Sampling time	1, 6, 24, 48, and 96 h				
Results	**Radioactivity concentrations (μg eq. of ^{14}C-roxadustat in tissue (g) by sampling time)**				
Tissue	**1 h**	**6 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**
Adrenal gland	14.0	9.41	ND	ND	ND
Bile	169	112	ND	ND	ND
Blood	37.2	19.1	0.633	ND	ND
Bone	0.875	0.455	ND	ND	ND
Bone marrow	7.79	5.66	ND	ND	ND
Cecum	8.63	9.24	2.02	BLQ	ND
Cecum contents	8.96	634	39.3	1.96	ND
Cerebellum	1.06	0.389	BLQ	ND	ND
Cerebrum	0.632	0.405	BLQ	ND	ND
Diaphragm	8.35	4.26	BLQ	ND	ND
Epididymis	5.60	5.94	0.305	ND	ND
Esophageal contents	5.53	0.530	BLQ	ND	ND
Esophagus	12.0	4.77	ND	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	12.3	8.33	0.419	ND	ND
Eye	1.05	0.613	BLQ	ND	ND
Eye (lens)	BLQ	BLQ	ND	ND	ND

BLQ: Below limit of quantitation; LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue); WBA: Whole body autoradiography.

2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093				
CTD No.	4.2.2.2-1				
Species/Strain	Rat/Long Evans				
Gender/Number of animals	Male/ 1 per time point				
Feeding condition	Fasted				
Administered drug	^{14}C-Roxadustat				
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80				
Method of administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg)	20				
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)				
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/ LSC (blood and plasma) and WBA (blood and other tissues)				
Sampling time	1, 6, 24, 48, and 96 h				
Results	**Radioactivity concentrations (μg eq. of ^{14}C-roxadustat in tissue (g) by sampling time)**				
Tissue	**1 h**	**6 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**
Fat (abdominal)	2.58	0.918	BLQ	ND	ND
Fat (brown)	11.2	8.95	ND	ND	ND
Harderian gland	9.60	5.16	0.330	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	13.1	8.60	0.337	ND	NR
Kidney	43.3	38.2	1.34	BLQ	ND
Large intestinal contents	0.391	316	36.4	2.23	ND
Large intestine	11.5	6.12	1.99	BLQ	ND
Liver	42.9	31.9	1.17	BLQ	ND
Lung	25.2	11.9	0.501	ND	ND
Medulla	0.525	BLQ	BLQ	ND	ND
Muscle	3.62	2.33	BLQ	ND	ND
Myocardium	16.4	8.75	0.375	ND	ND
Nasal turbinates	10.9	5.40	0.322	ND	ND
Olfactory lobe	1.39	0.344	BLQ	ND	ND
Pancreas	8.21	3.98	0.348	ND	ND

BLQ: Below limit of quantitation; LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue); NR: Not represented (tissue not present in section); WBA: Whole body autoradiography.

2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093				
CTD No.	4.2.2.2-1				
Species/Strain	Rat/Long Evans				
Gender/Number of animals	Male/ 1 per time point				
Feeding condition	Fasted				
Administered drug	^{14}C-Roxadustat				
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80				
Method of administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg)	20				
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)				
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/ LSC (blood and plasma) and WBA (blood and other tissues)				
Sampling time	1, 6, 24, 48, and 96 h				
Results	**Radioactivity concentrations (μg eq. of ^{14}C-roxadustat in tissue (g) by sampling time)**				
Tissue	**1 h**	**6 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**
Pituitary gland	14.4	7.32	ND	ND	ND
Preputial gland	3.93	2.84	0.373	ND	ND
Prostate	4.06	2.76	ND	ND	ND
Renal cortex	52.2	47.4	1.40	ND	ND
Renal medulla	28.7	22.1	1.17	ND	ND
Salivary gland	15.9	6.37	0.417	ND	ND
Seminal vesicle	0.491	0.355	ND	ND	ND
Skin	9.72	7.65	1.79	1.75	0.528
Small intestinal contents	1070	201	9.18	0.782	ND
Small intestine	25.4	6.30	0.642	BLQ	ND
Spinal cord	0.628	BLQ	BLQ	ND	ND
Spleen	6.51	3.35	BLQ	ND	ND
Stomach	8.44	3.95	0.489	ND	ND
Stomach contents	303	0.48	BLQ	BLQ	ND
Testis	3.28	3.20	0.414	ND	ND
Thymus	4.71	2.60	ND	ND	ND
Thyroid	12.9	5.94	ND	ND	ND

BLQ: Below limit of quantitation; LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue); WBA: Whole body autoradiography.

2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093				
CTD No.	4.2.2.2-1				
Species/Strain	Rat/Long Evans				
Gender/Number of animals	Male/ 1 per time point				
Feeding condition	Fasted				
Administered drug	^{14}C-Roxadustat				
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80				
Method of administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg)	20				
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)				
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/ LSC (blood and plasma) and WBA (blood and other tissues)				
Sampling time	1, 6, 24, 48, and 96 h				
Results	**Radioactivity concentrations (μg eq. of ^{14}C-roxadustat in tissue (g) by sampling time)**				
Tissue	**1 h**	**6 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**
Urinary bladder	10.9	6.71	0.346	ND	ND
Urine	10.0	33.9	1.05	ND	ND
Uveal tract	ND	4.42	ND	ND	ND
Blood (LSC)	35.7	19.8	0.564	0.0354	BLQ
Plasma (LSC)	65.6	33.3	0.933	0.0637	0.0202

BLQ: Below limit of quantitation; LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue); WBA: Whole body autoradiography.

2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093				
CTD No.	4.2.2.2-1				
Species/Strain	Rat/Long Evans				
Gender/Number of animals	Female/1 per time point				
Feeding condition	Fasted				
Administered drug	^{14}C-Roxadustat				
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80				
Method of administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg)	20				
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 µCi/mg)				
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/ LSC (blood and plasma) and WBA (blood and other tissues)				
Sampling time	1, 6, 24, 48, and 96 h				
Results	**Radioactivity concentrations (µg eq. of ^{14}C-roxadustat in tissue (g) by sampling time)**				
Tissue	**1 h**	**6 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**
Adrenal gland	19.1	4.95	0.309	ND	ND
Bile	81.1	52.3	9.62	ND	ND
Blood	41.0	12.0	0.973	ND	ND
Bone	1.25	BLQ	ND	ND	ND
Bone marrow	11.2	3.09	ND	ND	ND
Cecum	16.8	10.9	1.65	BLQ	ND
Cecum contents	9.28	678	27.7	2.13	BLQ
Cerebellum	0.857	0.435	ND	ND	ND
Cerebrum	0.595	0.577	ND	ND	ND
Diaphragm	8.21	3.71	0.300	ND	ND
Esophageal contents	3.17	BLQ	BLQ	ND	ND
Esophagus	16.4	3.61	BLQ	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	13.5	3.40	0.431	ND	ND
Eye	0.889	BLQ	BLQ	ND	ND
Eye (lens)	BLQ	BLQ	ND	ND	ND

BLQ: Below limit of quantitation; LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue); WBA: Whole body autoradiography.

2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093				
CTD No.	4.2.2.2-1				
Species/Strain	Rat/Long Evans				
Gender/Number of animals	Female/1 per time point				
Feeding condition	Fasted				
Administered drug	^{14}C-Roxadustat				
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80				
Method of administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg)	20				
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)				
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/ LSC (blood and plasma) and WBA (blood and other tissues)				
Sampling time	1, 6, 24, 48, and 96 h				
Results	**Radioactivity concentrations (μg eq. of ^{14}C-roxadustat in tissue (g) by sampling time)**				
Tissue	**1 h**	**6 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**
Fat (abdominal)	2.31	BLQ	BLQ	ND	ND
Fat (brown)	17.1	4.62	ND	ND	ND
Harderian gland	15.7	3.83	ND	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	16.8	4.04	ND	ND	ND
Kidney	50.9	29.5	1.48	BLQ	ND
Large intestinal contents	NR	NR	58.9	4.14	ND
Large intestine	15.8	5.50	0.828	BLQ	ND
Liver	51.6	22.2	2.19	0.744	0.338
Lung	29.7	8.35	0.657	ND	ND
Medulla	0.565	BLQ	ND	ND	ND
Muscle	3.91	1.08	ND	ND	ND
Myocardium	15.5	5.45	0.372	ND	ND
Nasal turbinates	8.44	1.99	ND	ND	ND
Olfactory lobe	0.583	0.576	ND	ND	ND
Ovary	13.2	4.92	0.355	ND	ND
Pancreas	10.0	2.63	BLQ	ND	ND

BLQ: Below limit of quantitation; LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue); NR: Not represented (tissue not present in section); WBA: Whole body autoradiography.

2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093				
CTD No.	4.2.2.2-1				
Species/Strain	Rat/Long Evans				
Gender/Number of animals	Female/1 per time point				
Feeding condition	Fasted				
Administered drug	^{14}C-Roxadustat				
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80				
Method of administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg)	20				
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)				
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/ LSC (blood and plasma) and WBA (blood and other tissues)				
Sampling time	1, 6, 24, 48, and 96 h				
Results	**Radioactivity concentrations (μg eq. of ^{14}C-roxadustat in tissue (g) by sampling time)**				
Tissue	**1 h**	**6 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**
Pituitary gland	14.6	5.99	ND	ND	ND
Preputial gland	6.80	1.69	ND	ND	ND
Renal cortex	54.8	25.1	1.31	ND	ND
Renal medulla	49.9	30.5	1.77	ND	ND
Salivary gland	14.0	3.90	0.448	ND	ND
Skin	8.25	4.14	1.28	1.44	0.582
Small intestinal contents	860	181	23.0	1.61	ND
Small intestine	33.5	12.0	1.16	BLQ	ND
Spinal cord	0.411	BLQ	ND	ND	ND
Spleen	8.19	2.12	ND	ND	ND
Stomach	12.9	2.96	0.352	ND	ND
Stomach contents	296	2.97	0.729	BLQ	ND
Thymus	5.65	2.10	ND	ND	ND
Thyroid	13.0	4.46	BLQ	ND	ND

BLQ: Below limit of quantitation; LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue); WBA: Whole body autoradiography.

2.6.5.4　薬物動態試験：分布（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093				
CTD No.	4.2.2.2-1				
Species/Strain	Rat/Long Evans				
Gender/Number of animals	Female/1 per time point				
Feeding condition	Fasted				
Administered drug	^{14}C-Roxadustat				
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80				
Method of administration	Oral gavage				
Dose (mg/kg)	20				
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 µCi/mg)				
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/ LSC (blood and plasma) and WBA (blood and other tissues)				
Sampling time	1, 6, 24, 48, and 96 h				
Results	**Radioactivity concentrations (µg eq. of ^{14}C-roxadustat in tissue (g) by sampling time)**				
Tissue	**1 h**	**6 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**
Urinary bladder	10.7	5.58	ND	ND	ND
Urine	NR	37.9	ND	ND	ND
Uterus	11.3	4.99	ND	ND	ND
Uveal tract	6.30	3.07	ND	ND	ND
Blood (LSC)	46.7	12.9	0.792	0.0352	BLQ
Plasma (LSC)	84.0	23.1	1.34	0.0561	0.0148

BLQ: Below limit of quantitation; LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue); NR: Not represented (tissue not present in section); WBA: Whole body autoradiography.

2.6.5.5 薬物動態試験：蛋白結合

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.		1517-ME-0033	
CTD No.		5.3.2.1-1	
Test system		In vitro	
Substance added		^{14}C-Roxadustat	
Specific radioactivity		0.1083, 1.083, and 2.166 MBq/mg (2.9, 29.3, and 58.5 μCi/mg)	
Sample/Collection method		Plasma/Equilibrium dialysis	
Analyte/Assay		^{14}C (total radioactivity)/LSC	
Species/Strain	**Nominal concentration (μg/mL)**	**Plasma protein binding ratio (%)**	**Unbound ratio**
Mouse/ICR	2	94.51 ± 0.21	0.0549 ± 0.0021
	10	93.44 ± 0.11	0.0656 ± 0.0011
	40	92.18 ± 0.32	0.0782 ± 0.0032
	400	90.12 ± 0.15	0.0988 ± 0.0015
Rat/Sprague-Dawley	2	98.60 ± 0.06	0.0140 ± 0.0006
	10	98.48 ± 0.01	0.0152 ± 0.0001
	40	98.32 ± 0.05	0.0168 ± 0.0005
	400	95.17 ± 0.09	0.0483 ± 0.0009
Guinea pig/Dunkin Hartley	2	97.61 ± 0.09	0.0239 ± 0.0009
	10	97.53 ± 0.05	0.0247 ± 0.0005
	40	97.17 ± 0.09	0.0283 ± 0.0009
	400	92.41 ± 0.05	0.0759 ± 0.0005
Rabbit/New Zealand White	2	98.57 ± 0.17	0.0143 ± 0.0017
	10	98.57 ± 0.17	0.0143 ± 0.0017
	40	98.36 ± 0.02	0.0164 ± 0.0002
	400	97.06 ± 0.63	0.0294 ± 0.0063
Cynomolgus monkey	2	98.70 ± 0.04	0.0130 ± 0.0004
	10	98.64 ± 0.06	0.0136 ± 0.0006
	40	98.59 ± 0.11	0.0141 ± 0.0011
	400	98.08 ± 0.13	0.0192 ± 0.0013

ICR: Institute of Cancer Research; LSC: Liquid scintillation counter.

Data are expressed as mean ± standard deviation of triplicate measurements. Mouse samples, rat samples, and guinea pig samples were prepared from pooled plasma, and the others were prepared from three individuals.

2.6.5.5　薬物動態試験：蛋白結合（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.		1517-ME-0033	
CTD No.		5.3.2.1-1	
Test system		In vitro	
Substance added		^{14}C-Roxadustat	
Specific radioactivity		0.1083, 1.083, and 2.166 MBq/mg (2.9, 29.3, and 58.5 µCi/mg)	
Sample/Collection method		Plasma/Equilibrium dialysis	
Analyte/Assay		^{14}C (total radioactivity)/LSC	
Species/Strain	**Nominal concentration (µg/mL)**	**Plasma protein binding ratio (%)**	**Unbound ratio**
Human	2	98.95 ± 0.15	0.0105 ± 0.0015
	10	99.01 ± 0.04	0.0099 ± 0.0004
	40	98.99 ± 0.04	0.0101 ± 0.0004

LSC: Liquid scintillation counter.

Data are expressed as mean ± standard deviation of triplicate measurements.

2.6.5.6　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	352013012			
CTD No.	4.2.3.5.3-1			
Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley			
Gender/Number of animals	Female/4			
Feeding condition	Not fasted			
Administered drug	Roxadustat			
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80			
Method of administration	Oral gavage			
Dose (mg/kg)	5, 10, 20			
Analyte/Assay	Roxadustat/LC-MS/MS			
Timing of measurement	Day 20 of gestation, 2 h post-dose (dams), pooled (fetuses)			
Results	**Concentrations (µg/mL)**			
Tissue	**0 (control)**	**5 mg/kg**	**10 mg/kg**	**20 mg/kg**
Plasma in dams	< LLOQ	15.8 ± 8.8 [a]	39.5 ± 4.7	82.4 ± 11.3
Plasma in fetuses	< LLOQ	1.2 ± 0.2[a]	3.3 ± 1.2	11.9 ± 3.5

LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LLOQ: lower limit of quantification; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose.

Data are expressed as mean ± standard deviation.

a: n=3

2.6.5.7　薬物動態試験：血球移行

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.		1517-ME-0032	
CTD No.		5.3.2.1-2	
Test system		In vitro	
Substance added		^{14}C-Roxadustat	
Specific radioactivity		0.05412 MBq/mg (1.5 μCi/mg)	
Sample		Blood and Plasma	
Analyte/Assay		^{14}C (total radioactivity)/LSC	
Species/Strain	**Prepared concentration (μg/mL)**	**Blood cell transfer ratio (%)**	**Blood to plasma concentration ratio**
Mouse/ICR	0.4	23.9 ± 0.5	0.8 ± 0.0
	4	23.7 ± 0.9	0.8 ± 0.0
	40	31.0 ± 0.4	0.8 ± 0.0
	400	49.5 ± 1.2	1.1 ± 0.0
Rat/Sprague-Dawley	0.4	5.5 ± 1.7	0.6 ± 0.0
	4	4.7 ± 1.2	0.6 ± 0.0
	40	4.3 ± 1.0	0.6 ± 0.0
	400	19.5 ± 1.5	0.7 ± 0.0
Rabbit/New Zealand White	0.4	3.8 ± 1.4	0.6 ± 0.0
	4	4.1 ± 1.1	0.6 ± 0.0
	40	3.9 ± 0.5	0.6 ± 0.0
	400	11.5 ± 2.0	0.6 ± 0.0
Cynomolgus monkey	0.4	3.9 ± 2.9	0.6 ± 0.0
	4	6.5 ± 1.7	0.6 ± 0.0
	40	7.1 ± 1.5	0.6 ± 0.0
	400	8.8 ± 1.1	0.7 ± 0.0
Human	0.4	2.2 ± 0.1	0.6 ± 0.1
	4	4.0 ± 0.9	0.6 ± 0.1
	40	6.3 ± 2.8	0.6 ± 0.1

ICR: Institute of Cancer Research; LSC: Liquid scintillation counter.

Data are expressed as mean ± standard deviation of triplicate measurements. Mouse samples were prepared from pooled plasma, and the others were prepared from three individuals.

2.6.5.8　薬物動態試験：代謝：In vitro（その１・ミクロソーム）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_05_3010_029 (exploratory study)
CTD No.	5.3.2.2-1
Test system	In vitro
Species/Strain	Mouse/ICR, rat/Sprague-Dawley, beagle dog, cynomolgus monkey, and human
Sample	Liver microsomes (conc.: 0.5 mg/mL)
Co-factor	NADPH
Substrate added	Roxadustat
Substrate concentration	50 μmol/L
Assay	HPLC-UV
Reaction time	90 min
Results	
Species	**Percent remaining of roxadustat (%)**
Mouse	111.0
Rat	123.8
Dog (male)	134.2
Dog (female)	142.4
Cynomolgus monkey	118.3
Human	114.2

HPLC-UV: High performance liquid chromatography with ultraviolet detector; ICR: Institute of Cancer Research; NADPH: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced).

2.6.5.8　薬物動態試験：代謝：In vitro（その２・肝細胞）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_09_3520_132													
CTD No.	5.3.2.2-2													
Test system	In vitro													
Species/Strain	Mouse/ICR, rat/Sprague-Dawley, cynomolgus monkey, and human													
Sample	Hepatocyte													
Substrate added	^{14}C-Roxadustat													
Substrate concentration	200 µmol/L													
Specific radioactivity	5.671 MBq/mg (153 µCi/mg)													
Assay	HPLC-radioactive detection, LC-MS/MS													
Reaction time	1, 2, and 4 h													
Results														
Species	Metabolic profiles in hepatocytes (% of radioactivity)													
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	Roxadustat	C13
m/z	NA	NA	NA	531	531	371	296 (ESI-), 353 (ESI-)	NA	531	371	449 (ESI-)	383 (ESI-)	355	367 (ESI-)
Mouse														
0 h	ND	1.27	ND	ND	1.54	1.71	6.22	1.16	0.64	0.73	ND	0.90	83.96	1.86
0 h (boiled)	0.31	0.10	0.36	ND	1.05	1.89	6.31	0.89	0.28	1.26	0.37	0.72	85.67	0.79
1 h	0.16	ND	0.15	6.60	4.81	0.97	5.16	0.59	0.58	1.05	0.23	0.57	78.98	0.16
2 h	0.41	0.24	0.06	11.74	8.57	0.87	3.27	0.16	0.56	0.82	0.94	0.60	71.48	0.29
4 h	0.20	ND	0.06	18.51	12.45	0.07	0.38	0.14	0.75	0.92	0.69	0.39	65.42	0.03
4 h (boiled)	0.43	ND	0.10	ND	0.22	1.30	1.18	0.57	0.31	1.15	0.32	0.35	93.14	0.93
Rat														
0 h	0.64	ND	0.16	ND	1.78	1.46	7.97	0.67	0.21	1.72	ND	0.94	83.58	0.87
0 h (boiled)	0.49	ND	0.06	0.64	0.70	1.67	6.42	0.35	ND	1.62	ND	0.51	86.58	0.97
1 h	0.33	0.13	ND	0.25	0.47	0.97	4.48	0.51	0.29	1.59	ND	0.51	89.99	0.46
2 h	0.40	0.18	0.07	0.31	0.69	1.24	6.22	0.28	0.65	1.06	0.51	0.51	87.33	0.55
4 h	0.24	ND	0.04	1.64	1.34	0.24	1.87	0.28	1.61	1.80	0.88	0.59	89.26	0.20
4 h (boiled)	0.31	0.12	ND	0.16	0.22	0.99	1.14	0.30	0.37	1.66	0.21	0.86	92.69	0.99

ESI-: Detected in negative electrospray ionization; HPLC: High performance liquid chromatography; ICR: Institute of Cancer Research; LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; m/z: Mass-to-charge ratio; NA: Not applicable; ND: Not detected.

2.6.5.8　薬物動態試験：代謝：In vitro（その２・肝細胞・続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_09_3520_132													
CTD No.	5.3.2.2-2													
Test system	In vitro													
Species/Strain	Mouse/ICR, rat/Sprague-Dawley, cynomolgus monkey, and human													
Sample	Hepatocyte													
Substrate added	^{14}C-Roxadustat													
Substrate concentration	200 µmol/L													
Specific radioactivity	5.671 MBq/mg (153 µCi/mg)													
Assay	HPLC-radioactive detection, LC-MS/MS													
Reaction time	1, 2, and 4 h													
Results														
Species	Metabolic profiles in hepatocytes (% of radioactivity)													
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	Roxadustat	C13
m/z	NA	NA	NA	531	531	371	296 (ESI-), 353 (ESI-)	NA	531	371	449 (ESI-)	383 (ESI-)	355	367 (ESI-)
Monkey														
0 h	0.67	ND	0.40	ND	1.12	0.94	2.69	0.29	0.11	2.10	0.21	0.85	90.34	0.28
0 h (boiled)	0.66	0.28	0.18	ND	0.63	1.00	2.15	0.37	0.08	1.64	0.12	0.75	91.78	0.37
1 h	0.73	ND	0.47	0.36	2.83	0.64	2.71	0.20	0.31	1.92	0.65	0.72	88.21	0.24
2 h	1.01	0.62	0.40	2.16	3.92	0.51	1.46	0.35	0.78	1.86	2.93	0.98	82.78	0.24
4 h	0.55	0.35	0.47	5.15	3.71	0.28	0.37	0.47	4.66	0.97	2.83	0.27	79.84	0.09
4 h (boiled)	0.65	ND	0.12	0.12	0.29	0.42	1.38	0.36	0.23	1.94	0.24	0.92	93.25	0.09
Human														
0 h	0.48	ND	ND	ND	ND	0.71	1.20	0.67	0.38	0.87	ND	ND	95.68	ND
0 h (boiled)	0.56	ND	ND	0.04	1.07	0.54	1.75	0.16	0.09	1.81	ND	0.92	93.06	ND
1 h	0.65	ND	ND	0.05	0.96	0.51	2.18	0.36	ND	2.42	ND	0.58	92.28	ND
2 h	0.85	ND	ND	0.46	1.42	0.46	1.61	0.11	0.09	3.04	ND	0.59	91.37	ND
4 h	0.56	ND	ND	1.73	1.62	0.27	1.03	0.39	0.44	2.04	ND	0.76	91.17	ND
4 h (boiled)	0.47	ND	ND	0.03	0.44	0.17	1.29	0.37	0.07	1.94	ND	0.97	94.24	ND

ESI-: Detected in negative electrospray ionization; HPLC: High performance liquid chromatography; ICR: Institute of Cancer Research; LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; m/z: Mass-to-charge ratio; NA: Not applicable; ND: Not detected.

2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（ラット）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093					
CTD No.	4.2.2.2-1					
Species/Strain	Rat/Long Evans					
Gender/Number of animals	Male/1 per time point			Female/1 per time point		
Feeding condition	Fasted			Fasted		
Administered drug	^{14}C-Roxadustat			^{14}C-Roxadustat		
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80			0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		
Method of administration	Oral gavage			Oral gavage		
Dose (mg/kg)	20			20		
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)			0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)		
Sample	Plasma			Plasma		
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/HPLC-radioactive detection			^{14}C (total radioactivity)/HPLC-radioactive detection		
Results	**Percentage present in plasma (% of total area of HPLC eluted peaks)**					
Metabolite ID	**1 h**	**6 h**	**24 h**	**1 h**	**6 h**	**24 h**
M15[a]	ND	ND	ND	ND	2.04	2.74
M20[a]	ND	2.01	ND	ND	ND	ND
Roxadustat	98.05	96.32	100.00	98.03	97.69	97.26

HPLC: High performance liquid chromatography; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detected.

a: Unidentified metabolite

2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（ラット・続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093					
CTD No.	4.2.2.2-1					
Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley					
Gender/Number of animals	Male/3			Female/3		
Feeding condition	Fasted			Fasted		
Administered drug	^{14}C-Roxadustat			^{14}C-Roxadustat		
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80			0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		
Method of administration	Oral gavage			Oral gavage		
Dose (mg/kg)	20			20		
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)			0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)		
Sample	Urine			Urine		
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/HPLC-radioactive detection			^{14}C (total radioactivity)/HPLC-radioactive detection		
Results	**Excretion in urine (% of dose)**					
Metabolite ID	**0 to 12 h**	**12 to 24 h**	**Cumulative excretion**	**0 to 12 h**	**12 to 24 h**	**Cumulative excretion**
M1[a]	ND	ND	ND	ND	0.05	0.05
M2[a]	ND	0.34	0.34	ND	ND	ND
M3[a]	1.07	ND	1.07	ND	ND	ND
MET8 (=M4)	0.63	0.26	0.89	1.55	0.56	2.11
MET9 (=M5)	ND	0.40	0.40	0.15	ND	0.15
M6[a]	ND	ND	ND	ND	0.21	0.21
MET10 (=M7)	0.45	ND	0.45	0.28	ND	0.28
MET2 (=M11)	ND	ND	ND	0.22	0.10	0.32
MET1 (=M12)	1.80	0.70	2.51	1.20	0.59	1.79
M13[a]	ND	ND	ND	0.21	ND	0.21
MET12 (=M16)	5.92	2.34	8.25	3.56	1.30	4.86
MET11-1 (=M17)	0.62	0.64	1.26	3.08	0.82	3.93
M18[a]	ND	0.10	0.10	ND	0.05	0.05
M19A[a]	0.18	0.10	0.28	ND	ND	ND
Roxadustat	ND	ND	ND	0.27	0.06	0.33

HPLC: High performance liquid chromatography; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detected.

a: Unidentified metabolite

Values were obtained using pooled samples of three animals.

2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（ラット・続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093					
CTD No.	4.2.2.2-1					
Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley					
Gender/Number of animals	Male/3			Female/3		
Feeding condition	Fasted			Fasted		
Administered drug	^{14}C-Roxadustat			^{14}C-Roxadustat		
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80			0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		
Method of administration	Oral gavage			Oral gavage		
Dose (mg/kg)	20			20		
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)			0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)		
Sample	Feces			Feces		
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/HPLC-radioactive detection			^{14}C (total radioactivity)/HPLC-radioactive detection		
Results	**Excretion in feces (% of dose)**					
Metabolite ID	**12 to 24 h**	**24 to 48 h**	**Cumulative excretion**	**12 to 24 h**	**24 to 48 h**	**Cumulative excretion**
MET8 (=M4)	0.98	ND	0.98	1.50	ND	1.50
M5A[a]	1.28	ND	1.28	0.91	ND	0.91
M8[a]	1.24	0.23	1.47	1.05	ND	1.05
M9[a]	ND	0.23	0.23	ND	1.02	1.02
M14[a]	2.62	0.48	3.11	4.44	1.06	5.50
M15[a]	0.71	0.27	0.98	0.93	ND	0.93
MET11-1 (=M17)	17.7	5.94	23.6	15.5	4.47	20.0
MET11-2 (=M19)	2.37	0.73	3.09	4.30	2.85	7.15
Roxadustat	16.9	4.22	21.1	19.2	6.27	25.5

HPLC: High performance liquid chromatography; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; ND: Not detected.

a: Unidentified metabolite

Values were obtained using pooled samples of three animals.

2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（カニクイザル）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	1517-ME-0028						
CTD No.	4.2.2.4-1						
Species/Strain	Cynomolgus monkey						
Gender/Number of animals	Male/3						
Feeding condition	Fasted						
Administered drug	^{14}C-Roxadustat						
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80						
Method of administration	Oral gavage						
Dose (mg/kg)	10						
Specific radioactivity	0.3689 MBq/mg (10.0 μCi/mg)						
Sample	Plasma						
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/HPLC-radioactive detection						
Results	**Percentage present in plasma (% of total area of all HPLC eluted peaks)**						
Metabolite ID	**0.25 h**	**1 h**	**2 h**	**4 h**	**6 h**	**8 h**	**Pool $_{0\text{-}24\ h}$**
MET8 (=MP2)	1.1	1.3	1.4	2.2	2.4	ND	2.4
MET1 (=MP4)	ND	ND	1.1	1.4	1.1	ND	ND
MET13 (=MP5)	ND	2.0	2.3	1.8	2.8	1.3	ND
MET3 (=MP6)	9.5	19.7	14.3	14.2	11.5	14.4	17.1
MP7[a]	ND	ND	ND	ND	1.1	0.8	1.2
Roxadustat (=MP8)	81.8	66.4	67.6	67.2	64.4	58.8	69.2
MP9[a]	ND	ND	0.9	ND	ND	ND	ND

NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; HPLC: High performance liquid chromatography; ND: Not detected.

a: Unidentified metabolite

Values were obtained using pooled samples of three animals. Samples were collected in 1517-ME-0027 study.

2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（カニクイザル・続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	1517-ME-0028		
CTD No.	4.2.2.4-1		
Species/Strain	Cynomolgus monkey		
Gender/Number of animals	Male/3		
Feeding condition	Fasted		
Administered drug	^{14}C-Roxadustat		
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		
Method of administration	Oral gavage		
Dose (mg/kg)	10		
Specific radioactivity	0.3689 MBq/mg (10.0 μCi/mg)		
Sample	Urine		
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/HPLC-radioactive detection		
Results	**Excretion in urine (% of dose)**		
Metabolite ID	**0-6 h**	**6-24 h**	**Cumulative excretion**
MP1[a]	ND	0.1	0.1
MET8 (=MP2)	2.3	0.9	3.2
MET2 (=MP3)	0.4	0.1	0.5
MET1 (=MP4)	8.7	1.8	10.5
MET13 (=MP5)	ND	0.1	0.1
MET3 (=MP6)	3.9	1.1	5.0
MP7[a]	0.4	ND	0.4
Roxadustat (=MP8)	0.9	0.2	1.1

NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; HPLC: High performance liquid chromatography; ND: Not detected.

a: Unidentified metabolite

Values were obtained using pooled samples of three animals. Samples were collected in 1517-ME-0027 study.

2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：In vivo（カニクイザル・続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	1517-ME-0028		
CTD No.	4.2.2.4-1		
Species/Strain	Cynomolgus monkey (bile duct-cannulated)		
Gender/Number of animals	Male/3		
Feeding condition	Fasted		
Administered drug	^{14}C-Roxadustat		
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		
Method of administration	Oral gavage		
Dose (mg/kg)	10		
Specific radioactivity	0.3698 MBq/mg (10.0 μCi/mg)		
Sample	Bile		
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/HPLC-radioactive detection		
Results	**Excretion in bile (% of dose)**		
Metabolite ID	**0-6 h**	**6-24 h**	**Cumulative excretion**
MET8 (=MP2)	0.5	0.2	0.7
MET2 (=MP3)	0.8	0.1	0.9
MET1 (=MP4)	17.9	4.5	22.4
MET3 (=MP6)	12.8	4.8	17.6
MP7[a]	1.3	ND	1.3
Roxadustat (=MP8)	3.2	1.1	4.3

NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; HPLC: High performance liquid chromatography; ND: Not detected.

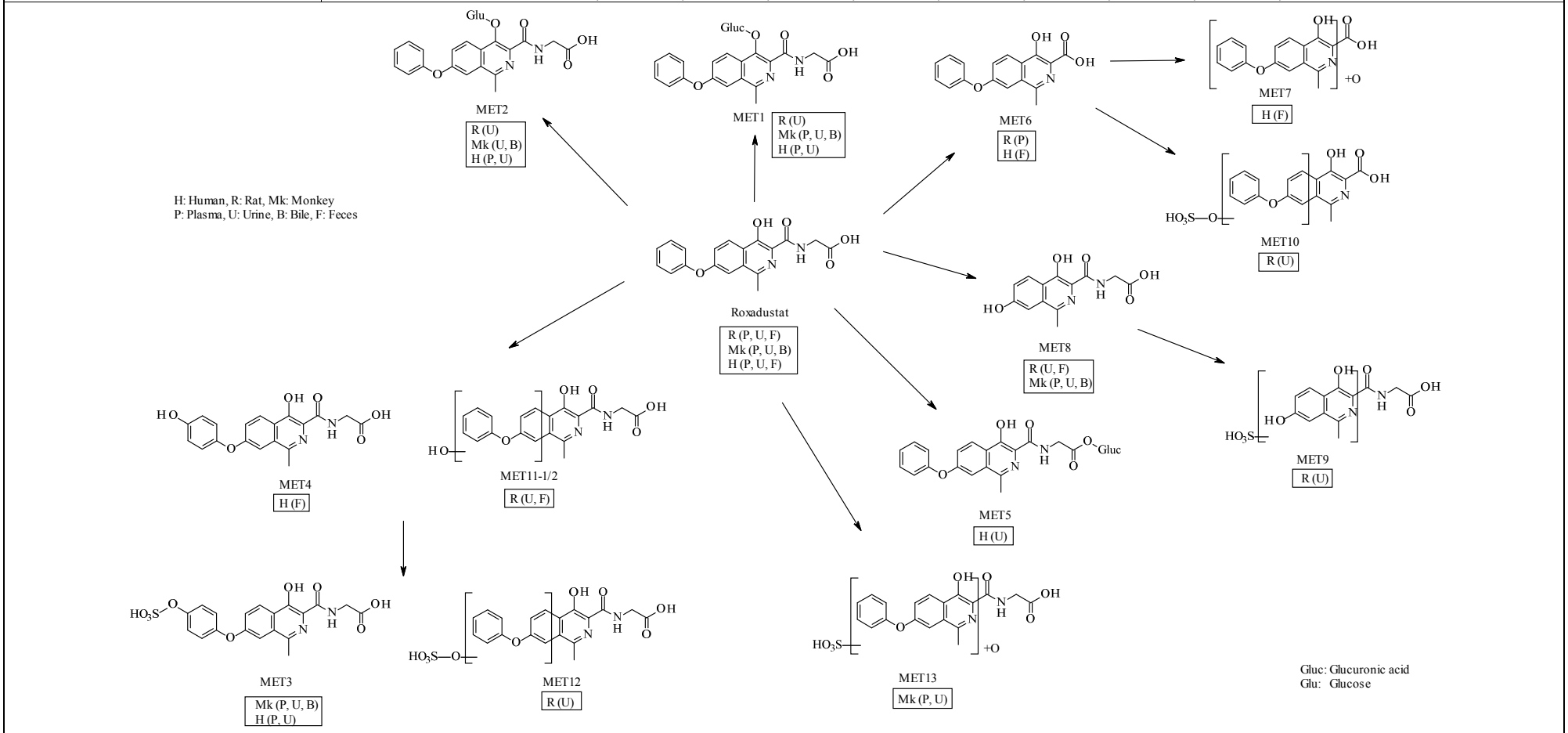
a: Unidentified metabolite

Values were obtained using pooled samples of three animals.　Samples were collected in 1517-ME-0027 study.

2.6.5.10 薬物動態試験：推定代謝経路

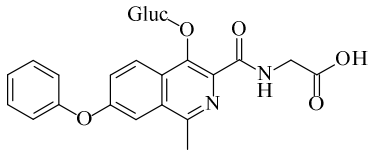
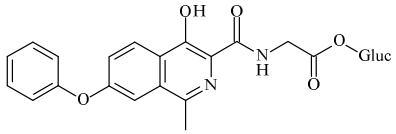
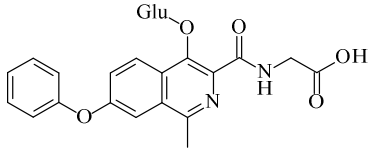
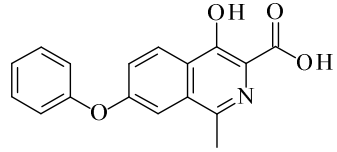
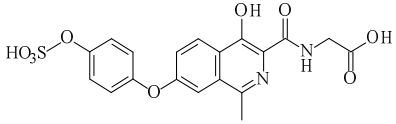
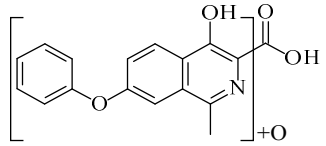
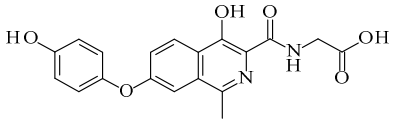
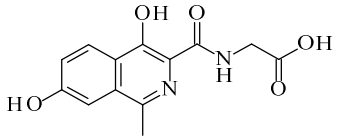
被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093, 1517-ME-0028, 352007004, 1517-ME-0201, 1517-ME-0025, 1517-ME-0026, 1517-ME-0051, 1517-CL-0543, 1517-CL-0508, 1517-CL-0532
CTD No.	4.2.2.2-1, 4.2.2.4-1, 4.2.3.2-5, 5.3.2.2-3, 5.3.2.2-4, 5.3.2.2-5, 5.3.2.2-6, 5.3.3.3-2, 5.3.3.4-3, 5.3.3.4-8



2.6.5.10 薬物動態試験：推定代謝経路（続き）

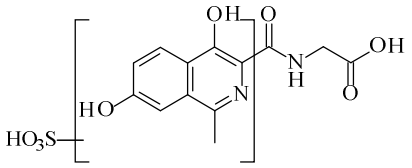
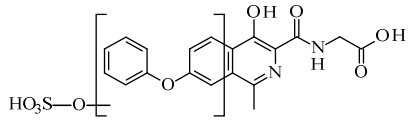
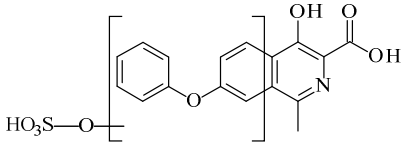
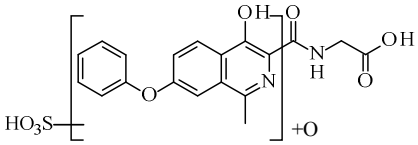
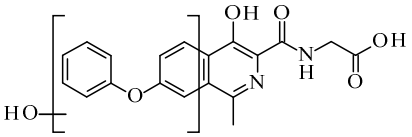
被験物質：ロキサデュスタット

Metabolite ID		Structure	Metabolite ID		Structure
MET1	FG-10579 4-*O*-β-Glucuronide of roxadustat M12, MP4, Peak 3, H1		**MET5**	Acyl-1-*O*-β-glucuronide of roxadustat Peak 5, H2	
MET2	FG-12442 4-*O*-β-Glucoside of roxadustat M11, MP3, Peak 2, H5		**MET6**	FG-6595 *N*-Descarboxymethyl roxadustat Peak 4	
MET3	FG-10949 4'-*O*-Sulfate conjugate of 4'-hydroxy roxadustat MP6, Peak 7, H4		**MET7**	*N*-Descarboxymethyl roxadustat oxide Peak 1	
MET4	FG-6003 4'-Hydroxy roxadustat Peak 6, H3		**MET8**	*O*-Desphenyl roxadustat M4, MP2	

Metabolite number with M4, M11, etc. were adopted from rat metabolism report 301_06_3510_093.
Metabolite number with MP2, MP3, etc. were adopted from monkey metabolism report 1517-ME-0028.
Metabolite number with Peak 1, Peak 2, etc. were adopted from human metabolism report 1517-ME-0026.
Metabolite number with H1, H2, etc. were adopted from human metabolism report 1517-ME-0025.

2.6.5.10 薬物動態試験：推定代謝経路（続き）

被験物質：ロキサデュスタット

Metabolite ID		Structure	Metabolite ID		Structure
MET9	Sulfate conjugate of *O*-desphenyl roxadustat M5		**MET12**	Sulfate conjugate of hydroxy roxadustat M16	
MET10	Sulfate conjugate of *N*-descarboxymethyl hydroxy roxadustat M7		**MET13**	Sulfate conjugate of hydroxy roxadustat MP5	
MET11-1 /2	Hydroxy roxadustat M17=MET11-1, M19=MET11-2				

Metabolite number with M5, M7, etc. were adopted from rat metabolism report 301_06_3510_093.
Metabolite number with MP5, etc. were adopted from monkey metabolism report 1517-ME-0028.

2.6.5.11 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

非臨床において該当する試験はない。

2.6.5.12 薬物動態試験：排泄：尿・糞中（ラット）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	301_06_3510_093			
CTD No.	4.2.2.2-1			
Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley			
Gender/Number of animals	Male/3		Female/3	
Feeding condition	Fasted		Fasted	
Administered drug	^{14}C-Roxadustat		^{14}C-Roxadustat	
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80	
Method of administration	Oral gavage		Oral gavage	
Dose (mg/kg)	20		20	
Specific radioactivity	0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)		0.1887 MBq/mg (5.1 μCi/mg)	
Analyte/Assay	^{14}C (total radioactivity)/LSC		^{14}C (total radioactivity)/LSC	
Results	**Excretion (% of dose)**		**Excretion (% of dose)**	
Excretion route	**Urine**	**Feces**	**Urine**	**Feces**
Time 0 to 6 h	2.20 ± 1.16	0.00 ± 0.01	4.13 ± 3.01	0.01 ± 0.02
0 to 12 h	11.0 ± 1.7	6.50 ± 6.00	11.1 ± 6.1	0.01 ± 0.02
0 to 24 h	16.1 ± 0.7	61.6 ± 9.2	15.1 ± 7.2	52.5 ± 16.7
0 to 48 h	16.7 ± 0.6	77.5 ± 1.8	16.2 ± 6.2	75.9 ± 3.8
0 to 72 h	16.7 ± 0.6	78.3 ± 1.5	16.2 ± 6.1	77.3 ± 5.1
0 to 96 h	16.8 ± 0.6	78.5 ± 1.5	16.3 ± 6.2	77.4 ± 5.2
0 to 120 h	16.8 ± 0.6	78.5 ± 1.5	16.3 ± 6.2	77.4 ± 5.2
Cage rinse (% of dose)[a]	0.48 ± 0.33		1.15 ± 0.54	
Cage wash (% of dose)[b]	0.02 ± 0.02		0.17 ± 0.05	
Cage wipe (% of dose)[b]	0.01 ± 0.02		0.03 ± 0.04	
Expired air (% of dose)[c]	0.03 ± 0.01		0.00 ± 0.00	
Total recovery (% of dose)[c]	95.8 ± 2.0		95.1 ± 0.5	

LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose.

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

a: up to 96 h

b: at 120 h

c: up to 120 h

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄：尿・糞中（カニクイザル）

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.		1517-ME-0027		
CTD No.		4.2.2.2-2		
Species/Strain		Cynomolgus monkey		
Gender/Number of animals		Male/3		
Feeding condition		Fasted		
Administered drug		^{14}C-Roxadustat		
Vehicle/Formulation		0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80		
Method of administration		Oral gavage		
Dose (mg/kg)		10		
Specific radioactivity		0.3689 MBq/mg (10.0 μCi/mg)		
Analyte/Assay		^{14}C (total radioactivity)/LSC		
Results		**Excretion (% of dose)**		
Excretion route		**Urine**	**Feces**	**Total**
Time	**0 to 6 h**	18.0 ± 6.7	–	–
	0 to 24 h	22.8 ± 7.0	29.5 ± 18.6	52.3 ± 24.8
	0 to 48 h	24.0 ± 6.6	61.5 ± 2.3	85.6 ± 8.2
	0 to 72 h	24.4 ± 6.5	69.0 ± 1.4	93.5 ± 5.4
	0 to 96 h	24.8 ± 6.3	71.2 ± 2.5	95.9 ± 4.0
	0 to 120 h	24.8 ± 6.3	72.8 ± 3.9	97.6 ± 2.6
	0 to 144 h	24.9 ± 6.3	73.2 ± 4.3	98.1 ± 2.2
	0 to 168 h	24.9 ± 6.3	73.5 ± 4.6	98.4 ± 1.9
Cage wash (% of dose)[a]		–	–	0.6 ± 0.4

LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose; –: Not determined.

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

a: at 168 h

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study Number		1517-ME-0027	
CTD No.		4.2.2.2-2	
Species/Strain		Cynomolgus monkey	
Gender/Number of animals		Male/3	
Feeding condition		Fasted	
Administered drug		^{14}C-Roxadustat	
Vehicle/Formulation		0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80	
Method of administration		Oral gavage	
Dose (mg/kg)		10	
Specific radioactivity		0.3698 MBq/mg (10.0 µCi/mg)	
Analyte/Assay		^{14}C (total radioactivity)/LSC	
Analyte			
Results		**Excretion (% of dose)**	
Excretion route		**Urine**	**Bile**
Time	**0 to 6 h**	27.4 ± 0.9	38.8 ± 4.8
	0 to 24 h	30.1 ± 1.4	50.5 ± 9.7
	0 to 48 h	30.8 ± 1.8	51.5 ± 8.6
	0 to 72 h	30.9 ± 1.7	51.7 ± 8.6

LSC: Liquid scintillation counter; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose.

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

2.6.5.15 薬物動態試験：排泄：乳汁中

被験物質：ロキサデュスタット

Report/Study No.	352013012			
CTD No.	4.2.3.5.3-1			
Species/Strain	Rat/Sprague-Dawley			
Gender/Number of animals	Female/5			
Feeding condition	Not fasted			
Administered drug	Roxadustat			
Vehicle/Formulation	0.5% NaCMC with 0.1% polysorbate 80			
Method of administration	Oral gavage			
Dose (mg/kg)	5, 10, 20			
Analyte/Assay	Roxadustat/LC-MS/MS			
Timing of measurement	Day 10 of lactation, 2 h post-dose (dams), Day 4 and 21 postpartum (pups)			
Results	**Concentrations (μg/mL)**			
Tissue	**0 (control)**	**5 mg/kg**	**10 mg/kg**	**20 mg/kg**
Milk from dams	0.001 ± 0.001[a]	30.7 ± 4.6	57.1 ± 19.4	70.7 ± 14.2
Plasma in dams	<LLOQ	6.9 ± 3.3	23.9 ± 4.8	50.0 ± 30.2
Plasma in pups, day 4 postpartum	<LLOQ[b,d]	6.0 ± 2.2[c]	12.3 ± 4.8[c]	16.2 ± 7.7[d]
Plasma in pups, day 21 postpartum	<LLOQ[c]	3.6 ± 1.4[e]	11.5 ± 4.5[e]	20.9 ± 6.6[e]

LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LLOQ: Lower limit of quantification; NaCMC: Sodium carboxymethyl cellulose.

Data are expressed as mean ± standard deviation.

a: Results for 3 samples were above the LLOQ (0.00165 μg/mL, 0.000590 μg/mL, and 0.000860 μg/mL).

b: Results for 3 samples were reported as <LLOQ × dilution factor due to insufficient sample volume to extract undiluted (< 0.0200 μg/mL, < 0.0250 μg/mL, and < 0.0500 μg/mL).

c: Plasma samples from 1 male and 1 female pups from same litter was mixed; the number of litter was 25.

d: Plasma samples from 1 male and 1 female pups from same litter was mixed; the number of litter was 24.

e: Plasma samples from 1 male and 1 female pups from same litter was mixed; the number of litter was 9.

2.6.5.16 薬物動態試験：薬物相互作用

In vitro 薬物相互作用試験については，臨床薬理の概要中（2.7.2.2.1）に記載した。

2.6.5.17 薬物動態試験：その他

該当する試験はない。