目次

2.6.5 薬物動態試験概要表.....5
2.6.5.1 薬物動態試験一覧表 5
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 18
2.6.5.2.A サフィナミド:マウス血漿及び脳組織を用いた HPLC 法の試験中バリデーション 18
2.6.5.2.B サフィナミド：ラット血漿を用いた HPLC 法のバリデーション 19
2.6.5.2.C サフィナミド：サル血漿を用いた HPLC 法の試験中バリデーション 20
2.6.5.2.D サフィナミド：サル血漿及び脳組織を用いた HPLC 法の試験中バリデーション 21
2.6.5.2.E サフィナミド：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 22
2.6.5.2.F サフィナミド：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 24
2.6.5.2.G サフィナミド：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 26
2.6.5.2.H サフィナミド：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 28
2.6.5.2.I サフィナミド：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のパーシャル再バリデーション 30
2.6.5.2.J サフィナミド：LC-MS/MS 法のヒト血漿・ラット血漿クロスバリデーション 32
2.6.5.2.K サフィナミド：ウサギ血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 33
2.6.5.2.L サフィナミド：ラット胆汁を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 35
2.6.5.2.M サフィナミド：ラット尿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 37
2.6.5.2.N サフィナミド：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法の移管 39
2.6.5.2.O サフィナミド：マウス血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 40
2.6.5.2.P サフィナミド、NW-1153、NW-1689：マウス血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 42
2.6.5.2.Q サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 44
2.6.5.2.R サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 46
2.6.5.2.S サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 48
2.6.5.2.T サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ラット網膜組織を用いた LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション 50
2.6.5.2.U サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ラット脂肪組織を用いた LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション 52
2.6.5.2.V サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ウサギ血漿を用いた LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション 54
2.6.5.2.W サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ウサギ血漿を用いた LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション 56
2.6.5.2.X サフィナミド、NW-1153、NW-1689：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 57
2.6.5.2.Y サフィナミド、NW-1153、NW-1689：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 59
2.6.5.2.Z NW-1689、NW-1689AG：酸性化したサル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 60
2.6.5.2.AA レボドパ、カルビドパ：ラット血漿を用いた HPLC 法のパーシャルバリデーション 63
2.6.5.2.BB レボドパ、カルビドパ：サル血漿を用いた HPLC 法のバリデーション 65

2.6.5.2.CC レボドパ、カルビドパ：ウサギ血漿を用いた HPLC 法のバリデーション 67
2.6.5.2.DD プラミペキソール、NW-1199：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション 69
2.6.5.2.EE プラミペキソール、NW-1199：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション 71
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 73
2.6.5.3.A サフィナミド：単回経口又は静脈内投与後のラットにおける薬物動態パラメータ 73
2.6.5.3.B サフィナミド：単回静脈内、腹腔内及び経口投与後のラットにおける薬物動態パラメータ 74
2.6.5.3.C サフィナミド：単回静脈内及び経口投与後のサルにおける薬物動態パラメータ 76
2.6.5.3.D ^{14}C-サフィナミド：単回経口投与後のサルにおける薬物動態パラメーター 77
2.6.5.3.E ^{14}C-サフィナミド：サルにおける薬物動態パラメータ 78
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 79
2.6.5.4.A サフィナミド：8 日間投与を行ったラットにおける薬物動態パラメータ 79
2.6.5.4.B ^{14}C-サフィナミド：単回静脈内及び反復（7 日間）経口投与後のラットにおける薬物動態パラメータ 81
2.6.5.4.C サフィナミド：2 週間投与を行ったサルにおける薬物動態パラメータ 82
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 86
2.6.5.5.A ^{14}C-サフィナミド：マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト in vitro 血球移行性試験 86
2.6.5.5.B ^{14}C-サフィナミド：In vivo マウス血液中分布 87
2.6.5.5.C ^{14}C-サフィナミド：単回経口投与後のラットにおける定量的全身オートラジオグラフィー（quantitative whole-body autoradiography；QWBA）による組織分布 88
2.6.5.5.D ^{14}C-サフィナミド：単回静脈内投与後のラットにおける組織分布 89
2.6.5.5.E ^{14}C-サフィナミド:7 日間にわたり経口投与したラットにおける定量的全身オートラジオグラフィー（quantitative whole-body autoradiography；QWBA）による組織分布 90
2.6.5.5.F ^{14}C-サフィナミド：単回経口又は静脈内投与後の有色ラットの眼及び一部組織からの消失 91
2.6.5.5.G ^{14}C-サフィナミド：有色ラットの眼における in vivo 代謝 92
2.6.5.5.H ^{14}C-サフィナミド：有色ラットの眼における in vivo 代謝 93
2.6.5.5.I ^{14}C-サフィナミド、^{14}C-NW-1689：ラット血漿、眼及び脳における in vivo 代謝 94
2.6.5.5.J ^{14}C-サフィナミド：アルビノ及び有色ラットの眼における in vivo 代謝 96
2.6.5.5.K サフィナミド：単回投与後のマウス、ラット及びサルの血漿及び脳内濃度 97
2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合 98
2.6.5.6.A ^{14}C-サフィナミド及び NW-1689：ヒト血漿への in vitro 蛋白結合 98
2.6.5.6.B ^{14}C-サフィナミド、^{14}C-NW-1153、^{14}C-NW-1689：ウサギ、ミニブタ、イヌ及びサル血漿への in vitro 蛋白結合 99
2.6.5.6.C NW-1689AG：サル及びヒト血漿への in vitro 蛋白結合 101
2.6.5.6.D サフィナミド、NW-1153、NW-1689：マウス、ラット及びヒト血漿への in vitro 蛋白結合 102
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 103
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 104
2.6.5.9 薬物動態試験：in vivo における代謝 105
2.6.5.9.A ^{14}C-サフィナミド：マウスにおける in vivo 代謝 105
2.6.5.9.B ^{14}C-サフィナミド：ラット血漿、尿及び糞便中の代謝物のパターン 107
2.6.5.9.C ^{14}C-サフィナミド：イヌにおける in vivo 代謝 109
2.6.5.9.D ^{14}C-サフィナミド：サルにおける in vivo 代謝 111

2.6.5.9.E NW-1153：ラットにおける in vivo 代謝 113
2.6.5.10 薬物動態試験：in vitro における代謝 114
2.6.5.10.B ^{14}C-サフィナミド：新鮮ウサギ肝細胞における in vitro 代謝 116
2.6.5.10.C ^{14}C-サフィナミド：新鮮イヌ肝細胞における in vitro 代謝 117
2.6.5.10.D ^{14}C-サフィナミド：ヒト初代肝細胞における固有クリアランス 118
2.6.5.10.E ^{14}C-サフィナミド：ヒト肝ミクロソームにおける in vitro CYP 表現型分類 119
2.6.5.10.F ^{14}C-サフィナミド：In vitro におけるヒト CYP 及び MOA 表現型分類 120
2.6.5.10.G ^{14}C-サフィナミド：NW-1689 生成に関与する代謝酵素の同定 121
2.6.5.10.H ^{14}C-サフィナミド：ヒト ALDH アイソザイムによる NW-1689 代謝への寄与 123
2.6.5.10.I ^{14}C-サフィナミド：サフィナミドから NW-1153 及び NW-1153 から NW-1689 への代謝に関与する薬物代謝酵素の同定 125
2.6.5.10.J NW-1689：NW-1689 のグルクロン酸抱合に関与する UGT（Uridine diphosphate glucuronosyltransferase）分子種の同定 128
2.6.5.10.K ^{14}C-NW-1689AG の反応性評価 129
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 131
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害 132
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 133
2.6.5.13.A ^{14}C-サフィナミド：単回経口投与したマウスにおける排泄 133
2.6.5.13.B ^{14}C-サフィナミド：単回静脈内及び反復経口投与後のラットにおける排泄 134
2.6.5.13.C ^{14}C-サフィナミド：単回経口投与した雄ラットにおける排泄 136
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 138
2.6.5.14.A ^{14}C-サフィナミド：ラットに単回投与したときのマスバランス試験 138
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 140
2.6.5.15.A サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ヒト肝ミクロソームにおける in vitro CYP 阻害 140
2.6.5.15.B ^{14}C-サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ヒト肝ミクロソームにおける in vitro CYP 阻害 141
2.6.5.15.C サフィナミド：ヒト肝ミクロソームにおける時間依存的な in vitro CYP 阻害 144
2.6.5.15.D NW-1689AG：ヒト肝ミクロソームにおける in vitro CYP 阻害 145
2.6.5.15.E サフィナミド：ラット及びモルモットにおける in vivo CYP 誘導 146
2.6.5.15.F サフィナミド： テストステロンのヒドロキシル化に対する影響 148
2.6.5.15.G サフィナミド：ラットにおける in vivo CYP 誘導 149
2.6.5.15.H サフィナミド：形質移入したヒト肝細胞（HepG2）における in vitro CYP 誘導 150
2.6.5.15.I サフィナミド：初代ヒト肝細胞における in vitro CYP 誘導 151
2.6.5.15.J サフィナミド：初代ヒト肝細胞における in vitro CYP 誘導 153
2.6.5.15.K サフィナミド：初代ヒト肝細胞における in vitro CYP 誘導 154
2.6.5.15.L サフィナミド：Caco-2 細胞における in vitro 透過性 158
2.6.5.15.M 特定のヒト排出及び取込みトランスポーターとの in vitro 相互作用試験 159
2.6.5.15.N ^{14}C-サフィナミド：ヒト肝細胞への取込み 161
2.6.5.15.O サフィナミド、NW-1153 及び MW-1689：Caco-2/TC7 細胞における P-糖蛋白質の阻害 162
2.6.5.15.P NW-1689AG の P-gp に対する阻害 163
2.6.5.15.Q サフィナミド及びその代謝物による BCRP に対する in vitro 阻害 164
2.6.5.15.R サフィナミド及びその代謝物とヒト BSEP トランスポーターの in vitro 相互作用 165
2.6.5.15.S OATP1B1 による BSP 取込みの in vitro 阻害 166
2.6.5.15.T HEK 細胞におけるサフィナミド及びその代謝物の OATP1B3 による BSP 取込みに対する in vitro 阻害 167
2.6.5.15.U サフィナミド：HEK 細胞における OTC2 の in vitro 阻害 168

2.6.5.15.V HEK 細胞におけるサフィナミド及びその代謝物による OAT1、OAT3 及び OAT4 の in vitro 阻害 169
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 171

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: サフィナミド

試験の種類	被験物質	方法	動物種	試料	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
2.6.5.2 分析方法及び開発							
試験中バリデーション	サフィナミド	HPLC/FL	マウス	血漿及び脳	[redacted]、イタリア	METPK-149-95 (9550334)	4.2.2.3-01
バリデーション及び安定性	サフィナミド	LC-MS/MS	マウス	血漿	[redacted]、イタリア	P013104 (R-036-04,R-036-104)	4.2.2.1-10
バリデーション及び安定性	サフィナミド NW-1153 NW-1689	LC-MS/MS	マウス	血漿	[redacted]、イタリア	P004-05 (R-027-05)	4.2.2.1-11
バリデーション	サフィナミド	HPLC/FL	ラット	血漿	[redacted]、イタリア	FCE-26743A-101i	4.2.2.1-01
安定性	サフィナミド	HPLC/FL	ラット	血漿	[redacted]、イタリア	METPK-110-94 (9550278)	4.2.2.1-25
バリデーション及び安定性	サフィナミド	LC-MS/MS	ラット	血漿	[redacted]イタリア	9750061	4.2.2.1-02
バリデーション及び安定性	サフィナミド	LC-MS/MS	ラット	血漿	[redacted]、スイス	87-00	4.2.2.1-04
分析法の移管	サフィナミド	LC-MS/MS	ラット	血漿	[redacted]、イタリア	P010-04 (R035-04)	4.2.2.1-09
バリデーション及び安定性	サフィナミド	LC-MS/MS	ラット	胆汁及び尿	[redacted]、スイス	98-01	4.2.2.1-08

試験の種類	被験物質	方法	動物種	試料	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
バリデーション及び安定性	サフィナミド NW-1153 NW-1689	LC-MS/MS	ラット	血漿	[redacted]、英国	SOI0034 (28597, RE7160)	4.2.2.1-14
バリデーション及び安定性	サフィナミド NW-1153 NW-1689	LC-MS/MS	ラット	血漿	[redacted]、イタリア	P003-05 (R026-05)	4.2.2.1-13
バリデーション及び安定性	サフィナミド NW-1153 NW-1689	LC-MS/MS	ラット	血漿	[redacted]、イタリア	P003-05（R-026-05） Revision1	4.2.2.1-13
パーシャルバリデーション及び安定性	サフィナミド NW-1153 NW-1689	LC-MS/MS	ラット	血漿	[redacted]、英国	0070-455（DMPK-79-08）、Appendix1 を含む	4.2.2.1-12
パーシャルバリデーション及び安定性	プラミペキソール NW-1199	LC-MS/MS	ラット サル	血漿	[redacted]、英国	0070-470 (DMPK-81-08)	4.2.2.1-23
パーシャルバリデーション及び安定性	サフィナミド NW-1153 NW-1689	LC-MS/MS	ラット	網膜	[redacted]、英国	SOI0047	4.2.2.1-15
パーシャルバリデーション及び安定性	サフィナミド NW-1153 NW-1689	LC-MS/MS	ラット	脂肪	[redacted]、英国	SOI0051	4.2.2.1-16
パーシャルバリデーション及び安定性	レボドパ カルビドパ	HPLC-EDC	ラット	血漿	[redacted]、英国	1004-071197 (SOI0043)	4.2.2.1-20
バリデーション及び安定性	サフィナミド	LC-MS/MS	ウサギ	血漿	[redacted]、 スイス	19130 (Appendix D)	4.2.3.5.2-06
パーシャルバリデーション及び安定性	サフィナミド NW-1153 NW-1689	LC-MS/MS	ウサギ	血漿	[redacted]、英国	0070-457、Appendix 1（DMPK-83-08）を含む	4.2.2.1-17

試験の種類	被験物質	方法	動物種	試料 マトリックス	試験施設	試験番号 （対応する別の報告書番号）	CTD の 記載箇所
バリデーション及び安定性	レボドパ カルビドパ	HPLC-EDC	ウサギ	血漿	[redacted]、英国	1004-071199 （SOI0039）	4.2.2.1-22
試験中バリデーション	サフィナミド	HPLC/FL	サル	血漿	[redacted]、イタリア	N636-Q1392（Appendix 8.4） （9550237）	4.2.3.2-06
バリデーション及び安定性	サフィナミド	LC-MS/MS	サル	血漿	[redacted]、イタリア	9750066	4.2.2.1-03
バリデーション及び安定性	サフィナミド	LC-MS/MS	サル	血漿	[redacted]、スイス	88-00	4.2.2.1-05
パーシャル再バリデーション及び安定性	サフィナミド	LC-MS/MS	サル	血漿	[redacted]、スイス	88-00-B	4.2.2.1-06
試験中バリデーション	サフィナミド	HPLC/FL	サル	脳及び血漿	[redacted]、イタリア	METPK-150-95 (9550336)	4.2.2.3-02
バリデーション及び安定性	サフィナミド NW-1153 NW-1689	LC-MS/MS	サル	血漿	[redacted]、英国	0070-456 (DMPK82-08)	4.2.2.1-18
バリデーション及び安定性	サフィナミド NW-1153 NW-1689	LC-MS/MS	サル	血漿	[redacted]、英国	0070-456 の Addendum 1 （DMPK-82-08）	4.2.2.1-18
バリデーション及び安定性	NW-1689 NW-1689AG	LC-MS/MS	サル	血漿	[redacted]、英国	8224857 (DMPK-29-10)	4.2.2.1-19
バリデーション及び安定性	プラミペキソール NW-1199	LC-MS/MS	サル	血漿	[redacted]、英国	0070-471 (DMPK-80-08)	4.2.2.1-24

試験の種類	被験物質	方法	動物種	試料 マトリックス	試験施設	試験番号 （対応する別の報告書番号）	CTD の 記載箇所
バリデーション及び安定性	レボドパ カルビドパ	HPLC-EDC	サル	血漿	[redacted]、英国	1004-071198 (SOI0038)	4.2.2.1-21
クロスバリデーション	サフィナミド	LC-MS/MS	ヒト ラット	血漿	[redacted]、スイス	96-00	4.2.2.1-07

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）又は濃度 [a]	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
2.6.5.3 単回投与後の吸収							
PK	サフィナミド	ラット	静脈内、単回 経口、単回	5 10	[redacted]、イタリア	METPK-190-96	4.2.2.2-01
PK	サフィナミド	ラット	静脈内、単回 腹腔内、単回 経口、単回	1(s) 4(s) 4(s)	[redacted]、ドイツ	DMPK-09-08	4.2.2.2-02
PK	サフィナミド	サル	静脈内、単回 経口、単回	5 10	[redacted]、イタリア	METPK-193-96	4.2.2.2-03
PK	^{14}C-サフィナミド	サル	経口、単回	10	[redacted]、英国	NWR-08	4.2.2.2-04
PK	^{14}C-サフィナミド	サル	経口、単回	13.2(s)	[redacted]、ドイツ	DMPK-37-09	4.2.2.4-01
PK	NW-1153	ラット	経口、単回	5	[redacted]、ドイツ	DMPK-121-09	4.2.2.2-05
2.6.5.4 反復投与後の吸収							
PK	サフィナミド	ラット	経口、反復（8 日間）	30, 70, 200	[redacted]、ドイツ	DMPK-123-09	4.2.2.2-06
PK	^{14}C-サフィナミド	ラット	静脈内、単回 経口、反復（7 日間）	1(s) 5(s)	[redacted]、スイス	847960	4.2.2.2-07
PK	サフィナミド	サル	経口、反復（2 週間）	10、30、50(s)	[redacted]、イタリア	RF2310	4.2.2.2-08

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）又は濃度[a]	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
2.6.5.5 分布							
血漿及び脳内濃度	サフィナミド	マウス	経口、単回	7	[redacted]、イタリア [redacted]、ドイツ	METPK-149-95（9550334）及び DMPK-23-11	4.2.2.3-01 4.2.2.3-10
血漿及び脳内濃度	サフィナミド	ラット	経口、単回	10	[redacted]、イタリア [redacted]、ドイツ	METPK-99-93（9550284）及び DMPK-23-11	4.2.2.3-11 4.2.2.3-10
血漿及び脳内濃度	サフィナミド	サル	経口、単回	5	[redacted]、イタリア [redacted]、ドイツ	METPK-134-95（9550335）及び DMPK-23-11	4.2.2.3-12 4.2.2.3-10
血漿及び脳内濃度	サフィナミド	サル	経口、単回	50, 100	[redacted]、イタリア [redacted]、ドイツ	METPK-150-95（9550336）及び DMPK-23-11	4.2.2.3-02 4.2.2.3-10
In vitro 血球移行性	^{14}C-サフィナミド ^{14}C-NW-1153 ^{14}C-NW-1689	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、ヒト	in vitro	2.5 及び 100 µM 0.5 及び 20 µM 2.5 及び 100 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-126-07	4.2.2.3-03
組織分布	^{14}C-サフィナミド	ラット	経口、単回	10(s)	[redacted]、イタリア	R09360	4.2.2.3-04
組織分布	^{14}C-サフィナミド	ラット	静脈内、単回 経口、単回	1(s)	[redacted]、ドイツ	DMPK-17-08	4.2.2.3-05
組織分布	^{14}C-サフィナミド	ラット	経口、反復（5 日間）	80(s)	[redacted]、ドイツ	DMPK-122-08	4.2.2.3-06
組織分布	^{14}C-サフィナミド	ラット	経口、反復（14 日間）	150(s)	[redacted]、ドイツ	DMPK-146-08	4.2.2.3-07

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）又は濃度 [a]	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
組織分布	^{14}C-サフィナミド ^{14}C-NW-1689	ラット	経口、反復（14 日間） 経口、単回	150[(s)] 5, 100	[redacted]、ドイツ	DMPK-176-08	4.2.2.3-08
組織分布	^{14}C-サフィナミド	ラット	経口、単回	5、10[(s)]	[redacted]、ドイツ	DMPK-48-08	4.2.2.3-09
組織分布	^{14}C-サフィナミド	ラット	静脈内、単回 経口、反復（7 日間）	1[(s)] 5[(s)]	[redacted]、スイス	847960	4.2.2.2-07
In vivo 血球移行性	^{14}C-サフィナミド	マウス	経口、単回	100[(s)]	[redacted]、ドイツ	DMPK-176-07	4.2.2.4-02

2.6.5.6 血漿蛋白結合

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）又は濃度 [a]	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
蛋白結合	^{14}C-サフィナミド NW-1689	ヒト	in vitro	1.3、5.0、50 µM[(s)] 2.0、8.1、81 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-127-07	4.2.2.3-13
蛋白結合	^{14}C-サフィナミド ^{14}C-NW-1153 NW-1689	ウサギ、イヌ、サル	in vitro	1.3、5.0、50 µM[(s)] 1.6、6.6、66 µM 2.0、8.1、81 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-162-07	4.2.2.3-14
蛋白結合	NW-1689AG	サル、ヒト	in vitro	0.5、2、20 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-20-11	4.2.2.3-15
蛋白結合	サフィナミド NW-1153 NW-1689	マウス ラット ヒト	in vitro	0.5、2、20 µg/mL[(s)]	[redacted]、英国	NWR-12	4.2.2.3-16

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）又は濃度 [a]	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
2.6.5.9 In vivo 代謝							
代謝	^{14}C-サフィナミド	マウス	経口、単回	100[(s)]	[redacted]、ドイツ	DMPK-176-07	4.2.2.4-02
代謝	^{14}C-サフィナミド	ラット	静脈内、単回 経口、反復（7 日間）	1 5	[redacted]、スイス	847960	4.2.2.2-07
代謝	^{14}C-サフィナミド	ラット	経口、単回	10	[redacted]、英国	NWR-09	4.2.2.4-15
代謝	^{14}C-サフィナミド	イヌ	経口、単回	10	[redacted]、ドイツ	DMPK-175-08	4.2.2.4-16
代謝	^{14}C-サフィナミド	サル	経口、単回	10	[redacted]、ドイツ	DMPK-37-09	4.2.2.4-01
2.6.5.10 In vitro 代謝							
代謝	^{14}C-サフィナミド	マウス、ラット、サル、ヒト肝細胞、ヒト肝ミクロソーム	in vitro	50 µM 1、5、10、50 µM	[redacted]、英国	NWR-03	4.2.2.4-03
代謝	^{14}C-サフィナミド	マウス、ラット、サル、ヒト肝細胞	in vitro	50 µM	[redacted]、英国	NWR-05	4.2.2.4-04
代謝	^{14}C-サフィナミド	ウサギ肝細胞	in vitro	50 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-165-07	4.2.2.4-05
代謝	^{14}C-サフィナミド	イヌ肝細胞	in vitro	50 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-54-08	4.2.2.4-06
代謝クリアランス	^{14}C-サフィナミド	ヒト培養肝細胞	in vitro	1、5 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-30-08	4.2.2.4-07
CYP 表現型分類	^{14}C-サフィナミド	ヒト肝ミクロソーム、発現系 CYP	in vitro	10 µM	[redacted]、英国	NWR-04	4.2.2.4-08
CYP 表現型分類	^{14}C-サフィナミド	ヒト肝細胞、Bactosomes™	in vitro	50 µM	[redacted]、英国	NWR-14	4.2.2.4-09

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）又は濃度[a]	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
DME 表現型分類(薬物代謝酵素)	^{14}C-サフィナミド Met-A	ヒト肝ミクロソーム及びその他	in vitro	1、3、5、10、20 μM 10 μM	[redacted]、ドイツ	DMPK-123-07	4.2.2.4-10
DME 表現型分類	サフィナミド NW-1153 NW-1689 NW-1689AG NW-1199 Met-X	ヒト ALDH	in vitro	50 μM 50 μM 50 μM 10～100 μM 50 μM 0～1000 μM	[redacted]、米国	DMPK-125-07	4.2.2.4-11
DME 表現型分類	^{14}C-サフィナミド ^{14}C-NW-1153	ラット・ヒト肝細胞及びその他	in vitro	1～10 μM 3 μM	[redacted]、ドイツ	DMPK-124-07	4.2.2.4-12
DME 表現型分類	NW-1689	遺伝子組換え発現 UGT、ヒト肝ミクロソーム	in vitro	10μM 15～1500 μM	[redacted]、米国	XT104133 (DMPK-145-10)	4.2.2.4-13
血清アルブミンに対する反応性	^{14}C-NW-1689	ヒト血清アルブミン	in vitro	8.62 MBq/mL 放射能濃度	[redacted]、ドイツ	DMPK-164-07	4.2.2.4-14

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）又は濃度[a]	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
2.6.5.13 累積排泄							
排泄	^{14}C-サフィナミド	マウス	経口、単回	100 (s)	[redacted]、ドイツ	DMPK-176-07	4.2.2.4-02
排泄	^{14}C-サフィナミド	ラット	静脈内、単回 経口、反復（7 日間）	1 5	[redacted]、スイス	847960	4.2.2.2-07
排泄	^{14}C-サフィナミド	ラット	経口、単回	10(s)	[redacted]、イタリア	R09360	4.2.2.3-04
排泄	^{14}C-サフィナミド	イヌ	経口、単回	10	[redacted]、ドイツ	DMPK-175-08	4.2.2.4-16
排泄	^{14}C-サフィナミド	サル	経口、単回	10	[redacted]、ドイツ	DMPK-37-09	4.2.2.4-01
2.6.5.14 胆汁中排泄							
排泄	^{14}C-サフィナミド	ラット	経口、単回	10(s)	[redacted]、イタリア	R09360	4.2.2.3-04

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）又は濃度[a]	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
2.6.5.15 薬物相互作用							
CYP 阻害	サフィナミド	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	0.5、5、10、50、100 μM	[redacted]、スイス	IPAS-MET-99-04	4.2.2.6-01
CYP 阻害	サフィナミド NW-1689 NW-1153	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	0.1、1、10、30、100 μM 0.1、1、10、30、100 μM 0.1、1、10、30、100 μM	[redacted]、英国	NWR-17	4.2.2.6-02
CYP 阻害	^{14}C-サフィナミド NW-1153 NW-1689	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	0.1～100 μM	[redacted]、米国	XT075070	4.2.2.6-03
CYP 阻害	サフィナミド	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	10 及び 100 μM	[redacted]、米国	XT085009	4.2.2.6-04
CYP 阻害	NW-1689AG	ヒト肝ミクロソーム	in vitro	0.3～30 μM	[redacted]、米国	XT105058 (DMPK-89-10)	4.2.2.6-05
CYP 誘導	サフィナミド	ラット、モルモット	経口、反復（4 日間）	120(s)	[redacted]、イタリア	9650281	4.2.2.6-06
CYP 誘導	サフィナミド	ラット	経口、反復（4 日間）	120(s)	[redacted]、ドイツ	FCE26743-801i	4.2.2.6-07
CYP 誘導	サフィナミド	ラット	経口、反復（4 週間）	0、20、60、100、500	[redacted]、イタリア	METPK-208-96 (9750068)	4.2.2.6-08
CYP 誘導	サフィナミド	ヒト Hep G2 細胞	in vitro	1、10、50 μM	[redacted]、カナダ	030242	4.2.2.6-09

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）又は濃度[a]	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
CYP 誘導	サフィナミド	初代ヒト肝細胞	in vitro	3、30、100 μM	[redacted]、フランス	MSO1 (DMPK-122-07)	4.2.2.6-10
CYP 誘導	サフィナミド	初代ヒト肝細胞	in vitro	3、30、100 μM	[redacted]、フランス	MS-042009-01	4.2.2.6-11
CYP 誘導	サフィナミド	初代ヒト肝細胞	in vitro	1、4、8、15、30、45、60、80 μM	[redacted]、フランス	MS-032010-02 (DMPK-31-10)	4.2.2.6-12
膜透過性	^{14}C-サフィナミド	Caco-2 細胞	in vitro	10 μM 2500 μM	[redacted]、英国	DIXG1000	4.2.2.6-13
BCRP 排出及び取り込みトランスポーターとの相互作用	サフィナミド NW-1153	MDCK2-BCRP 細胞及びその他	in vitro	0.05～1320 μM 0.05～5 μM	[redacted]、ハンガリー	HLS-16-02Apr2014	4.2.2.6-14
肝細胞取込み	^{14}C-サフィナミド	ヒト肝細胞	in vitro	0.7、0.8、7.3 μM	[redacted]、ドイツ	DMPK-15-10	4.2.2.6-15
P-糖蛋白質阻害	サフィナミド NW-1153 NW-1689	Caco-2/TC7 細胞	in vitro	0.3～1000 μM 30～300 μM 100～1000 μM	[redacted]、ドイツ	DMPK-120-07	4.2.2.6-16
BCRB 阻害	サフィナミド NW-1689 NW-1689AG NW-1153 NW-1199	MDCKII 及び MDCKII-BCRP 細胞	in vitro	1～100 μM 1～100 μM 0.5～50 μM 0.5～50 μM 0.5～50 μM	[redacted]、ドイツ	DMPK-103-10	4.2.2.6-17
BSEP トランスポーターとの相互作用	サフィナミド NW-1153 NW-1689 NW-1689AG NW-1199	ヒト BSEP-Sf9 細胞	in vitro	3 及び 300 μM 3 及び 300 μM 3 及び 300 μM 1 及び 100 μM 1 及び 100 μM	[redacted]、ハンガリー	DMPK55-09	4.2.2.6-18

試験の種類	被験物質	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）又は濃度 [a]	試験施設	試験番号（対応する別の報告書番号）	CTD の記載箇所
OATP1B1 阻害	サフィナミド NW-1153 NW-1689 NW-1689AG NW-1199	HEK-OATP1B1 及び HEK-Co/418 細胞	in vitro	50 µM 20 µM 2 µM 30 µM 120 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-84-08	4.2.2.6-19
OATP1B3 阻害	サフィナミド NW-1153 NW-1689 NW-1689AG NW-1199	HEK- OATP1B3 細胞	in vitro	50 µM 20 µM 2 µM 34 µM 134 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-142-10	4.2.2.6-20
hOCT2 阻害	サフィナミド	OCT2-HEK-細胞	in vitro	1～1000 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-166-07	4.2.2.6-21
hOAT1,3,4 阻害	サフィナミド NW-1153 NW-1689 NW-1689AG NW-1199	HEK-OAT1, OAT3, OAT 細胞	in vitro	50 µM 20 µM 2 µM 30 µM 120 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-53-10 (PCT_003-10)	4.2.2.6-22
P-糖蛋白質阻害	NW-1689AG	Caco-2/TC7 細胞	in vitro	1.5、7.5 µM	[redacted]、ドイツ	DMPK-145-11	4.2.2.6-23

a：特に示さない限り全ての投与量は mg/kg で示した。また、全ての投与量及び濃度はサフィナミドとして表示した。

(s)：投与量及び濃度はサフィナミドメシル酸塩として表示した。

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2.A サフィナミド：マウス血漿及び脳組織を用いた HPLC 法の試験中バリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.3-01
試験番号：METPK-149/95 (9550334)

試験番号/GLP 適用:	METPK-149-95/non-GLP
対応する別の報告書番号:	9550334
試験の種類：	ヘパリンを抗凝固剤として用いたマウス血漿及び脳組織中のサフィナミドの定量を目的とする HPLC 法の試験中バリデーション
方法：	HPLC 分離は、250×4 mm ID [redacted] 逆相カラム、粒子径 3 µm（[redacted]）を用いて実施した。移動相は、アセトニトリル：0.05 M KH_2PO_4（85%リン酸で pH 2 に調整）混合液（32 : 68 v : v）とした。クロマトグラフィーによる分離は、アイソクラティック条件下で、流速 0.5 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、ポンプ（[redacted]、米国）、オートサンプラ（[redacted]、米国）、蛍光検出器（モデル [redacted]、日本）及びインテグレーター（モデル [redacted]、米国）からなる HPLC システムを用い、[redacted] ネットワーク（[redacted]、米国）に接続して実施した。この方法は、脳マトリックスではバリデーションしていない。代わりに、脳マトリックスを用いた単一の 5 点検量線を用いた。

バリデーション項目			結果	
			血漿	脳
直線性	定量範囲		10-1500 ng/mL	20-4000 ng/g
	相関係数(r)		0.9999	0.9975
定量下限	LLOQ		10 ng/mL	20 ng/g
再現性	分析単位内真度	24, 560 及び 1200 ng/mL (各 n=3)	94.83-112.59%	
	分析単位内精度-CV%	24, 560 及び 1200 ng/mL (各 n=3)	0.48-9.41%	
	分析単位間真度	24, 560 及び 1200 ng/mL (各 n=3)	101.72-103.60%	
	分析単位間精度-CV%	24, 560 及び 1200 ng/mL (各 n=3)	<10.6%	

2.6.5.2.B サフィナミド：ラット血漿を用いた HPLC 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-01
試験番号：FCE 26743A-101i

試験番号/GLP 適用:	FCE26743A-101i/non-GLP
試験の種類：	ラット血漿中のサフィナミドの検出を目的とする HPLC 法のバリデーション
方法：	クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] 逆相 C18、250×4 mm、3 µm 分析カラムを用い、68% 50 mM リン酸緩衝液（pH 2.0）と 32%アセトニトリルのアイソクラティック溶出により、流速 0.50 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted] モデル [redacted] 蛍光検出器で実施した。

結果：FCE 26743A/101i			
バリデーション項目			結果
直線性	定量範囲		10-190 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9989
定量下限	LLOQ		10 ng/mL
再現性	分析単位内真度-Mean%	140.38 ng/mL (n=3) 80.43 ng/mL (n=3) 20.86 ng/mL (n=3)	88.96-97.06% 97.02-99.44% 85.67-103.76%
	分析単位内精度-CV%	140.38 ng/mL (n=3) 80.43 ng/mL (n=3) 20.86 ng/mL (n=3)	1.81-6.12% 4.23-7.74% 2.93-5.51%
	分析単位間真度-Mean%	140.38 ng/mL (n=3) 80.43 ng/mL (n=3) 20.86 ng/mL (n=3)	81.43% 84.66% 79.03%
	分析単位間精度-CV%	140.38 ng/mL (n=3) 80.43 ng/mL (n=3) 20.86 ng/mL (n=3)	10.83% 9.35% 16.88%

2.6.5.2.C サフィナミド：サル血漿を用いた HPLC 法の試験中バリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.3.2-06
試験番号：9550237
(試験番号 N636-Q1392 appendix 8.4)

試験番号/GLP 適用:	9550237/GLP
試験の種類：	サル血漿中のサフィナミドの検出を目的とする HPLC 法の試験中バリデーション
方法：	HPLC 分離は、[redacted] 逆相 C18、250×4 mm、3 µm 分析カラムを用い、68% 50 mM リン酸緩衝液（pH 2.0）と 32% アセトニトリルのアイソクラティック溶出により、流速 0.50 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted] モデル [redacted] 蛍光検出器で実施した。

結果：9550130			
バリデーション項目			結果
直線性	定量範囲		10-1500 ng/mL
	相関係数(r)		>0.99
定量下限	LLOQ		10 ng/mL
再現性	分析単位内真度-Mean%	1200 ng/mL 560 ng/mL 24 ng/mL	96.40-112.85%
	分析単位内精度-CV%	1200 ng/mL 560 ng/mL 24 ng/mL	0.29-14.46%
	分析単位間真度-Mean%	1200 ng/mL 560 ng/mL 24 ng/mL	101.32-107.00%
	分析単位間精度-CV%	1200 ng/mL 560 ng/mL 24 ng/mL	≤10.0%

2.6.5.2.D サフィナミド：サル血漿及び脳組織を用いた HPLC 法の試験中バリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.3-02
試験番号：METPK-150-95 (9550336)

試験番号/GLP 適用:	METPK-150-95/non-GLP
対応する別の報告書番号:	9550336
試験の種類：	ヘパリンを抗凝固剤として含有するサル血漿及び脳組織中のサフィナミドの検出を目的とする HPLC 法の試験中バリデーション
方法：	HPLC 分離は、250×4 mm ID [redacted] C18 逆相カラム、粒子径 3 µm（[redacted]）を用いて実施した。移動相は、アセトニトリル：0.05 M KH_2PO_4、pH 2 の混合液（32：68、v：v）とした。クロマトグラフィーによる分離は、アイソクラティック条件下で、流速 0.5 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、ポンプ（モデル [redacted]、[redacted]、米国）、オートサンプラー（モデル [redacted]、[redacted]、[redacted]、米国）、蛍光検出器（モデル [redacted]、[redacted]、日本）及びインテグレーター（モデル [redacted]、[redacted]、米国）からなる HPLC システムを用い、[redacted] ネットワーク（[redacted]、米国）に接続して実施した。この方法は、脳マトリックスではバリデーションしていない。代わりに、ラット脳マトリックスを用いた単一の 5 点検量線を用いた。

結果：METPK 150/95 (9550336)			
バリデーション項目		サル	
		血漿	脳 [a]
直線性	定量範囲	10-1500 ng/mL	20-4000 ng/g
	相関係数(r)	0.9998	0.9994
	重み付け条件	1/y	1/y
定量下限	LLOQ	10 ng/mL	20 ng/g
a：未処置のサルの脳は入手できなかった。このため、サル脳マトリックスの代わりに、ラット脳マトリックスを用いて検量線を得た。			

2.6.5.2.E サフィナミド：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-02
試験番号：9750061

試験番号/GLP 適用:	9750061/non-GLP
試験の種類：	ラット血漿中のサフィナミドの検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] [redacted] 逆相 C8、30×4.6 mm、3 µm 分析カラムを用い、55%アセトニトリルと 45%ギ酸アンモニウム緩衝液（20 mM、pH 3.5）のアイソクラティック溶出により、流速 1.00 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted]質量分析器で、大気圧化学イオン化（Atmospheric Pressure Chemical Ionization；APCI）により、加熱ネブライザーインターフェースで実施した。$^{13}C_6$-標識 PNU 151774（$^{13}C_6$-PNU 151774、Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：9750061			
バリデーション項目			結果
直線性	定量範囲		23.81-45454 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9994
	重み付け条件		1/x
定量下限	LLOQ		23.81 ng/mL
再現性	分析単位内真度-%Diff	40000 ng/mL (n=6) 5000 ng/mL (n=6) 100 ng/mL (n=5) LLOQ: 23.81 ng/mL (n=6)	11.6% 8.3% 4.8% -5%
	分析単位内精度-CV%	40000 ng/mL (n=6) 5000 ng/mL (n=6) 100 ng/mL (n=5) LLOQ: 23.81 ng/mL (n=6)	1.2% 2.4% 10.7% 7.5%
	分析単位間真度-%Diff	40000 ng/mL (n=12) 5000 ng/mL (n=12) 100 ng/mL (n=10)	8.8% 6.6% 8.9%
	分析単位間精度-CV%	40000 ng/mL (n=12) 5000 ng/mL (n=12) 100 ng/mL (n=10)	7.0% 2.8% 7.2%
添加回収率	真度-% Diff	40000 ng/mL (n=6) 5000 ng/mL (n=6) 100 ng/mL (n=6)	6.8 0.2 16.6
希釈の妥当性	真度-%Diff 精度-CV%	100000 ng/mL (n=6) (dilution factor=5)	10.8% 2.3%
安定性	短期保存安定性 (室温, 24 時間, 血漿)	40000 ng/mL (n=3) 5000 ng/mL (n=3) 100 ng/mL (n=3)	安定 安定 安定
	凍結融解安定性 (3 cycles)	40000 ng/mL (n=3) 5000 ng/mL (n=3) 100 ng/mL (n=3)	安定 安定 安定
	前処理後試料中の安定性 (室温, 最終抽出後 48 時間)	40000 ng/mL (n=3) 5000 ng/mL (n=3) 100 ng/mL (n=3)	安定 安定 安定

2.6.5.2.F サフィナミド：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-03
試験番号：9750066

試験番号/GLP 適用:	9750066/non-GLP
試験の種類：	サル血漿中のサフィナミドの検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション。
方法：	クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] 逆相カラム ID C_8 3 µm 30×4.6 mm（[redacted]、米国）を、プレカラム：0.5×1.5 mm（[redacted]、米国）と用いて実施した。移動相は、アセトニトリル：20 mM ギ酸アンモニウム緩衝液 pH 3.5（55：45、v:v）とした。クロマトグラフィーによる分離は、アイソクラティック条件下で、流速 1 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、Binary 勾配ポンプ [redacted]（[redacted]、ヴァルトブロン、ドイツ）及び MS 分光器 [redacted]（[redacted]、[redacted]、カナダ）からなる HPLC システムを用いて実施した。

結果：970066			
バリデーション項目			サル血漿
直線性	定量範囲		9.55-30972 ng/mL
	相関係数(r)		>0.9968
	重み付け条件		1/x
定量下限	LLOQ		9.55 ng/mL
再現性	分析単位内真度-%Diff	51868 ng/mL (n=6; DF=5) 25934 ng/mL (n=6) 5459.8 ng/mL (n=6) 109.2 ng/mL (n=6) LLOQ: 9.55 ng/mL (n=6)	7.5% 0.1% 10.2% 5.6% -9.5%
	分析単位内精度-CV%	51868 ng/mL (n=6; DF=5) 25934 ng/mL (n=6) 5459.8 ng/mL (n=6) 109.2 ng/mL (n=6) LLOQ: 9.55 ng/mL (n=6)	1.7% 0.7% 1.1% 3.4% 5.2%
	分析単位間真度-%Diff	51868 ng/mL (n=6; DF=5) 25934 ng/mL (n=14) 5459.8 ng/mL (n=14) 109.2 ng/mL (n=14)	3.9% -2.0% 6.8% 5.2%
	分析単位間精度-CV%	51868 ng/mL (n=6; DF=5) 25934 ng/mL (n=14) 5459.8 ng/mL (n=14) 109.2 ng/mL (n=14)	1.1% 4.3% 3.2% 4.7%
添加回収率	真度 (%Diff)	25934 ng/mL (n=6) 5459.8 ng/mL (n=6) 109.2 ng/mL (n=6)	1.7% 1.6% 16.7%
安定性	室温, 24 時間	25934 ng/mL (n=3) 5459.8 ng/mL (n=3) 109.2 ng/mL (n=3)	安定 安定 安定
	室温, 48 時間	25934 ng/mL (n=3) 5459.8 ng/mL (n=3) 109.2 ng/mL (n=3)	安定 安定 安定
	凍結融解安定性(3 cycles)	25934 ng/mL (n=3) 5459.8 ng/mL (n=3) 109.2 ng/mL (n=3)	安定 安定 安定

2.6.5.2.G サフィナミド：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-04
試験番号：87-00

試験番号/GLP 適用:	87-00/GLP
試験の種類：	ラット血漿中のサフィナミドの検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	HPLC 分離は、[redacted] 逆相 C18、50×2 mm、3 µm 分析カラムを用い、30%酢酸アンモニウム緩衝液（10 mM、pH 4.0）と 70%アセトニトリルのアイソクラティック溶出により、流速 0.25 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted] 質量分析器で、大気圧化学イオン化（Atmospheric Pressure Chemical Ionization；APCI）により、加熱ネブライザーインターフェースで実施した。PNU 0167779E（Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：87-00			
バリデーション項目			結果
直線性	定量範囲		20-20000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9996
定量下限	LLOQ		20 ng/mL
再現性	分析単位内真度-%Diff	6000 ng/mL (n=6) 600 ng/mL (n=6) 60 ng/mL (n=6) LOQ: 20 ng/mL (n=6)	0.7% 3.1% 6.3% 5.3%
	分析単位内精度-CV%	6000 ng/mL (n=6) 600 ng/mL (n=6) 60 ng/mL (n=6) LOQ: 20 ng/mL (n=6)	2.3% 1.3% 3.7% 4.6 %
	分析単位間真度-%Diff	6000 ng/mL (n=18) 600 ng/mL (n=18) 60 ng/mL (n=18) LOQ: 20 ng/mL (n=18)	0.1% 1.7% 3.8% 1.4%
	分析単位間精度-CV%	6000 ng/mL (n=18) 600 ng/mL (n=18) 60 ng/mL (n=18) LOQ: 20 ng/mL (n=18)	1.9% 1.8% 4.1% 6.7%
安定性	短期保存安定性 (室温, 24 時間, 血漿)	6000 ng/mL (n=4) 600 ng/mL (n=4) 60 ng/mL (n=4)	安定 安定 安定
	凍結融解安定性 (3 cycles)	6000 ng/mL (n=4) 600 ng/mL (n=4) 60 ng/mL (n=4)	安定 安定 安定
	前処理後試料中の安定性 (4°C, 最終抽出後 24 時間)	6000 ng/mL (n=4) 600 ng/mL (n=4) 60 ng/mL (n=4)	安定 安定 安定

2.6.5.2.H サフィナミド：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-05
試験番号：88-00

試験番号/GLP 適用:	88-00/GLP
試験の種類：	サル血漿中のサフィナミドの検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] 逆相 C18、50×2 mm、3 µm 分析カラムを用い、30%酢酸アンモニウム緩衝液（10 mM、pH 4.0）と 70%アセトニトリルのアイソクラティック溶出により、流速 0.25 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted] 質量分析器で、大気圧化学イオン化（Atmospheric Pressure Chemical Ionization；APCI）により、加熱ネブライザーインターフェースで実施した。PNU 0167779E（Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：88-00			
バリデーション項目			サル血漿
直線性	定量範囲		20-20000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9989
定量下限	LLOQ		20 ng/mL
再現性	分析単位内真度-%Diff (n=6)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL LLOQ: 20 ng/Ml	-0.1% 0.4% 0.1% 3.2%
	分析単位内精度-CV% (n=6)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL LLOQ: 20 ng/mL	1.4% 1.5% 1.9% 6.9%
	分析単位間真度-%Diff (n=18)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL LLOQ: 20 ng/mL	0.3% 2.2% 1.6% 2.2%
	分析単位間精度-CV% (n=18)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL LLOQ: 20 ng/mL	2.3% 2.1% 3.2% 6.7%
血漿中安定性	オートサンプラ中安定性 (4°C, 24 時間, 血漿) (n=4)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL	安定 安定 安定
	凍結融解安定性(3 cycle) (n=4)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL	安定 安定 安定
	室温, 最終抽出後 24 時間(n=4)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL	安定 安定 安定

2.6.5.2.I サフィナミド：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のパーシャル再バリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-06
試験番号：88-00-B

試験番号/GLP 適用:	88-00-B/GLP
試験の種類：	[redacted] 質量分析器を用いた、サル血漿中のサフィナミドの検出を目的とする LC-MS/MS 法のパーシャル再バリデーション
方法：	クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] 逆相 C18、50×2 mm、3 µm 分析カラムを用い、30%酢酸アンモニウム緩衝液（10 mM、pH 4.0）と 70%アセトニトリルのアイソクラティック溶出により、流速 0.25 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted] 質量分析器で、大気圧化学イオン化（Atmospheric Pressure Chemical Ionization；APCI）により、加熱ネブライザーインターフェースで実施した。PNU 0167779E（Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：88-00-B			
バリデーション項目			サル血漿
直線性	定量範囲		20-20000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9989
定量下限	LLOQ		20 ng/mL
再現性	分析単位内真度-%Diff (n=6)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL LLOQ: 20 ng/mL	-0.1% 0.4% 0.1% 3.2%
	分析単位内精度-CV% (n=6)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL LLOQ: 20 ng/mL	1.4% 1.5% 1.9% 6.9%
	分析単位間真度-%Diff (n=18)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL LLOQ: 20 ng/mL	0.3% 2.2% 1.6% 2.2%
	分析単位間精度-CV% (n=18)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL LLOQ: 20 ng/mL	2.3% 2.1% 3.2% 6.7%
血漿中安定性	オートサンプラ中安定性 (4°C, 24 時間, 血漿) (n=4)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL	安定 安定 安定
	凍結融解安定性(3 cycles) (n=4)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL	安定 安定 安定
	室温, 最終抽出後 24 時間(n=4)	6000 ng/mL 600 ng/mL 60 ng/mL	安定 安定 安定

2.6.5.2.J サフィナミド：LC-MS/MS 法のヒト血漿・ラット血漿クロスバリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-07
試験番号：96-00

試験番号/GLP 適用:	96-00/GLP
試験の種類：	ヒト血漿・ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のクロスバリデーション。
方法：	クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] 逆相 C18、75×4.6 mm、3 µm 分析カラム及び 3.20 分以内に 50%酢酸アンモニウム緩衝液（10 mM、pH 4.0）から 100%アセトニトリルに変化する位相勾配を用い、流速 1.00 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch No.[redacted]）の検出は、[redacted] 質量分析器で、大気圧化学イオン化（Atmospheric Pressure Chemical Ionization；APCI）により、加熱ネブライザーインターフェースで実施した。PNU 0167779E（Batch No.[redacted]）を、内部標準として用いた。

結果: 96/00			
バリデーション項目			結果
直線性	定量範囲		0.5-20 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9985
定量下限	LLOQ		0.5 ng/mL
頑健性	日内再現性　真度-%Diff	15 ng/mL (n=6) 7.5 ng/mL (n=6) 1.5 ng/mL (n=6) LOQ: 0.5 ng/mL (n=6)	3.1% 1.1% 8.7% 4.0%
	日内再現性　精度-CV%	15 ng/mL (n=6) 7.5 ng/mL (n=6) 1.5 ng/mL (n=6) LOQ: 0.5 ng/mL (n=6)	3.7% 4.0% 4.2% 6.9%
	Inter-assay accuracy-%Diff	15 ng/mL (n=12) 7.5 ng/mL (n=12) 1.5 ng/mL (n=12) LOQ: 0.5 ng/mL (n=12)	2.9% 1.7% 6.7% 4.0%
	Inter-assay precision-CV%	15 ng/mL (n=12) 7.5 ng/mL (n=12) 1.5 ng/mL (n=12) LOQ: 0.5 ng/mL (n=12)	4.9% 3.4% 4.9% 6.7%

2.6.5.2.K サフィナミド：ウサギ血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-06
試験番号：19030 の Appendix D

試験番号/GLP 適用:	19030 の Appendix D/GLP
試験の種類：	ヘパリンを抗凝固剤として用いたウサギ血漿中のサフィナミドの検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション。
方法：	クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] 逆相 C18、50×2 mm、3 µm 分析カラムを用い、30%酢酸アンモニウム（10 mM、pH 4.0）と 70%アセトニトリルのグラジエント溶出により、流速 0.3 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted] 及び [redacted] 質量分析器を用い、ターボイオンスプレーインターフェースで実施した。PNU 0167779E（Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：19130 の Appendix D				
バリデーション項目			ウサギ血漿	
			API3000	API365
直線性	定量範囲		10-5000 ng/mL	
	相関係数(r)		≥0.9972	0.9993
定量下限	LLOQ		10 ng/mL	
再現性	分析単位内真度-%Diff	3000 ng/mL (n=6) 300 ng/mL (n=6) 30 ng/mL (n=6) LLOQ: 10 ng/mL (n=6)	7.0% 0.4% -1.7% 3.0%	2.5% 2.0% -2.3% -10.0%
	分析単位内精度-CV%	3000 ng/mL (n=6) 300 ng/mL (n=6) 30 ng/mL (n=6) LLOQ: 10 ng/mL (n=6)	7.3% 4.2% 3.8% 9.6%	1.1% 0.8% 0.7% 4.2%
	分析単位間真度-%Diff	3000 ng/mL (n=18) 300 ng/mL (n=18) 30 ng/mL (n=18) LLOQ: 10 ng/mL (n=17)	3.7% 0.6% -1.7% ±0%	
	分析単位間精度-CV%	3000 ng/mL (n=18) 300 ng/mL (n=18) 30 ng/mL (n=18) LLOQ: 10 ng/mL (n=17)	6.9% 5.6% 7.2% 8.4%	
添加回収率	Mean% (n=3)	3000 ng/mL 300 ng/mL 30 ng/mL	101.5% 99.7% 100.0%	
	精度-CV% (n=3)	3000 ng/mL 300 ng/mL 30 ng/mL	7.6% 7.6% 11.8%	
血漿中安定性	オートサンプラ中安定性 4°C, 24 時間(n=4)	30, 300 and 3000 ng/mL	安定	
	凍結融解安定性(3 cycles) (n=4)	30, 300 and 3000 ng/mL	安定	
	24 時間、室温 (n=4)	30, 300 and 3000 ng/mL	安定	
希釈の妥当性	真度 % (n=3)	10000 (DF=5)	2.5%	
	精度-CV%	10000 (DF=5)	1.3%	

2.6.5.2.L サフィナミド：ラット胆汁を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-08
試験番号：98-01

試験番号/GLP 適用:	98-01/GLP
試験の種類：	ラット胆汁中のサフィナミドの検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	HPLC 分離は、[redacted] [redacted] 逆相 C18、75×4.6 mm、3 µm 分析カラム及び 3.20 分以内に 50%酢酸アンモニウム緩衝液（10 mM、pH 4.0）から 100%アセトニトリルに変化する移動相グラジエントを用い、流速 1.00 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted] 質量分析器で、大気圧化学イオン化（Atmospheric Pressure Chemical Ionization ; APCI）により、加熱ネブライザーインターフェースで実施した。PNU 0167779E（Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：98-01			
バリデーション項目			結果
直線性	定量範囲		20-20000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9989
定量下限	LLOQ		20 ng/mL
再現性	分析単位内真度-%Diff	6000 ng/mL (n=6) 600 ng/mL (n=6) 60 ng/mL (n=6) LOQ: 20 ng/mL (n=6)	5.8% 0.1% 2.9% 4.7%
	分析単位内精度-CV%	6000 ng/mL (n=6) 600 ng/mL (n=6) 60 ng/mL (n=6) LOQ: 20 ng/mL (n=6)	3.2% 2.5% 4.0% 4.3%
	分析単位間真度-%Diff	6000 ng/mL (n=18) 600 ng/mL (n=18) 60 ng/mL (n=18) LOQ: 20 ng/mL (n=18)	3.1% 0.8% 1.1% 1.5%
	分析単位間精度-CV%	6000 ng/mL (n=18) 600 ng/mL (n=18) 60 ng/mL (n=18) LOQ: 20 ng/mL (n=18)	3.6% 2.7% 6.4% 7.8%
安定性	胆汁中短期保存安定性 (4°C, 24 時間)	6000 ng/mL (n=4) 600 ng/mL (n=4) 60 ng/mL (n=4)	安定 安定 安定
	凍結融解安定性 (3 cycles)	6000 ng/mL (n=4) 600 ng/mL (n=4) 60 ng/mL (n=4)	安定 安定 安定
	前処理後試料中の安定性 (室温, 最終抽出後 24 時間)	6000 ng/mL (n=4) 600 ng/mL (n=4) 60 ng/mL (n=4)	安定 安定 安定

2.6.5.2.M サフィナミド：ラット尿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-08
試験番号：98-01

試験番号/GLP 適用:	98-01/GLP
試験の種類：	ラット尿中のサフィナミドの検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	HPLC 分離は、[redacted] [redacted] 逆相 C18、75×4.6 mm、3 µm 分析カラム及び 3.20 分以内に 50%酢酸アンモニウム緩衝液（10 mM、pH 4.0）から 100%アセトニトリルに変化する移動相グラジエントを用い、流速 1.00 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted] 質量分析器で、大気圧化学イオン化（Atmospheric Pressure Chemical Ionization ; APCI）により、加熱ネブライザーインターフェースで実施した。PNU 0167779E（Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：98-01			
バリデーション項目			結果
直線性	定量範囲		0.5-50 µg/mL
	相関係数 (r)		≥0.9987
定量下限	LLOQ		0.5 µg/mL
再現性	分析単位内真度-%Diff	30 µg/mL (n=6) 3 µg/mL (n=6) 1.5 µg/mL (n=6) LOQ: 0.5 µg/mL (n=6)	7.6% -0.7% -0.7% 0%
	分析単位内精度-CV%	30 µg/mL (n=6) 3 µg/mL (n=6) 1.5 µg/mL (n=6) LOQ: 0.5 µg/mL (n=6)	4.7% 3.4% 4.0% 6.8%
	分析単位間真度-%Diff	30 µg/mL (n=18) 3 µg/mL (n=18) 1.5 µg/mL (n=18) LOQ: 0.5 µg/mL (n=18)	5.4% -0.3% 0% 2.0%
	分析単位間精度-CV%	30 µg/mL (n=18) 3 µg/mL (n=18) 1.5 µg/mL (n=18) LOQ: 0.5 µg/mL (n=18)	5.8% 3.9% 3.2% 4.9%
安定性	尿中短期保存安定性 (室温、24 時間)	30 µg/mL (n=4) 3 µg/mL (n=4) 1.5 µg/mL (n=4)	安定 安定 安定
	凍結融解安定性 (3 cycle)	30 µg/mL (n=4) 3 µg/mL (n=4) 1.5 µg/mL (n=4)	安定 安定 安定
	前処理後試料中の安定性 (室温, 最終抽出後 24 時間)	30 µg/mL (n=4) 3 µg/mL (n=4) 1.5 µg/mL (n=4)	安定 安定 安定

2.6.5.2.N サフィナミド：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法の移管

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-09
試験番号：P010-04 (R-035-04)

試験番号/GLP 適用:	P010-04 (R-035-04)/GLP		
試験の種類：	ラット血漿中のサフィナミドの検出を目的とする LC-MS/MS 法の移管		
方法：	試験番号 87/00 に記載されている方法を、主に使用する MS/MS 検出器が異なることによるいくつかの修正を行い、移管した。この方法は、MRM（親 > 娘）法に基づいて、分析物を検出・定量している。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] 逆相 C18、50×2 mm、3 µm 分析カラムを用い、30%酢酸アンモニウム（10 mM、pH 4.0）と 70%アセトニトリルのアイソクラティック溶出により、流速 0.6 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted]「[redacted]」MS/MS 検出器で実施した。NW-1044（Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。		
結果：P010/04 (R035/04)			
バリデーション項目			結果
直線性	定量範囲		15-20000 ng/mL
	決定係数(r^2)		0.9993
定量下限	LLOQ		15 ng/mL
分析単位内再現性	真度-Mean% (n=5)	13924 ng/mL 994.6 ng/mL 59.7 ng/mL LLOQ: 15 ng/mL	98.39% 98.30% 92.80% 93.00%
	精度-RSD% (n=5)	13924 ng/mL 994.6 ng/mL 59.7 ng/mL LLOQ: 15 ng/mL	2.22% 4.68% 5.86% 14.60%
添加回収率	真度-Mean% (n=5)	13924 ng/mL 995 ng/mL 60 ng/mL	91.37% 90.89% 89.89%
	精度-RSD% (n=5)	13924 ng/mL 995 ng/mL 60 ng/mL	4.22% 3.66% 3.41%
安定性	標準溶液中安定性 室温, 4 時間(n=2)	12193 ng/mL 58.69 ng/mL	安定 安定
	血漿中安定性 -20°C, 3 日間(n=3)	13924 ng/mL 59.7 ng/mL	安定 安定

2.6.5.2.O サフィナミド：マウス血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所：4.2.2.1-10
試験番号：P013104 (R-036-04)

試験番号/GLP 適用:	P013104 (R-036-04, R-036-104)/GLP
試験の種類：	マウス血漿中のサフィナミドの検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	この方法は、MRM（親 > 娘）法に基づいて、分析物を検出・定量している。HPLC 分離は、[redacted] 逆相 C18、50×2 mm、3 µm 分析カラムを用い、30%酢酸アンモニウム（10 mM、pH 4.0）と 70%アセトニトリルのアイソクラティック溶出により、流速 0.6 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）の検出は、[redacted]「[redacted]」MS/MS 検出器で実施した。NW-1044（Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：P13104 (R-036-04)			
バリデーション項目			結果
直線性	定量範囲		15-20000 ng/mL
	決定係数(r^2)		0.9988
定量下限	LLOQ		15 ng/mL
分析単位内再現性	真度-Mean%	13924 ng/mL (n=5) 994.6 ng/mL (n=5) 59.7 ng/mL (n=5) LLOQ: 15 ng/mL (n=5)	103.74% 104.61% 92.68% 93.1%
	精度-RSD%	13924 ng/mL (n=5) 994.6 ng/mL (n=5) 59.7 ng/mL (n=5) LLOQ: 15 ng/mL (n=5)	5.83% 5.55% 11.16% 5.50%
添加回収率	真度-Mean%	13924 ng/mL (n=5) 995 ng/mL (n=5) 60 ng/mL (n=5)	109.58% 102.73% 89.95%
	精度-RSD%	13924 ng/mL (n=5) 995 ng/mL (n=5) 60 ng/mL (n=5)	7.79% 8.32% 9.59%
安定性	血漿中短期保存安定性 (室温, 24 時間)	13924 ng/mL (n=3) 59.7 ng/mL (n=3)	安定 安定
	標準溶液中安定性 (室温, 4 時間)	12193 ng/mL (n=2) 58.69 ng/mL (n=2) 789.5 ng/mL (n=2) IS solution	安定 安定 安定
	前処理後試料中安定性 (4°C, 45 時間)	14511.4 ng/mL (n=2) 55.3 ng/mL (n=2)	安定 安定
	凍結融解安定性 (3 cycles)	13924 ng/mL (n=3) 59.7 ng/mL (n=3)	安定 安定
	血漿中長期保存安定性 (≤ -20°C, 106 日間)	13924 ng/mL (n=3) 59.7 ng/mL (n=3)	安定 安定

RSD%：相対標準偏差率

2.6.5.2.P サフィナミド、NW-1153、NW-1689：マウス血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所：4.2.2.1-11
試験番号：P004-05 (R-027-05)

試験番号/GLP 適用:	P004-05 (R-027-05)/GLP
試験の種類：	マウス血漿中のサフィナミド及び代謝物（NW-1153 及び NW-1689）の検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	この方法は、MRM（親 > 娘）法に基づいて、分析物を検出・定量している。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] MS-C18、150×2.1 mm、3.5 µm HPLC カラムを用いて実施した。[redacted] の HPLC ポンプ及びサンプラーを、[redacted] の「[redacted]」（MS/MS 検出器）とともに用いた。サフィナミド（Batch [redacted]）、NW-1689（Batch No.[redacted]）、及び NW-1153（Batch No.[redacted]）の検出を実施した。NW-1044（Batch No.[redacted]）、NW-1796（Batch No.[redacted]）及び NW-1797（Batch No.[redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：P004-05 (R-027-05)						
バリデーション項目			結果			
			サフィナミド	NW-1153	NW-1689	
直線性	定量範囲		5-20000 ng/mL	5-20000 ng/mL	20-20000 ng/mL	20000-200000 ng/mL
	決定係数(r^2)		0.9989	0.9997	0.9998	0.9994
	重み付け条件		1/x	1/x	1/x	1/x
定量下限再現性	分析単位内真度 (n=5)		106.7%	105.5%	104.6%	
	分析単位内精度-RSD% (n=5)		7.79%	8.92%	8.47%	
分析単位内再現性	真度-Mean% (n=5)	14518 ng/mL / 14560 ng/mL / 139860 ng/mL	86.11%	86.92%	87.00%	
		5081 ng/mL / 5096 ng/mL / 48951 ng/mL	101.74%	93.84%	91.74%	
		2074 ng/mL / 21 ng/mL / 80 ng/mL	113.87%	104.93%	103.30%	
	精度-RSD% (n=5)	14518 ng/mL / 14560 ng/mL / 139860 ng/mL	0.57%	2.38%	1.28%	
		5081 ng/mL / 5096 ng/mL / 48951 ng/mL	1.60%	3.38%	5.42%	
		2074 ng/mL / 21 ng/mL / 80 ng/mL	1.00%	4.47%	6.06%	
添加回収率	Mean % (n=5)	14518 ng/mL / 14560 ng/mL / 139860 ng/mL	88.0%	78.5%	74.5%	
		5081 ng/mL / 5096 ng/mL / 48591 ng/mL	99.0%	97.6%	96.5%	
		21 ng/mL / 21 ng/mL / 80 ng/mL	153.5%	164%	223.1%	
	精度-RSD % (n=5)	14518 ng/mL / 14560 ng/mL / 139860 ng/mL	3.46%	3.76%	2.07%	
		5081 ng/mL / 5096 ng/mL / 48591 ng/mL	5.30%	4.57%	3.96%	
		21 ng/mL / 21 ng/mL / 80 ng/mL	6.92%	4.61%	6.86%	
標準溶液中安定性	室温, 4 時間	2 濃度(low, High)	安定	安定	安定	
	5±3°C, 8 日間	2 濃度(low, High)	安定	安定	安定	
前処理試料中安定性	5±3°C, 24 時間	2 濃度(low, High)	安定	安定	安定	
	5±3°C, 7 日間	2 濃度(low, High)	安定	安定	安定	
血漿中安定性	室温, 4 時間	2 濃度(low, High)	安定	安定	安定	
	-20°C, 9 日間	2 濃度(low, High)	安定	安定	安定	
	-20°C, 162 日間	2 濃度(low, High)	安定	安定	安定	

RSD%：相対標準偏差%

2.6.5.2.Q サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所：4.2.2.1-12
試験番号：0070-455 (DMPK-79-08)

試験番号/GLP 適用:	0070-455 (DMPK-79-08)/non-GLP
試験の種類：	ヘパリンリチウムを抗凝固剤として含有するラット血漿中のサフィナミド及びその代謝物（NW-1153 及び NW-1689）の検出を目的とする LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション
方法：	この方法では、自動化された除タンパク法を用いた。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted]、[redacted]、100×2.1 mm、1.7 µm カラムを用いて実施した。分析物は、[redacted] [redacted] 質量分析器で検出した。

結果：0070-455 (DMPK-79-08)

バリデーション項目			結果		
			サフィナミド	NW-1153	NW-1689
直線性	定量範囲		10-5000 ng/mL	10-5000 ng/mL	20-5000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9996	≥0.9992	≥0.9988
	重み付け条件		1/x	1/x	$1/x^2$
定量下限再現性	分析単位内真度-Mean% (n=3 batches)		93.1-97.6%	96.6-108%	102-107%
	分析単位内精度-RSD% (n=3 batches)		6.3-7.4%	3.3-6.6%	2.4-4.8%
	分析単位間真度-Mean% (n=18)		95.4%	101%	104%
	分析単位間精度-RSD% (n=18)		6.9%	7.2%	4.0%
分析単位内再現性	真度-Mean% (n=3 batches)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	89.4-90.3% 89.2-98.8% 92.3-99.0%	91.7-95.7% 93.6-106% 97.7-106%	93.1-97.4% 99.1-100.3% 102.2-103.0%
	精度-RSD% (n=3 batches)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	2.8-5.0% 2.2.-7.9% 2.9-9.1%	1.7-3.7% 1.7-8.0% 1.7-8.4%	1.1-5.5% 1.5-3.6% 1.3-2.7%
分析単位間再現性	真度-Mean% (n=18)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	90.0% 95.2% 95.0%	94.3% 102% 102%	96.0% 99.4% 103%
	精度-RSD% (n=18)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	4.0% 6.5% 6.8%	3.4% 7.0% 5.6%	4.3% 2.6% 2.1%

RSD%：相対標準偏差率

添加回収率	Mean% (n=6)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	96.9% 96.5% 95.5%	102.1% 100.9% 102.3%	99.2% 96.9% 100.3%
マトリックス効果	% Modification (n=6)	250 ng/mL / 350 ng/mL[a]	-8.5-12.7%	-9.4-15.5%	-1.2-23.1%
希釈の妥当性	真度 (n=6)	25000 ng/mL (DF=10) 70000 ng/mL (DF=20)	92.8% 94.7%	98.4% 99.4%	101% 103%
	精度 (n=6)	25000 ng/mL (DF=10) 70000 ng/mL (DF=20)	2.3% 3.8%	3.4% 2.6%	3.6% 3.9%
選択性	(n=3)	カルビドパ、レボドパ及びプラミペキソールとの共存下での測定への影響はない			
血漿中安定性	室温, 24 時間	3500 ng/mL 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	安定	安定	安定
	-20°C, 6 ヶ月	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	安定	安定	安定
	凍結融解安定性(3 cycles)	3500 ng/mL 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	安定	安定	安定
前処理後試料中の安定性	4°C, 4 日間	All QC levels	安定	安定	安定

a：NW-1689 では高い濃度を用いた。

2.6.5.2.R サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所：4.2.2.1-13
試験番号：P003-05 (R-026-05)

試験番号/GLP 適用:	P003-05 (R-026-05)/GLP
試験の種類：	ラット血漿中のサフィナミド及びその代謝物（NW-1153 及び NW-1689）の濃度測定を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	この方法は、MRM（親 > 娘）法に基づいて、分析物を検出・定量している。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] C18、4×2 mm をガードカートリッジとして用い、[redacted] MS-C18、3.5 µm、150×2.1 mm HPLC カラムで、95～25%酢酸アンモニウム（10 mM、pH 4.0）と 5～75%アセトニトリルのグラジエント溶出により、流速 0.6/0.25 mL/分で実施した。サフィナミド（Batch [redacted]）、NW-1689（Batch [redacted]）及び NW-1153（Batch [redacted]）の検出は、[redacted]「[redacted]」MS/MS 検出器で実施した。NW-1044（Batch [redacted]）、NW-1796（Batch [redacted]）及び NW-1797（Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：P003-05 (R-026-05)					
バリデーション項目			サフィナミド	NW-1153	NW-1689
直線性	定量範囲		5-20000 ng/mL		20-200000 ng/mL
	相関係数(r^2)		0.9986	0.9985	0.9992
定量下限再現性	分析単位内真度-Mean% (n=5)		99.4%	94.5%	102.4%
	分析単位内精度-RSD% (n=5)		2.31%	10.95%	6.01%
分析単位内再現性	真度-Mean% (n=5)	14308 ng/mL / 14000 ng/mL / 143185 ng/mL	90.9%	98.9%	86.9%
		5008 ng/mL / 4900 ng/mL / 50115 ng/mL	108.4%	113.1%	104.4%
		20 ng/mL / 20 ng/mL / 82 ng/mL	106.6%	110.7%	99.9%
	精度-RSD% (n=5)	14308 ng/mL / 14000 ng/mL / 143185 ng/mL	2.34%	0.90%	1.35%
		5008 ng/mL / 4900 ng/mL / 50115 ng/mL	2.47%	0.68%	1.35%
		20 ng/mL / 20 ng/mL / 82 ng/mL	9.13%	2.62%	7.62%
添加回収率	Mean% (n=5)	14308 ng/mL / 14000 ng/mL / 143185 ng/mL	81.9%	81.1%	79.7%
		5008 ng / mL /4900 ng/mL / 50115 ng/mL	94.2%	91.4%	93.3%
		20 ng/mL / 20 ng/mL / 82 ng/mL	105.3%	101.7%	100.9%
	精度-RSD% (n=5)	14308 ng/mL / 14000 ng/mL / 143185 ng/mL	3.45%	3.65%	3.13%
		5008 ng/mL / 4900 ng/mL / 50115 ng/mL	3.28%	3.75%	3.07%
		20 ng/mL / 20 ng/mL / 82 ng/mL	6.46%	3.75%	7.19%
選択性	(n=5/6)	カルビドパ、レボドパ及びプラミペキソールとの共存下での測定への影響はない			
標準溶液中安定性	室温, 4 時間	2 濃度(Low, High)	安定	安定	安定
	5±3°C, 8 日間	2 濃度(Low, High)	安定	安定	安定
前処理後試料中の安定性	5±3°C, 24 時間	2 濃度(Low, High)	安定	安定	安定
血漿中安定性	凍結融解安定性(3 cycles)	2 濃度(Low, High)	安定	安定	安定
	室温, 4 時間	2 濃度(Low, High)	安定	安定	安定
	-20°C, 7 日間	2 濃度(Low, High)	安定	安定	安定
	-20°C, 163 日間	2 濃度(Low, High)	安定	安定	安定

RSD%：相対標準偏差率

2.6.5.2.S サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所：4.2.2.1-14
試験番号：SOI0034 (28597, RE7160)

試験番号/GLP 適用:	SOI0034 (28597, RE7160)/GLP
試験の種類：	ヘパリンリチウムを抗凝固剤として含有するラット血漿中のサフィナミド及びその代謝物（NW-1153 及び NW-1689）の検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	この方法は、サフィナミド（Batch No.[redacted]）、NW-1153（Batch No.[redacted]）、NW-1689（Batch No.[redacted]）、及びこれらの内部標準であるそれぞれ NW-1044（Batch No.[redacted]）、NW-1797（Batch No.[redacted]）及び NW-1796（Batch No.[redacted]）の抽出を除タンパクにより実施した。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] C18、100×4.6 mm、3.5 µm カラムを用い、[redacted] により検出した。

結果：SOI0034 (28597, RE7160)

バリデーション項目			結果		
			サフィナミド	NW-1153	NW-1689
直線性	定量範囲		5-5000 ng/mL	5-5000 ng/mL	20-10000 ng/mL
	決定係数(r^2)		≥0.9895	≥0.9918	≥0.9872
	重み付け条件		$1/x^2$	$1/x^2$	$1/x^2$
定量下限再現性	分析単位内真度-RE% (n=3 batch)		-8.6-12.8%	-14.6-8.0%	-8.5-13.5%
	分析単位内精度-CV% (n=3 batch)		4.2-15.7%	3.1-16.9%	3.9-13.9%
	分析単位間真度-RE% (n=16)		4.2%[b]	-1.0%	1.0%
	分析単位間精度-CV% (n=16)		13.1%[b]	14.8%	12.9%
分析単位内再現性	真度-RE% (n=3 batch)	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 200 ng/mL / 600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	0.8-9.7% -3.0-3.5% -9.3- -3.3%	1.8-8.4% -4.5-3.0% -8.0-9.3%	-2.5-11.8% -6.3-0.3% -14.2- -11.0%
	精度-CV% (n=3 batch)	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 200 ng/mL / 600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	2.0-4.0% 4.3-9.3% 4.2-9.9%	2.1-5.5% 3.4-9.1% 7.7-13.2%	3.3-4.8% 3.0-4.8% 2.2-11.2%
分析単位間再現性 y	真度-RE% (n=18)	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 200 ng/mL / 600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	6.3% 0.0% -7.3%[b]	5.3% 0.0% -2.0%[b]	3.7% -2.0% -12.5%
	精度-CV% (n=18)	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 200 ng/mL / 600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	4.9% 6.7% 7.2%[b]	4.6% 7.2% 12.5%[b]	7.1% 4.7% 6.7%

添加回収率	Mean% (n=6)	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 200 ng/mL / 600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	73.7% 76.4% 82.5%	72.1% 79.6% 81.6%	68.2% 73.5% 79.5%
	精度-CV% (n=6)	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 200 ng/mL / 600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	3.5% 4.7% 8.5%	6.4% 6.2% 7.4%	4.2% 6.2% 10.5%
希釈の妥当性	真度-RE% (n=6)	76000 ng/mL (DF=20) 152000 ng/mL (DF=20)[a]	5.4%	2.8%	5.9%
	精度-CV% (n=6)	76000 ng/mL (DF=20) 152000 ng/mL (DF=20)[a]	4.7%	4.6%	8.2%
	真度-RE% (n=6)	190000 ng/mL (DF=50) 380000 ng/mL (DF=50)[a]	10.0%	6.8%	12.4%
	精度-CV% (n=6)	190000 ng/mL (DF=50) 380000 ng/mL (DF=50)[a]	3.6%	3.8%	8.7%
	真度-RE% (n=6)	19000 ng/mL (DF=5) 38000 ng/mL (DF=5)[a]	6.3%	-4.2%	-8.7%
	精度-CV% (n=6)	19000 ng/mL (DF=5) 38000 ng/mL (DF=5)[a]	2.0%	3.0%	7.8%
標準溶液中安定性	22°C, 24 時間	1250 ng/mL / 2500 ng/mL[a]	安定	安定	安定
	4°C, 33 日間	2500 ng/mL	安定	安定	安定
前処理後試料中の安定性	22°C, 7 日間	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	安定 安定	安定 安定	安定 安定
血漿中安定性	22°C, 4 時間	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	安定 安定	安定 安定	安定 安定
	-20°C, 7 日間	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	安定 安定	安定 安定	安定 安定
	-20°C, 34 日間	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	安定 安定	安定 安定	安定 安定
	凍結融解安定性(3 cycles)	3800 ng/mL / 7600 ng/mL[a] 15.0 ng/mL / 60.0 ng/mL[a]	安定 安定	安定 安定	安定 安定

a：NW-1689 では高濃度を用いた。
b：n=17

2.6.5.2.T サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ラット網膜組織を用いた LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション

被験物質：サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所：4.2.2.1-15
試験番号：SOI0047

試験番号/GLP 適用:	SOI0047/GLP
試験の種類：	ラット網膜組織中のサフィナミド及びその代謝物（NW-1689 及び NW-1153）の検出を目的とする LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション
方法：	この生体試料中分析法は、超音波処理及び高剪断ホモジネーションを用いた脂肪組織からのサフィナミド（Batch No.[redacted]）、NW-1153（Batch No. [redacted]）、NW-1689（Batch No. [redacted]）、及びこれらの内部標準であるそれぞれ NW-1044（Batch No.[redacted]）、NW-1797（Batch No.[redacted]）及び NW-1796（Batch No.[redacted]）の抽出操作を伴う。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] C18、100× 2.1 mm、3.5 カラムを用いて実施し、タンデム質量分析法により検出した。

結果：SOI0047					
バリデーション項目			結果		
			サフィナミド	NW-1153	NW-1689
直線性	定量範囲		40-200000 ng/g	40-200000 ng/g	80-200000 ng/g
	決定係数(r^2)		≥0.9985	≥0.9955	≥0.9965
	重み付け条件		1/x	1/x	1/x
分析単位内再現性	真度-RE% (n=6)	160000 ng/g	-4.4%	-5.6%	0%
		100000 ng/g	-3.9%	-0.2%	-4.9%
		120/240 ng/g [a]	3.3%	3.3%	1.3%
		LLOQ: 40/80 ng/g [a]	-5.3%	-1.0%	-0.3%
	精度-CV% (n=6)	160000 ng/g	8.5%	5.9%	6.0%
		100000 ng/g	4.7%	8.1%	8.1%
		120/240 ng/g [a]	12.5%	7.6%	9.3%
		LLOQ: 40/80 ng/g [a]	9.7%	13.6%	12.1%
添加回収率	Mean% (n=3)	160000 ng/g	93.9%	96.1%	95.3%
		100000 ng/g	91.6%	93.5%	94.2%
		120 ng/g / 240 ng/g [a]	100%	102%	94.1%
	精度-CV% (n=3)	160000 ng/g	2.1%	4.6%	1.8%
		100000 ng/g	2.5%	7.3%	2.5%
		120 ng/g / 240 ng/g [a]	5.1%	6.1%	5.3%
マトリックス効果	真度-RE% (n=6)	120 ng/g / 240 ng/g [a]	-3.3%	-4.2%	-7.1%
	精度-CV% (n=6)	120 ng/g / 240 ng/g [a]	5.4%	3.7%	5.6%
希釈の妥当性	真度-RE% (n=6)	8000000 ng/g (DF=50)	1.3%	-3.1%	0.6%
	精度-CV% (n=6)	8000000 ng/g (DF=50)	9.3%	9.2%	4.6%
網膜中安定性	室温 (22°C, 2 時間)	160000 ng/g	安定	安定	安定
		120 ng/g / 240 ng/g[a]	安定	安定	安定
	短期保存安定性(4°C, 6 日間)	160000 ng/g	安定	安定	安定
		120 ng/g / 240 ng/g[a]	安定	安定	安定
	長期保存安定性(-70°C, 41 日間)	All QC levels	安定	安定	安定
	凍結融解安定性(3 cycles)	160000 ng/g	安定	安定	安定
		120 ng/g / 240 ng/g[a]	安定	安定	安定

a：NW-1689 では高い濃度を用いた。

2.6.5.2.U サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ラット脂肪組織を用いた LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション

被験物質：サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所：4.2.2.1-16
試験番号：SOI0051

試験番号/GLP 適用:	SOI0051/GLP
試験の種類：	ラット脂肪組織中のサフィナミド及びその代謝物（NW-1689 及び NW-1153）の検出を目的とする LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション
方法：	この生体試料中分析法は、超音波処理及び高剪断ホモジネーションを用いた脂肪組織からのサフィナミド（Batch No.[redacted]）、NW-1153（Batch No. [redacted]）、NW-1689（Batch No. [redacted]）、及びこれらの内部標準であるそれぞれ NW-1044（Batch No.[redacted]）、NW-1797（Batch No.[redacted]）及び NW-1796（Batch No.[redacted]）の抽出操作を伴う。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] C18、100 ×2.1 mm、3.5 カラムを用いて実施し、タンデム質量分析法により検出した。

結果：SOI0051					
バリデーション項目			結果		
			サフィナミド	NW-1153	NW-1689
直線性	定量範囲		40-200000 ng/g	40-200000 ng/g	80-200000 ng/g
	決定係数(r^2)		≥0.9977	≥0.9979	≥0.9985
	重み付け条件		1/x	1/x	1/x
分析単位内再現性	真度-RE% (n=6)	160000 ng/g	-4.4%	0.0%	-1.3%
		100000 ng/g	-10.7%	-9.6%	-11.5%
		120 ng/g / 240 ng/g[a]	6.7%	-2.5%	0%
		LLOQ: 40 ng/g / 80 ng/g[a]	10.8%	-4.0%	-3.1%
	精度-CV% (n=6)	160000 ng/g	4.9%	6.1%	4.4%
		100000 ng/g	2.6%	4.4%	1.4%
		120 ng/g / 240 ng/g[a]	4.5%	5.3%	6.4%
		LLOQ: 40 ng/g / 80 ng/g[a]	20.1%	12.0%	9.8%
添加回収率	Mean% (n=3)	160000 ng/g	96.8%	99.8%	110%
		100000 ng/g	97.7%	103%	108%
		120 ng/g / 240 ng/g[a]	106%	96.3%	108%
	精度-CV% (n=3)	160000 ng/g	3.3%	3.6%	9.6%
		100000 ng/g	2.2%	5.9%	6.3%
		120 ng/g / 240 ng/g[a]	10.2%	13.2%	15.2%
マトリックス効果	真度-RE% (n=6)	120 ng/g / 240 ng/g[a]	2.5%	8.3%	7.5%
	精度-CV% (n=6)	120 ng/g / 240 ng/g[a]	11.8%	9.9%	8.7%
希釈の妥当性	真度-RE% (n=6)	8000000 ng/g (DF=50)	-3.1%	-5.6%	-1.9%
	精度-CV% (n=6)	8000000 ng/g (DF=50)	11.0%	10.4%	8.1%
脂肪組織中安定性	室温(22°C, 2 時間)	160000 ng/g	安定	安定	安定
		120 ng/g / 240ng/g[a]	安定	安定	安定
	短期保存安定性(4°C, 5 日間)	160000 ng/g	安定	安定	安定
		120 ng/g / 240 ng/g[a]	安定	安定	安定
	長期保存安定性(-70°C, 33 日間)	All QC levels	安定	安定	安定
	凍結融解安定性(3 cycles)	160000 ng/g	安定	安定	安定
		120 ng/g / 240 ng/g[a]	安定	安定	安定

a：80 又は 240 ng/g の結果は、代謝物 NW-1689 に関するものである

2.6.5.2.V サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ウサギ血漿を用いた LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション

被験物質：サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所：4.2.2.1-17
試験番号：0070-457 (DMPK-83-08)

試験番号/GLP 適用:	0070-457 (DMPK-83-08)/non-GLP
試験の種類：	ヘパリンリチウムを抗凝固剤として含有するウサギ血漿中のサフィナミド及びその代謝物（NW-1153 及び NW-1689）の検出を目的とする LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション
方法：	この方法では、自動化された除タンパク法を用いた。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted]、100×2.1 mm、1.7 µm カラムを用いて実施した。分析物は、ターボイオンスプレーを用いた[redacted]質量分析器で検出した。

結果：0070-457 (DMPK-83-08)

バリデーション項目			結果		
			サフィナミド	NW-1153	NW-1689
直線性	定量範囲		10-5000 ng/mL	10-5000 ng/mL	20-5000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9973	≥0.9974	≥0.9983
	重み付け条件		1/x	1/x	1/x2
定量下限再現性	分析単位内真度-Mean% (n=3 batches)		93.6-101%	94.6-106%	94.0-108%
	分析単位内精度-RSD% (n=3 batches)		4.5-9.8%	4.6-9.2%	2.1-6.3%
	分析単位間真度% (n=18)		96.8%	98.5%	102%
	分析単位間精度-RSD% (n=18)		7.3%	8.4%	7.2%
分析単位内再現性	真度-Mean% (n=3 batches)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	96.6-101% 96.8-108% 97.3-106%	98.6-101% 98.8-102% 99.0-103%	96.0-98.6% 97.1-100% 94.7-102%
	精度-RSD% (n=3 batches)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	3.2-7.5% 3.3-4.5% 4.8-5.4%	3.3-5.4% 2.0-5.8% 2.2-6.7%	3.4-5.9% 3.1-6.4% 3.3-6.3%
分析単位間再現性	真度-Mean% (n=18)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	98.3% 102% 100%	99.4% 99.6% 101%	97.4% 98.3% 97.8%
	精度-RSD% (n=18)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	5.6% 6.1% 6.5%	4.7% 3.9% 4.6%	4.2% 4.5% 5.4%

RSD%：相対標準偏差率

添加回収率	Mean% (n=6)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	115% 97.7% 113%	115% 101% 117%	108% 91.9% 111%
マトリックス効果	% modification (n=6)	250 ng/mL / 350 ng/mL[a]	-9.3-12.1%	-8.7-9.9%	-12.1-8.1%
希釈の妥当性	真度-Mean% (n=6)	25000 ng/mL (DF=10) 70000 ng/mL (DF=20)	114% 88.1%	120% 93.0%	115% 89.0%
	精度-RSD% (n=6)	25000 ng/mL (DF=10) 70000 ng/mL (DF=20)	4.7% 2.7%	2.9% 4.7%	3.3% 1.6%
選択性	(n=3)	カルビドパ、レボドパ及びプロミペキソールとの共存下での測定への影響はなし			
安定性	室温, 25 時間	30/60[a] ng/mL, 3500 ng/mL	安定	安定	安定
	-20°C, 6 ヶ月	30/60[a], 250/350[a], 3500 ng/mL	安定	安定	安定
	凍結融解安定性(3 cycles)	30/60[a] ng/mL, 3500 ng/mL	安定	安定	安定
前処理後試料中安定性	4°C , 67h 時間	30/60[a], 250-350[a], 3500 ng/mL	安定	安定	安定

a：NW-1689 では高い濃度を用いた。

RSD%：相対標準偏差率

2.6.5.2.W サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ウサギ血漿を用いた LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション

被験物質：サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所：4.2.2.1-17
試験番号：0070-457 Addendum (DMPK83-08)

試験番号/GLP 適用:	0070-457 Addendum (DMPK-83-08)/non-GLP
試験の種類：	ウサギ血漿中のサフィナミド及びその代謝物（NW-1153 及び NW-1689）の検出を目的とする LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション。Addendum は、分析物の長期安定性評価及びサフィナミドから NW-1153 への変換に関する報告である。
方法：	この方法では、自動化された除タンパク法を用いた。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted]、100×2.1 mm、1.7 µm カラムを用いて実施した。分析物は、ターボイオンスプレーを用いた[redacted]質量分析器で検出した。

結果：0070/457 Addendum (DMPK83-08)

バリデーション項目			ウサギ血漿		
			サフィナミド	NW-1153	NW-1689
直線性	定量範囲		10.0-5000 ng/mL	10.0-5000 ng/mL	20.0-5000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9987	≥0.9979	≥0.9984
分析単位内再現性	真度-Diff% (n=8)	3500 ng/mL	-3.7%	1.4%	-1.1%
		250 ng/mL / 350 ng/mL[a]	-2.4%	0.4%	-1.1%
		30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	4.0%	-1.0%	-1.0%
	精度-RSD% (n=8)	3500 ng/mL	3.6%	5.3%	3.5%
		250 ng/mL / 350 ng/mL[a]	6.1%	3.8%	5.6%
		30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	12.8%	8.5%	5.0%
安定性	-20ºC (3, 6, 12 及び 24 ヶ月)	3500 ng/mL	安定	安定	安定
		250 ng/mL / 350 ng/mL[a]	安定	安定	安定
		30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	安定	安定	安定
-20ºC 保存条件下でのサフィナミドから NW-1153 への変換	3 ヶ月(% conversion)	25000 ng/mL	0.24%		
		3500 ng/mL	0.37%		
	6 ヶ月(% conversion)	25000 ng/mL	0.34%		
		3500 ng/mL	0.67%		
	12 ヶ月(% conversion)	25000 ng/mL	0.46%		
		3500 ng/mL	0.90%		
	24 ヶ月(% conversion)	25000 ng/mL	0.32%		
		3500 ng/mL	1.45%		

a：NW-1689 では高い濃度を用いた。

RSD%：相対標準偏差率

2.6.5.2.X サフィナミド、NW-1153、NW-1689：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所：4.2.2.1-18
試験番号：0070-456 (DMPK-82-08)

試験番号/GLP 適用:	0070-456 (DMPK-82-08)/non-GLP
試験の種類：	ヘパリンリチウムを抗凝固剤として含有するサル血漿中のサフィナミド及びその代謝物（NW-1153 及び NW-1689）の検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	この方法では、自動化された除タンパク法を用いた。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted]、[redacted]、100×2.1 mm、1.7 µm カラムを用いて実施した。分析物は、[redacted] [redacted] 質量分析器で検出した。

結果: 0070-456 (DMPK-82-08)

バリデーション項目			結果		
			サフィナミド	NW-1153	NW-1689
直線性	定量範囲		10-5000 ng/mL	10-5000 ng/mL	20-5000 ng/mL
	相関係数(R)		≥0.9982	≥0.9986	≥0.9941
	重み付け条件		1/x	1/x	$1/x^2$
定量下限再現性	分析単位内真度-Mean% (n=3 batches)		88.5-93.1%	93.2-97.2%	97.0-102%
	分析単位内精度-RSD% (n=3 batches)		2.4-9.3%	4.7-4.9%	1.8-4.8%
	分析単位間真度-Mean% (n=18)		90.8%	94.9%	98.5%
	分析単位間精度-RSD% (n=18)		5.8%	4.9%	4.4%
分析単位内再現性	真度-Mean% (n=3 batches)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	93.4-94.9% 97.6-102% 94.0-99.3%	94.3-99.4% 92.0-98.4% 92.0-99.0%	94.6-96.0% 93.4-98.3% 94.8-98.3%
	精度-RSD% (n=3 batches)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	3.1-4.0% 2.2.-5.0% 2.5-6.4%	1.3-4.6% 2.0-6.1% 2.7-7.0%	2.2-4.2% 1.9-4.5% 3.2-5.1%
分析単位間再現性	真度-Mean% (n=18)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	94.0% 99.6% 96.0%	96.0% 95.6% 96.3%	95.4% 96.3% 96.7%
	精度-RSD% (n=18)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	3.5% 3.7% 4.7%	3.7% 4.7% 5.9%	3.0% 3.6% 4.2%

RSD%：相対標準偏差率

添加回収率	Mean% (n=6)	3500 ng/mL	104%	104%	93.6%
		250 ng/mL / 350 ng/mL[a]	105%	104%	93.8%
		30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	113%	114%	98.3%
マトリックス効果	% modification (n=6)	250 ng/mL / 350 ng/mL[a]	-35.0- -0.1%	-33.9-3.4%	-32.4-6.1%
希釈の妥当性	真度-Mean% (n=6)	25000 ng/mL (DF=10)	93.6%	100%	97.2%
		70000 ng/mL (DF=20)	102%	103%	103%
	精度-RSD% (n=6)	25000 ng/mL (DF=10)	3.8%	1.9%	3.7%
		70000 ng/mL (DF=20)	3.0%	3.0%	3.7%
選択性	(n=3)	カルビドパ、レボドパ及びプラミペキソールとの共存下での測定への影響はない			
血漿中安定性	室温, 24 時間	3500 ng/mL	安定	安定	安定
		30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	安定	安定	安定
	-20°C, 3 ヶ月	30/60[a], 250/350[a], 3500 ng/mL	安定	安定	安定
	-20°C, 6 ヶ月	30/60[a], 250/350[a], 3500 ng/mL	安定	安定	安定
	凍結融解安定性(4 cycles)	3500 ng/mL	安定	安定	安定
		30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	安定	安定	安定
前処理後試料中安定性	4°C, 70 時間	30/60[a], 250/350[a], 3500 ng/mL	安定	安定	安定
標準原液中安定性	室温, 6 時間	1000 µg/ mL	安定	安定	安定
	4°C, 23 時間	1000 µg/ mL	安定	安定	安定
標準溶液中安定性	室温, 6 時間	100 µg/mL	安定	安定	安定
	室温, 6 時間	0.2 µg/mL / 0.4 µg/mL[a]	安定	安定	安定
	4°C, 83 日間	100 µg/mL	安定	安定	安定
	4°C, 67 日間	0.2 µg/mL	安定	安定	安定

a：NW-1689 では高い濃度を用いた
RSD%：相対標準偏差率

2.6.5.2.Y サフィナミド、NW-1153、NW-1689：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所：4.2.2.1-18
試験番号：0070/456 Addendum (DMPK-82-08)

試験番号/GLP 適用:	Addendum to 0070-456 (DMPK-82-08)/non-GLP
試験の種類：	ヘパリンリチウムを抗凝固剤として含有するサル血漿中のサフィナミド及びその代謝物（NW-1153 及び NW-1689）の検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	この方法では、自動化された除タンパク法を用いた。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted]、100×2.1 mm、1.7 µm カラムを用いて実施した。分析物は、[redacted] 質量分析器で検出した。

結果：0070-456 Addendum (DMPK-82-08)					
バリデーション項目			サル血漿		
			サフィナミド	NW-1153	NW-1689
直線性	定量範囲		10-5000 ng/mL	10-5000 ng/mL	20-5000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9960	≥0.9985	≥0.9941
	重み付け条件		1/x	1/x	$1/x^2$
分析単位間再現性	真度-Mean% (n=12)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	96.3% 100.0% 99.7%	97.4% 100.4% 101.3%	98.3% 96.6% 99.3%
	精度-RSD% (n=12)	3500 ng/mL 250 ng/mL / 350 ng/mL[a] 30 ng/mL / 60 ng/mL[a]	4.1% 5.5% 8.7%	7.5% 4.0% 5.8%	5.5% 10.0% 7.0%
長期保存安定性	-20°C, 3 ヶ月	30/60[a], 250/350[a], 3500 ng/mL	安定	安定	安定
	-20°C, 6 ヶ月	30/60[a], 250/350[a], 3500 ng/mL	安定	安定	安定
	-20°C, 12 ヶ月	30/60[a], 250/350[a], 3500 ng/mL	安定	安定	安定
	-20°C, 24 ヶ月	30/60[a], 250/350[a], 3500 ng/mL	安定	安定	安定
	-20°C, 31 ヶ月	30/60[a], 250/350[a], 3500 ng/mL	安定	安定	安定
a：NW-1689 では高い濃度を用いた。					

RSD%：相対標準偏差率

2.6.5.2.Z NW-1689、NW-1689AG：酸性化したサル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：NW-1689, NW-1689AG
CTD における記載箇所：4.2.2.1-19
試験番号：8224857 (DMPK-29-10)

試験番号/GLP 適用:	8224857 (DMPK-29-10)/non-GLP
試験の種類：	ヘパリンリチウムを抗凝固剤として含有する酸性化したサル血漿中の NW-1689 の検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	抽出工程中に、試料抽出液を 2 つに分注した。1 つ（A）は、酸性化前に NW-1689 について分析した。もう 1 つ（B）は、全ての NW-1689AG を NW-1689 に変換するため、水酸化ナトリウム処置及びインキュベートした後、NW-1689 について分析した。分析手順では、酸性化したサルの血漿（血漿：o-リン酸（水で 20%）、10：1、v/v）を対照マトリックスとして用いた。この方法では、自動化された除タンパク法を用いた。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted]、100×2.1 mm、1.7 µm カラムを用いて実施した。NW-1689（Batch No.[redacted]）は、[redacted] 質量分析器で検出した。

結果: 8224857 (DMPK-29-10)				
バリデーション項目			サル血漿	
			抽出液 A (変換前)	抽出液 B (変換後)
直線性	定量範囲		400-40000 ng/mL	400-40000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9991	≥0.9990
	重み付け条件		1/x	1/x
定量下限再現性	分析単位間真度-Mean% (n=12)		96.8%	96.8%
	分析単位間精度-RSD (n=12)		4.4%	6.5%
分析単位内再現性	真度-Mean% (n=3 batches)	32000 ng/mL	110-114%	102-107%
		20000 ng/mL	-	105-110%
		16000 ng/mL	107-110%	-
		10000 ng/mL	107-111%	-
		2400 ng/mL	-	103-104%
		1200 ng/mL	105-107%	-
		800 ng/mL	-	94.4-95.8%
		400 ng/mL	91.8-102%	-

RSD%：相対標準偏差率

分析単位内再現性	精度-RSD% (n=3 batches)	32000 ng/mL 20000 ng/mL 16000 ng/mL 10000 ng/mL 2400 ng/mL 1200 ng/mL 800 ng/mL 400 ng/mL	2.2-2.6% - 2.7-3.2% 2.9-3.7% - 2.6-4.0% - 2.9-5.6%	1.5-2.2% 1.8-3.3% - - 1.7-3.0% - 2.3-3.3% -
分析単位間再現性	真度-Mean% (n=18)	32000 ng/mL 20000 ng/mL 16000 ng/mL 10000 ng/mL 2400 ng/mL 1200 ng/mL 800 ng/mL 400 ng/mL	112% - 109% 110% - 106% - 96.3%	104% 107% - - 103% - 95.1% -
	精度-RSD% (n=18)	32000 ng/mL 20000 ng/mL 16000 ng/mL 10000 ng/mL 2400 ng/mL 1200 ng/mL 800 ng/mL 400 ng/mL	2.7% - 3.1% 3.4% - 3.4% - 6.3%	3.1% 3.3% - - 2.6% - 2.8% -
添加回収率	真度-Mean% (n=6)	16000 ng/mL 10000 ng/mL 1200 ng/mL 32000 ng/mL 20000 ng/mL 2400 ng/mL	97.4% 106% 104% - - -	- - - 90.9% 99.8% 101%
マトリックス効果	% modification (n=6)	10000 ng/mL 20000 ng/mL	-1.8-3.1% -	- -4.5-3.5%
希釈の妥当性	真度-RSD% (n=6)	100000 ng/mL (DF=10)	103%	-
	精度-RSD% (n=6)	100000 ng/mL (DF=10)	1.2%	-
	真度-RSD% (n=6)	200000 ng/mL (DF=10)	-	100%
	精度-RSD% (n=6)	200000 ng/mL (DF=10)	-	2.8%

酸性化血漿中安定性	室温, 6 時間	32000 ng/mL 1200 ng/mL	安定 安定	安定 安定
	凍結融解安定性(3 cycles)	32000 ng/mL 1200 ng/mL	安定 安定	安定 安定
	-20°C, 22 日間	32000 ng/mL 1200 ng/mL	安定 安定	安定 安定
	-20°C, 35 日間	32000 ng/mL 1200 ng/mL	安定 安定	安定 安定
無処理血漿中安定性	室温, 0.25 時間	16000 ng/mL	安定	安定
	室温, 1 時間	16000 ng/mL	安定	安定
	4°C(ice bath), 0.25 時間	16000 ng/mL	安定	安定
	4°C(ice bath), 1 時間	16000 ng/mL	安定	安定
全血中安定性	室温, 0.25 時間	16000 ng/mL	安定	安定
	室温, 0.5 時間	16000 ng/mL	安定	安定
	室温, 1 時間	16000 ng/mL	安定	安定
	4°C(ice bath), 0.25 時間	16000 ng/mL	安定	安定
	4°C(ice bath), 0.5 時間	16000 ng/mL	安定	安定
	4°C(ice bath), 1 時間	16000 ng/mL	安定	安定
NW-1689 標準原液中安定性	室温, 6 時間	4000 µg/mL	安定	-
	4°C, 13 日間	4000 µg/mL	安定	-
	4°C, 17 日間	4000 µg/mL	安定	-
NW-1689AG 標準原液中安定性	室温, 6 時間	6859 µg/mL	安定	安定
	-20°C, 12 日間	6859 µg/mL	-	安定
	-20°C, 16 日間	6859 µg/mL	安定	安定
	-20°C, 17 日間	6859 µg/mL	安定	安定
前処理後試料中安定性	4°C, 68 時間	All QC levels	安定	安定
-: not evaluated				

RSD%：相対標準偏差率

2.6.5.2.AA レボドパ、カルビドパ：ラット血漿を用いた HPLC 法のパーシャルバリデーション

被験物質：レボドパ, カルビドパ
CTD における記載箇所：4.2.2.1-20
試験番号：1004-071197 (SOI0043)

試験番号/GLP 適用:	1004-071197 (SOI0043)/GLP
試験の種類：	EDTA カリウムを抗凝固剤として用いたラット血漿中のレボドパ及びカルビドパの検出を目的とする HPLC 法のパーシャルバリデーション。
方法：	レボドパ及びカルビドパは、*N*-メチルドパミン（内部標準）を含有するラット EDTA 試料から、自動固相アルミナ抽出法により抽出した。試料は、EDTA 及び二亜硫酸ナトリウムを含有する Tris 緩衝液で、懸濁した酸化アルミニウム（AAO）と混合した。一連の洗浄サイクルの後、分析物を 2.5% ギ酸で AAO から溶出した。分析は、LC-18-DB ODS カラムとイオン対試薬入りリン酸緩衝移動相を用い、分析物を電気化学的検出による HPLC システムに注入した。

結果：1004-071197 (SOI0043)				
バリデーション項目			結果	
			カルビドパ	レボドパ
直線性	定量範囲		10-2000 ng/mL	10-2000 ng/mL
	決定係数(r^2)		≥0.9903	≥0.9963
	重み付け条件		$1/x^2$	$1/x^2$
定量下限再現性	分析単位内真度-%Bias (n=3 batches)		8.0-17.0%	12.0-16.0%
	分析単位内精度-CV% (n=3 batches)		3.4-8.9%	2.6-4.9%
	分析単位間真度-%Bias (n=18)		12.0%	14.0%
	分析単位間精度-CV% (n=18)		6.8%	3.8%
分析単位内再現性	真度-%Bias (n=3 batches)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	-6.3-1.9% -6.5-1.4% -4.7-1.3%	8.1-10.6% 6.3-9.5% 0.3-7.7%
	精度-CV% (n=3 batches)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	1.4-2.4% 0.9-4.3% 1.1-7.9%	0.7- 0.9% 1.2-2.5% 0.9-5.3%
分析単位間再現性	真度-%Bias (n=18)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	-1.3% -1.1%[a] -0.7%	9.4% 8.5%[a] 4.0%
	精度-CV% (n=18)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	4.1% 4.3%[a] 5.6%	1.1% 2.1%[a] 4.3%
マトリックス効果	真度-%Bias (n=6)	30.0 ng/mL	1.0%	2.3%
	精度-%CV (n=6)	30.0 ng/mL	11.4%	5.7%
血漿中安定性	室温, 77 時間	1600 ng/mL	安定	安定
		30.0 ng/mL	安定	安定
a: n=17				

2.6.5.2.BB レボドパ、カルビドパ：サル血漿を用いた HPLC 法のバリデーション

被験物質：レボドパ, カルビドパ
CTD における記載箇所：4.2.2.1-21
試験番号：1004-071198 (SOI0038)

試験番号/GLP 適用:	1004-071198 (SOI0038)/GLP
試験の種類：	EDTA カリウムを抗凝固剤として含有するサル血漿中のレボドパ及びカルビドパの検出を目的とする HPLC 法のパーシャルバリデーション。
方法：	抽出は、自動固相アルミナ抽出法により実施した。抽出物を、LC-18-DB ODS カラムとイオン対試薬入りリン酸緩衝移動相を用い、電気化学的検出による HPLC システムに注入した。

結果：1004-071198 (SOI0038)				
バリデーション項目			サル血漿	
			カルビドパ	レボドパ
直線性	定量範囲		10-2000 ng/mL	10-2000 ng/mL
	決定係数(r^2)		≥0.9903	≥0.9928
	重み付け条件		$1/x^2$	$1/x^2$
定量下限再現性	分析単位内真度-Bias% (n=3 batches)		5.0-20.0%	4.0-14.0%
	分析単位内精度-CV% (n=3 batches)		1.8-4.2%	2.3-8.8%
	分析単位間真度-Bias% (n=18)		11.0%	9.0%
	分析単位間精度-CV% (n=18)		6.4%	6.8%
分析単位内再現性	真度-Bias % (n=3 batches)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	-9.4- -3.1% -3.1-3.4% -15.0- -4.3%	-5.6- -1.9% 3.1-4.3% -8.3-4.3%
	精度-CV% (3 batches)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	2.5-4.5% 2.2-3.9% 4.9-5.7%	2.7-9.5% 2.2-3.2% 2.5-5.5%
分析単位間再現性	真度-Bias% (n=18)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	-6.3% 0.1% -11.3%[a]	-3.8% 3.5% -1.7%[a]
	精度-CV% (n=18)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	4.2% 4.1% 7.6%[a]	6.1% 2.6% 6.9%[a]
マトリックス効果	真度-Bias% (n=6)	30.0 ng/mL	-2.0%	-3.3%
	精度-CV% (n=6)	30.0 ng/mL	4.6	3.4
血漿中安定性	室温, 90 時間	1600 ng/mL 30.0 ng/mL	安定 安定	安定 安定
	-65°C, 107 日間	1600 ng/mL 30.0 ng/mL	安定 安定	安定 安定
a: n=17				

2.6.5.2.CC レボドパ、カルビドパ：ウサギ血漿を用いた HPLC 法のバリデーション

被験物質：レボドパ, カルビドパ
CTD における記載箇所：4.2.2.1-22
試験番号：1004-071199 (SOI0039)

試験番号/GLP 適用:	1004-071199 (SOI0039)/GLP
試験の種類：	EDTA カリウムを抗凝固剤として含有するウサギ血漿中のカルビドパ及びレボドパの検出を目的とする HPLC 法のバリデーション。
方法：	血漿からの抽出は、自動固相アルミナ抽出法により実施した。抽出物を、LC-18-DB ODS カラムとイオン対試薬入りリン酸緩衝移動相を用い、電気化学的検出による HPLC システムに注入した。

結果：1004-071199 (SOI0039)

バリデーション項目			ウサギ血漿	
			カルビドパ	レボドパ
直線性	定量範囲		10-2000 ng/mL	10-2000 ng/mL
	決定係数(r^2)		≥0.9904	≥0.9899
	重み付け条件		$1/x^2$	$1/x^2$
定量下限再現性	分析単位内真度-Bias% (n=3 batches)		-10.2- -1.1%	-12.5-1.0%
	分析単位内精度-CV% (n=3 batches)		6.8-8.4%	7.9-12.5%
	分析単位間真度-Bias % (n=18)		-6.3%	-6.8%
	分析単位間精度-CV% (n=18)		8.4%	11.9%
分析単位内再現性	真度-Bias % (n=3 batches)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	4.4-12.5% -2.3-8.0% -4.7- -3.7%	-1.3-10.6% -6.0-5.0% -8.3-2.0%
	精度-CV% (n=3 batches)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	0.8-2.1% 0.7-2.6% 3.3-5.0%	0.6-1.2% 0.6-1.7% 2.4-5.9%
分析単位間再現性	真度-Bias % (n=18)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	7.5% 2.4% -4.3%	6.9% 1.0% -4.7%
	精度-CV% (n=18)	1600 ng/mL 800 ng/mL 30.0 ng/mL	3.8% 4.6% 4.1%	5.6% 5.1% 6.7%
マトリックス効果	真度-Bias% (n=6)	30.0 ng/mL	8.7%	13.7%
	精度-CV% (n=6)	30.0 ng/mL	4.0%	6.5%

希釈の妥当性	真度-Bias% (n=6)	5000 ng/mL (DF=10)	10.2%	10.6%
	精度-CV% (n=6)	5000 ng/mL (DF=10)	1.5%	1.2%
血漿安定性	室温, 44 時間	1600 ng/mL	安定	安定
		30.0 ng/mL	安定	安定
	室温, 5 時間/24 時間 [a]	1600 ng/mL	安定	安定
		30.0 ng/mL	安定	安定
	-65°C, 116/113[b] 日間	1600 ng/mL	安定	安定
		30.0 ng/mL	安定	安定
	凍結融解安定性(3 cycles)	1600 ng/mL	安定	安定
		30.0 ng/mL	安定	安定
a：5 時間の保存期間はカルビドパのみ、24 時間の保存期間はレボドパのみ b：116 日間の保存期間はカルビドパのみ、113 日間の保存期間はレボドパのみ				

2.6.5.2.DD プラミペキソール、NW-1199：ラット血漿を用いた LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション

被験物質：プラミペキソール, NW-1199
CTD における記載箇所：4.2.2.1-23
試験番号：0070-470 (DMPK-81-08)

試験番号/GLP 適用:	0070470 (DMPK-81-08)/GLP
試験の種類：	ヘパリンを抗凝固剤として含有するラット血漿中のプラミペキソール及び NW-1199 の検出を目的とする LC-MS/MS 法のパーシャルバリデーション
方法：	この方法では、自動化された除タンパク法を用いた。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted]、[redacted]、200A、100×2.1 mm、3.5 カラムを用いて実施した。プラミペキソール（Batch [redacted]）及び NW-1199（Batch [redacted]）は、ターボイオンスプレーを用いた [redacted] 質量分析器で検出した。プラミペキソール（メチル-d3）ジヒドロクロリド（Batch [redacted]）を、内部標準として用いた。

結果：0070-470 (DMPK-81-08)

バリデーション項目			ラット血漿	
			プラミペキソール	NW-1199
直線性	定量範囲		1-1000 ng/mL	1-1000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9961	≥0.9958
	重み付け条件		$1/x^2$	$1/x^2$
定量下限再現性	分析単位内真度-Mean% (n=4 batches)		80.1-109.0%	93.4-100.0%
	分析単位内精度-RSD% (n=4 batches)		1.8-13.0%	3.6-24.0%
	分析単位間真度-Mean% (n=24)		98.5%	98.1%
	分析単位間精度-RSD% (n=24)		12.7%	14.2%
分析単位内再現性	真度-Mean% (n=4 batches)	700 ng/mL 30.0 ng/mL 3.00 ng/mL	97.3-99.1% 100.3-111.7% 98.7-112.7%	99.7-110.7% 101.7-103.7% 99.7-106.0%
	精度-RSD% (4 batches)	700 ng/mL 30.0 ng/mL 3.00 ng/mL	1.2-3.5% 1.5-8.2% 3.2-5.9%	1.4-7.5% 1.5-7.8% 3.5-9.9%
分析単位間再現性	真度-Mean% (n=24)	700 ng/mL 30.0 ng/mL 3.00 ng/mL	98.6% 107.3% 107.0%	102.9% 102.7% 102.3%
	精度-RSD% (n=24)	700 ng/mL 30.0 ng/mL 3.00 ng/mL	2.2% 5.9% 6.6%	6.1% 5.1% 7.2%

添加回収率	Mean% (n=6)	700 ng/mL 30.0 ng/mL 3.00 ng/mL	117.0% 128.5% 134.8%	76.3% 80.0% 82.6%
マトリックス効果	% modification (n=6)	30 ng/mL	-3.1-1.4%	-16.6- -9.5%
希釈の妥当性	真度-Mean% (n=6)	5000 ng/mL (DF=10)	103.4%	108.0%
	精度-RSD% (n=6)	5000 ng/mL (DF=10)	2.4%	7.9%
血漿中安定性	室温, 24h	3.00, 700 ng/mL	安定	安定
	-20°C, 3 ヶ月	3.00, 30.0, 700 ng/mL	安定	安定
	-20°C, 6 ヶ月	3.00, 30.0, 700 ng/mL	安定	安定
	-20°C, 10 ヶ月	3.00, 30.0, 700 ng/mL	安定	安定
	-20°C, 14 ヶ月	3.00, 30.0, 700 ng/mL	安定	a
	凍結融解安定性(3 cycles)	700 ng/mL 3.00 ng/mL	安定 安定	安定 安定
前処理後試料中の安定性	4°C, 66 時間	3.00, 30.0, 700 ng/mL	安定	安定
a：14 ヶ月間の保存後、許容範囲内であったのは低濃度の NW-1199（3 ng/mL）のみであった。				

RSD%：相対標準偏差率

2.6.5.2.EE プラミペキソール、NW-1199：サル血漿を用いた LC-MS/MS 法のバリデーション

被験物質：プラミペキソール, NW-1199
CTD における記載箇所：4.2.2.1-24
試験番号：0070-471 (DMPK-80-08)

試験番号/GLP 適用:	0070-471 (DMPK-80-08)/GLP
試験の種類：	ヘパリンリチウムを抗凝固剤として含有するサル血漿中のサフィナミド及びその代謝物（NW-1153、NW-1689）の検出を目的とする LC-MS/MS 法のバリデーション
方法：	この方法では、自動化された除タンパク法を用いた。クロマトグラフィーによる分離は、[redacted] 200A 100×2.1 mm 3.5 カラムを用いて実施した。分析物は、[redacted] [redacted] 質量分析器で検出した。

結果：0070/471 (DMPK80-08)				
バリデーション項目			プラミペキソール	NW-1199
直線性	定量範囲		1-1000 ng/mL	1-1000 ng/mL
	相関係数(r)		≥0.9975	≥0.9930
	重み付け条件		$1/x^2$	$1/x^2$
定量下限再現性	分析単位内真度-Mean% (n=3 batches)		91.4-99.8%	90.7-95.0%
	分析単位内精度-RSD% (n=3 batches)		5.8-15.2%	7.3-11.5%
	分析単位間真度-Mean% (n=17)		96.0%	92.4%
	分析単位間精度-RSD% (n=17)		10.3%	9.4%
分析単位内再現性	真度-Mean% (n=3 batches)	700 ng/mL 30 ng/mL 3 ng/mL	91.0-103.0% 99.0-109.3% 100.7-105.3%	94.0-105.7% 92.3-109.7% 98.7-104.0%
	精度-RSD% (n=3 batches)	700 ng/mL 30 ng/mL 3 ng/mL	2.0-11.5% 1.5-8.0% 1.6-6.5%	2.7-12.1% 1.6-6.5% 2.2-4.3%
分析単位間再現性	真度-Mean% (n=18)	700 ng/mL 30 ng/mL 3 ng/mL	96.3% 104.3% 103.3%	98.7% 101.0% 100.7%
分析単位間再現性	精度-RSD% (n=18)	700 ng/mL 30 ng/mL 3 ng/mL	8.1% 6.4% 4.4%	9.3% 8.3% 4.3%

RSD%：相対標準偏差率

添加回収率	Mean% (n=6)	700 ng/mL 30 ng/mL 3 ng/mL	155.6% 171.2% 176.3%	112.9% 112.8% 116.3%
マトリックス効果	% modification (n=6)	30 ng/mL	-2.9-1.5%	-16.0- -11.5%
希釈の妥当性	真度-Mean% (n=6)	5000 ng/mL (DF=10)	106.8%	108.0%
	精度-RSD% (n=6)	5000 ng/mL (DF=10)	2.5%	6.6%
血漿中安定性	室温, 24 時間	700 ng/mL 3 ng/mL	安定 安定	安定 安定
	-20°C, 9 ヶ月	All three concent ラット ions	安定	安定
	凍結融解安定性(3 cycles)	700 ng/mL 3 ng/mL	安定 安定	安定 安定
前処理後試料中安定性	4°C, 66 時間	All QC levels	安定	安定
標準原液中安定性	4°C, 16 日間	1000 µg/ mL	-	安定
	4°C, 25 日間	1000 µg/mL	安定	安定
	4°C, 28 日間	1000 µg/mL	-	安定
	室温, 6 時間	1000 µg/ mL	安定	安定
標準溶液中安定性	4°C, 26 日間	100000 ng/mL	安定	安定
	4°C, 16 日間	20000 ng/mL	-	安定
	4°C, 27 日間	20000 ng/mL	-	安定
	4°C, 27 日間	20 ng/mL	安定	-
	4°C, 16 日間	20 ng/mL	安定	-
	4°C, 26 日間	20 ng/mL	-	安定
	室温, 6 時間	20000 ng/mL	安定	安定
	室温, 6 時間	20 ng/mL	安定	安定

-：評価せず

RSD%：相対標準偏差率

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3.A サフィナミド：単回経口又は静脈内投与後のラットにおける薬物動態パラメータ

被験物質：サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-01
試験番号：METPK-190-96

試験番号/GLP 適用:	METPK-190-96/non-GLP	
被験物質:	サフィナミド（塩）	
種 / 系統:	ラット: Sprague Dawley	
溶媒/剤型:	水	
サンプル:	血漿	
分析法:	LC-MS-MS	
投与方法:	単回静脈内投与	単回経口投与
投与量:	5 mg/kg	10 mg/kg
動物数:	雄 3 匹	雄 3 匹
採血時点:	投与後 0, 2, 5, 10, 15, 20, 30 分, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 32 及び 48 時間	投与後 0, 5, 10, 20, 30 分, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 32 及び 48 時間
結果:		
サフィナミド薬物動態パラメータ		
C_{max} (ng/mL)	-	1650 ± 747
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	1785 ± 174	3283 ± 336
t_{max} (hr)	-	0.72 ± 0.39
$t_{1/2}$ (hr)	1.65 ± 0.44	1.28 ± 0.13
MRT (hr)	1.69 ± 0.56	1.96 ± 0.66
CL (mL/hr/kg)	2819 ± 266	-
CL_r (mL/hr/kg)	15.64 ± 10.63	13.55 ± 9.62
V_{ss} (mL/kg)	4844 ± 2018	-
F (%)	-	92
付帯情報：バイオアベイラビリティは AUC 平均値に基づく		

2.6.5.3.B サフィナミド：単回静脈内、腹腔内及び経口投与後のラットにおける薬物動態パラメータ

被験物質 ： サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-02
試験番号 : DMPK-09-08

試験番号 /GLP 適用	DMPK-09-08/non-GLP
試験の種類:	単回静脈内, 腹腔内及び経口投与後のラットにおける薬物動態パラメータ
種/系統	ラット/Wistar Hsd:Cpb:WU
摂餌条件	摂食
動物数	3 匹/性/投与経路
被験物質	サフィナミド
溶媒/剤型	生理食塩水
投与方法	単回静脈内, 経口及び腹腔内投与
投与量	静脈内投与;1 mg(塩)/kg, 経口及び腹腔内投与; 4 mg(塩)/kg
採血時点:	静脈内及び腹腔内投与;投与後 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4 及び 8 時間 経口投与;投与後 0.25, 0.5 1, 2, 4 及び 8 時間
サンプル:	血漿
測定対象:	サフィナミド, NW-1689, NW-1689AG
分析法:	LC-MS/MS

結果: DMPK-09-08

サフィナミド薬物動態パラメータ（平均値）

投与経路	Time:	性別	C_{max} (ng/mL)	C_{max} (μM)	t_{max} (h) median	$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (μM×hr)	AUC_{0-t} (μM×hr)	$t_{1/2}$ (h)	F (%)	V_{ss} (L/kg)	CL (L/hr/kg)
静脈内投与	Day 1	雄	-	-	-	269	264	0.890	0.873	1.3	-	3.35	2.82
		雌				447	436	1.48	1.44	1.7		2.94	1.71
腹腔内投与	Day 1	雄	704	2.33	0.1	536	532	1.77	1.76	1.5	50	-	-
		雌	890	2.94	0.1	1380	1360	4.56	4.50	1.6	77		
経口投与	Day 1	雄	236	0.781	0.25	500	465	1.65	1.54	2.0	43	-	-
		雌	288	0.953	0.25	1160	976	4.27	3.23	3.2	54		

結果: DMPK-09-08								
サフィナミド経口投与後の NW-1689 及び NW-1689AG 薬物動態パラメータ（平均値）								
投与経路	測定対象	Time:	性別	C_{max} (ng/mL)	C_{max} (μM)	t_{max} (h) median	$AUC_{0-\tau}$ (ng·hr/mL)	AUC_{0-t} (μM×hr)
経口投与	NW-1689	Day 1	雄	1650	6.70	8	10100	41.0
			雌	2470	10.0	8	10600	43.0
	NW-1689AG	Day 1	雄	24.0	0.0568	8	153	0.362
			雌	17.1	0.0405	8	85.0	0.202

2.6.5.3.C サフィナミド：単回静脈内及び経口投与後のサルにおける薬物動態パラメータ

被験物質 ： サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-03
試験番号 : METPK-193-96

試験番号 /GLP 適用:	METPK-193-96/non-GLP	
被験物質:	サフィナミド	
種/系統	サル/カニクイ	
動物数 / 性別	雄 3 匹	
溶媒/剤型:	水	
投与方法	単回静脈内投与	単回経口投与
投与量	5 mg/kg	10 mg/kg
サンプル:	血漿	
測定対象:	サフィナミド	
分析法:	LC-MS/MS	
結果:		
	薬物動態パラメータ	
C_{max} (ng/mL)	3846.8 ± 822.2	2869.6 ± 294.9
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	11535.6 ± 2395.4	18645.3 ± 5658.7
t_{max} (hr)	0.08	1.67 ± 0.58
$t_{1/2}$ (hr)	12.71 ± 2.05	10.93 ± 1.60
MRT (hr)	5.49 ± 0.91	7.62 ± 1.69
CL (mL/hr/kg)	444.9 ± 82.5	-
CL_r (mL/hr/kg)	22.82 ± 8.27	12.14 ± 6.59
V_{ss} (mL/kg)	2392.7 ± 91.4	-
F (%)	-	80
付帯情報：バイオアベイラビリティは、AUC_{po}/AUC_{iv} 比に基づいた		

2.6.5.3.D ^{14}C-サフィナミド：単回経口投与後のサルにおける薬物動態パラメーター

被験物質 ：^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-04
試験番号 ：NWR-08

試験番号 /GLP 適用:	NWR-08/GLP	
被験物質:	^{14}C-サフィナミド	
種/系統:	サル/カニクイ	
動物数/性別:	雄 3 匹	
摂餌条件:	摂食	
溶媒/剤型:	注射用蒸留水	
投与方法:	単回経口投与	
投与量:	10 mg/kg	
測定対象:	^{14}C-全放射能	^{14}C-サフィナミド
サンプル:	血漿	
分析法:	LSC	LC-MS/MS
結果:		
薬物動態パラメータ		
C_{max} (ng eq/mL) or (ng/mL)	14514.0[a]	3302.9
AUC_{0-t} (ng eq·h/mL) or (ng·h/mL)	219838[b, c]	16919[c]
$AUC_{0-\infty}$ (ng eq·h/mL) or (ng·h/mL)	233385[b]	17447
t_{max} (h)	1	1
$t_{1/2}$ (h)	91.5	5.1
a: ng eq/g b: AUC_{0-t} (ng eq·h/g) c: AUC_{0-168h}		

2.6.5.3.E ^{14}C-サフィナミド：サルにおける薬物動態パラメータ

被験物質 ： サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-01
試験番号 : DMPK-37-09

試験番号./GLP 適用:	DMPK-37-09/non-GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	サル/カニクイ
動物数:	雌 3 匹
摂餌条件:	絶食
投与量 / 投与方法:	13.2 mg(塩)/kg（サフィナミドとして 10 mg/kg） / 単回経口投与
溶媒:	水
サンプル:	血漿
測定対象:	サフィナミド, NW-1689, NW-1689AG
分析法:	LC-MS/MS

結果: DMPK37-09

Time: after administration (h)	サフィナミド(ng/mL)	NW-1689 (ng/mL)	NW-1689AG (ng/mL)
0.5	1060 ± 1190	577 ± 657	33.8 [a]
1	1380 ± 1100	1500 ± 1310	74.5 [a]
4	1840 ± 929	4190 ± 2840	188 ± 150
8	1740 ± 522	6040 ± 1700	164 ± 37.5
24	267 ± 176	2780 ± 447	49.1 ± 3.01
48	36.4 ± 28.6	584 ± 199	11.3 ± 1.95
72	9.92 ± 7.27	160 ± 58.2	nc
t_{max} (hr) median	4	8	5
C_{max} (ng/mL)	2510 ± 159 [b]	6040 ± 1700	250 ± 43.3
AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	28500 ± 4040	138000 ± 18900	3200 ± 439
$AUC_{0-\infty}$(ng·hr/mL)	28600 ± 4160	140000 ± 17900	3370 ± 437 [b]

（平均値± 標準偏差）
a：n = 2　　b：AUC_{0-48h}
nc：算出せず（個々の血漿濃度が定量下限以下）

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

2.6.5.4.A サフィナミド：8 日間投与を行ったラットにおける薬物動態パラメータ

被験物質: サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-06
試験番号 : DMPK-123-09

試験番号/GLP 適用:	DMPK-123-09/non-GLP
試験の種類:	サフィナミドを 8 日間投与したラットにおける薬物動態パラメータ
種/系統:	ラット/Sprague Dawley
動物数:	雄 4 匹/群
被験物質:	サフィナミド
媒体/剤型:	メチルセルロース
投与方法:	経口投与(経口ゾンデ), 反復投与
投与量:	30, 70, 200 mg/kg/day
採血時点:	投与後 0, 1, 2, 4, 6 and 24 時間
サンプル:	血漿
測定対象:	サフィナミド, NW-1153, NW-1689, NW-1689AG
分析法:	LC-MS/MS

結果: DMPK-123-09					
サフィナミド, NW-1153, NW-1689 及び NW-1689AG の薬物動態パラメータ（平均）					
投与量: (mg/kg/day)	測定対象	Time:	t_{max} [a] (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng h/mL)
30	サフィナミド	Day 1	1	776 ± 274	2770 ± 817
	NW-1153		1	117 ± 18.4	328 ± 142
	NW-1689		5 (2-24)	6710 ± 249	133000 ± 23900
	NW-1689+NW-1689AG (総 NW-1689)		6 (2-24)	6400 ± 307	128000 ± 22900
	サフィナミド	Day 8	1 (1-2)	1140 ± 344	5140 ± 1410
	NW-1153		1 (1-4)	170 ± 80.3	751 ± 299
	NW-1689		4 (4-6)	19900 ± 6900	371000 ± 126000
	NW-1689+NW-1689AG (総 NW-1689)		5 (2-6)	19300 ± 6960	366000 ± 128000
70	サフィナミド	Day 1	2 (1-6)	1720 ± 422	11300 ± 2450
	NW-1153		1.5 (1-6)	247 ± 69.9	1190 ± 418
	NW-1689		24 (6-24)	19600 ± 6080	414000 ± 123000
	NW-1689+NW-1689AG (総 NW-1689)		15 (6-24)	20000 ± 6810	417000 ± 124000
	サフィナミド	Day 8	1 (1-6)	2660 ± 242	22400 ± 1850
	NW-1153		1	416 ± 118	1930 ± 515
	NW-1689		5 (4-6)	51800 ± 19700	1060000 ± 478000
	NW-1689+NW-1689AG (総 NW-1689)		5 (4-6)	53300 ± 20400	1030000 ± 482000
200	サフィナミド	Day 1	2 (1-6)	5470 ± 1690	83200 ± 21500
	NW-1153		1.5 (1-24)	690 ± 231	11600 ± 4080
	NW-1689		24	59800 ± 18100	1010000 ± 377000
	NW-1689+NW-1689AG (総 NW-1689)		24	61700 ± 19600	1010000 ± 388000
	サフィナミド	Day 8	1.5 (1-4)	5030 ± 560	90200 ± 11500
	NW-1153		1 (1-24)	924 ± 233	17300 ± 5310
	NW-1689		2 (1-6)	138000 ± 22600	2840000 ± 390000
	NW-1689+NW-1689AG (総 NW-1689)		1 (1-6)	142000 ± 21700	3070000 ± 495000
付帯情報：NW-1689AG は、アシルグルクロニドのアルカリ加水分解後の「総 NW-1689」から、アルカリ加水分解前の NW-1689 を差し引いて測定した。					

a：中央値（括弧内は範囲）

2.6.5.4.B ^{14}C-サフィナミド：単回静脈内及び反復（7 日間）経口投与後のラットにおける薬物動態パラメータ

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所:4.2.2.2-07
試験番号 : 847960

試験番号/GLP 適用:	847960/GLP					
被験物質:	^{14}C-サフィナミド（塩）					
種/系統:	ラット/Crl:CD (SD)					
動物数:	12 匹/性/群（静脈内投与は雌雄、経口投与は雄のみ）					
摂餌条件:	摂食					
媒体:	生理食塩液					
採血時点:	投与後 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 及び 96 時間（静脈内投与）、投与後 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 及び 96 時間（経口投与）					
測定対象/分析法:	^{14}C 全放射能/LSC					
投与量: :	1 mg（塩）/kg				5 mg（塩）/kg	
投与方法	静脈内投与, 単回				経口投与, 7 日間反復	
性別:	雄	雄	雌	雌	雄	雄
サンプル:	全血	血漿	全血	血漿	全血	血漿
結果: 847960						
C_{max} (µg eq/mL)	0.653[a]	1.348[a]	0.781[a]	1.626[a]	2.324	3.868
AUC_{0-t} (µg eq·hr/mL)	7.8	11.9	12.4	20.0	43.0	71.2
$AUC_{0-\infty}$ (µg eq·hr/mL)	7.9	12.1	12.7	20.4	48.1	80.0
t_{max} (hr)	0	0	0	0	4.0	4.0
$t_{1/2}$ (hr)	8.2[b]	7.4[b]	12.0[b]	11.5[b]	21.0[c]	20.6[c]
MRT (hr)	15.4	14.5	22.2	21.8	35.0	35.6
CL (mL/hr/kg)	126.9	82.9	78.8	49.0	-	-
V_{ss} (L/kg)	1.5062	0.8893	1.3644	0.8149	-	-

a：外挿値 （値は n = 12 の平均値）
b：C_{6h} から C_{48h} までの値の外挿により算出
c：C_{8h} から C_{72h} までの値の外挿により算出

2.6.5.4.C サフィナミド：2 週間投与を行ったサルにおける薬物動態パラメータ

被験物質: サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-08
試験番号 : RF2310

試験番号/GLP 適用:	RF2310/GLP
被験物質:	サフィナミド
種/系統:	サル/カニクイ
動物数:	3 匹/性/群
採血時点:	投与後 0, 0.5, 1, 2, 4, 7, 12 及び 24 時間
摂餌条件:	絶食
媒体:	注射用蒸留水
投与量/投与方法:	10, 30, 50 mg(塩)/kg/day, 反復経口投与
サンプル:	血漿
測定対象:	サフィナミド, NW-1153, NW-1689, NW-1689AG (総 NW-1689 と NW-1689 の差より算出)
分析法 :	LC-MS/MS
定量下限:	サフィナミド：7.59 ng/mL, NW-1153：10 ng/mL, NW-1689：400 ng/mL, 総 NW-1689：400 ng/mL

結果: RF2310						
	サフィナミド: 第 1 日- 第 1 週					
投与量（mg 塩/kg/day）	10		30		50	
薬物動態パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (µg/mL)	1.26 ± 0.37	1.84 ± 0.83	9.23 ± 1.59	6.35 ± 1.68	9.60 ± 2.12	8.61 ± 2.10
t_{max} (hr)[a]	2 (0.5-4)	2 (1-2)	2	2 (1-2)	2 (2-4)	2 (1-2)
C_z (µg/mL)	0.09 ± 0.07	0.08 ± 0.07	0.78 ± 0.22	0.38 ± 0.13	0.98 ± 0.25	0.91 ± 0.45
t_z (hr)	24	24	24	24	24	24
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·hr/mL)	11.31 ± 5.99	12.79 ± 5.87	69.52 ± 6.22	47.30 ± 4.65	96.52 ± 13.99	80.04 ± 19.59
$AUC_{0\text{-}24h}$ norm (µg·hr/mL)	11	13	23	16	19	16
$AUC_{0\text{-}24h}$ ratio	1	1	6.1	3.7	8.5	6.3
雄/雌 $AUC_{0\text{-}24h}$ ratio	0.9	-	1.5	-	1.2	-
	サフィナミド: 第 14 日- 第 2 週					
薬物動態パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (µg/mL)	2.89 ± 0.22	2.38 ± 0.35	10.61 ± 2.49	8.52 ± 0.69	16.50 ± 1.71	13.43 ± 3.16
t_{max} (hr)[a]	1 (1-2)	1	2	2 (2-7)	2 (2-4)	2 (1-4)
C_z (µg/mL)	0.15 ± 0.06	0.13 ± 0.10	1.19 ± 0.26	0.73 ± 0.14	2.03 ± 0.58	1.56 ± 0.88
t_z (hr)	24	24	24	24	24	24
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·hr/mL)	20.71 ± 1.76	17.39 ± 7.11	111.95 ± 25.17	79.25 ± 8.55	175.12 ± 28.25	135.33 ± 41.19
$AUC_{0\text{-}24h}$ norm (µg·hr/mL)	21	17	37	26	35	27
$AUC_{0\text{-}24h}$ ratio	1	1	5.4	4.6	8.5	7.8
雄/雌 $AUC_{0\text{-}24h}$ ratio	1.2	-	1.4	-	1.3	-
	NW-1153: 第 1 日- 第 1 週					
投与量: (mg 塩/kg/day):	10		30		50	
薬物動態パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (µg/mL)	0.10 ± 0.03	0.15 ± 0.06	0.41 ± 0.10	0.41 ± 0.10	0.43 ± 0.01	0.39 ± 0.03
t_{max} (hr)[a]	2 (0.5-4)	1 (1-2)	2 (2-2)	2 (2-2)	2 (2-4)	2 (1-2)
C_z (µg/mL)	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.04 ± 0.01
t_z (hr)[a]	12 (7-12)	12 (7-24)	24	24	24	24
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·hr/mL)	0.80 ± 0.47	0.96 ± 0.45	3.57 ± 0.65	3.11 ± 0.27	4.77 ± 0.77	3.76 ± 0.34
$AUC_{0\text{-}24h}$ norm (µg·hr/mL)	0.80	0.96	1.19	1.04	0.95	0.75
$AUC_{0\text{-}24h}$ ratio	1	1	4.5	3.2	6.0	3.9
Males/females $AUC_{0\text{-}24h}$ ratio	0.8	-	1.1	-	1.3	-

a：中央値（範囲）

	NW-1153: 第 14 日- 第 2 週					
薬物動態パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (µg/mL)	0.18 ± 0.02	0.20 ± 0.07	0.52 ± 0.04	0.49 ± 0.11	0.73 ± 0.11	0.56 ± 0.04
t_{max} (hr)	1 (1-2)	1 (1-1)	2 (2-2)	2 (2-2)	2 (2-4)	2 (1-2)
C_z (µg/mL)	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.05 ±0.02	0.12 ± 0.05	0.09 ± 0.04
t_z (hr)	12 (12-24)	12 (12-24)	24	24	24	24
AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)	1.31 ± 0.28	1.21 ± 0.53	5.42 ± 0.36	4.46 ± 0.75	8.48 ± 1.65	6.42 ± 1.17
AUC_{0-24h} norm (µg·hr/mL)	1.31	1.21	1.81	1.49	1.70	1.28
AUC_{0-24h} ratio	1	1	4.1	3.7	6.5	5.3
Males/females AUC_{0-24h} ratio	1.1	-	1.4	-	1.3	-
	NW-1689 (加水分解前): 第 1 日- 第 1 週					
投与量: (mg 塩/kg/day):	10		30		50	
薬物動態パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (µg/mL)	3.18 ± 1.68	4.56 ± 2.02	13.13 ± 2.37	14.50 ± 2.01	16.67 ± 2.90	16.57 ± 3.73
t_{max} (hr)	4 (2-12)	2 (2-4)	4 (2-4)	4 (4-4)	12 (2-12)	4 (4-4)
C_z (µg/mL)	1.31 ± 0.54	1.53 ± 0.24	6.82 ± 1.19	6.33 ± 0.18	10.56 ± 3.92	8.83 ± 2.86
t_z (hr)	24 (12-24)	24 (12-24)	24	24	24	24
AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)	49.99 ± 29.89	62.31 ± 29.73	228.24 ± 54.46	238.63 ± 33.14	309.59 ± 80.03	309.8 3± 81.57
AUC_{0-24h} norm (µg·hr/mL)	50	62	76	80	62	62
AUC_{0-24h} ratio	1	1	4.6	3.8	6.2	5.0
Males/females AUC_{0-24h} ratio	0.8	-	1.0	-	1.0	-
	NW-1689 (加水分解前): 第 14 日- 第 2 週					
薬物動態パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (µg/mL)	5.71 ± 0.53	5.56 ± 1.82	22.77 ± 4.31	21.97 ± 1.17	32.17 ± 7.09	36.23 ± 9.90
t_{max} (hr)	4 (2-4)	2 (2-7)	7 (2-7)	7 (7-7)	7 (7-7)	4 (4-7)
C_z (µg/mL)	1.83 ± 0.42	1.50 ± 0.83	8.84 ± 3.56	8.55 ± 1.54	15.51 ± 7.29	15.01 ± 6.19
t_z (hr)	24	24	24	24	24	24
AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)	92.97 ± 15.50	86.93 ± 32.81	375.17 ± 99.88	376.42 ± 18.30	589.93 ± 180.51	608.93 ± 203.37
AUC_{0-24h} norm (µg·hr/mL)	93	87	125	125	118	122
AUC_{0-24h} ratio	1	1	4.0	4.3	6.3	7.0
Males/females AUC_{0-24h} ratio	1.1	-	1.0	-	1.0	-

	NW-1689AG: 第 1 日- 第 1 週					
投与量: (mg/kg/day):	10		30		50	
薬物動態パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (µg/mL)	0.39 ± 0.15	0.25 ± 0.07	0.69 ± 0.10	0.95 ± 0.22	0.80 ± 0.10	1.05 ± 0.13
t_{max} (hr)	1 (0.5-2)	4 (2-4)	7 (4-7)	7 (4-7)	7 (2-7)	7 (2-24)
C_z (µg/mL)	0.06 ± 0.04	0.06 ± 0.06	0.13 ± 0.08	0.24 ± 0.08	0.49 ± 0.22	0.74 ± 0.31
t_z (hr)	24 (12-24)	12	24	24 (7-24)	12 (7-24)	24 (12-24)
AUC_{24} (µg·h/mL)	2.32 ± 1.66	1.40 ± 0.46	5.54 ± 1.48	7.65 ± 3.39	5.91 ± 1.98	12.31 ± 4.48
雄/雌 AUC_{24} 比	1.7	-	0.7	-	0.5	-
	NW-1689AG: 第 14 日- 第 2 週					
薬物動態パラメータ	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (µg/mL)	0.46 ± 0.20	0.95 ± 0.39	2.03 ± 0.55	3.0 ± 1.40	3.53 ± 0.55	4.63 ± 1.88
t_{max} (hr)	4 (0-7)	2 (2-12)	4 (2-4)	7 (4-24)	2 (0.5-7)	7 (2-7)
C_z (µg/mL)	0.21 ± 0.08	0.51 ± 0.77	0.51 ± 0.29	0.88 ± 0.50	2.07 ± 1.55	0.88 ± 0.84
t_z (hr)	24 (7-24)	24 (12-24)	24 (12-24)	24	12 (12-24)	24
AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	4.44 ± 3.80	7.86 ± 5.91	15.32 ± 4.31	23.26 ± 7.08	35.03 ± 18.78	52.62 ± 25.42
雄/雌 AUC_{0-24h} 比	0.6	-	0.7	-	0.7	-
	AUC_{0-24h} 代謝物 / 親化合物比: 第 1 日- 第 1 週					
投与量: (mg/kg/day):	10		30		50	
測定対象	雄	雌	雄	雌	雄	雌
NW-1689	5.4	6.0	4.0	6.2	3.9	4.8
サフィナミド (対照)	1	1	1	1	1	1
NW-1689AG	0.23	0.14	0.10	0.20	0.07	0.19
NW-1153	0.07	0.07	0.05	0.07	0.05	0.05
	代謝物 / 親化合物比: 第 14 日- 第 2 週					
測定対象	雄	雌	雄	雌	雄	雌
NW-1689	5.5	6.1	4.1	5.8	4.1	5.5
サフィナミド (対照)	1	1	1	1	1	1
NW-1689AG	0.25	0.58	0.17	0.36	0.24	0.50
NW-1153	0.06	0.07	0.05	0.06	0.05	0.05

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.A ^{14}C-サフィナミド：マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト in vitro 血球移行性試験

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-03
試験番号 : DMPK-126-07

試験番号/GLP 適用:	DMPK-126-07/GLP										
試験方法:	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト血液を使用。各血液は 7% (v/v)リン酸緩衝液(70 mM, pH 7.4, 0.11 M グルコース)を添加し pH を調整した。結果は Ht 値で補正した。										
被験物質:	^{14}C-サフィナミド, ^{14}C-NW-1153, ^{14}C-NW-1689										
添加濃度:	サフィナミド: 2.5 及び 100 μM NW-1153: 0.5 及び 20 μM) NW-1689: 2.5 及び 100 μM										
分析法:	放射能濃度;LSC, 代謝物の安定性; ラジオ-HPLC										
インキュベーション時間:	5 分										
N 数:	各濃度につき 3 サンプル調製し、それぞれ 3 回ずつ測定										
結果: DMPK-126-07											
種(系統)	マウス (HsdWin:NMRI)		ラット (HsdCpb:WU)		ウサギ (ﾆｭｰｼﾞﾗﾝﾄﾞ白ｳｻｷﾞ)		イヌ (ビーグル)		サル (カニクイ)		ヒト	
濃度	低	高	低	高	低	高	低	高	低	高	低	高
サフィナミド												
$R_{BC/P}$[a]	1.8	1.9	1.2	1.2	1.3	1.3	0.9	1.0	0.5	0.6	0.4	0.5
max. uncertainty of $R_{BC/P}$	0.05	0.05	0.07	0.06	0.05	0.06	0.04	0.09	0.06	0.07	0.07	0.07
NW-1153												
$R_{BC/P}$[a]	2.2	2.3	1.0	1.1	1.1	1.1	0.9	0.9	0.7	0.7	0.6	0.6
max. uncertainty of $R_{BC/P}$	0.05	0.06	0.13	0.05	0.09	0.08	0.05	0.04	0.06	0.04	0.07	0.07
NW-1689												
$R_{BC/P}$[a]	0.05	0.07	0.05	0.07	0.03	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.05
max. uncertainty of $R_{BC/P}$	0.16	0.26	0.24	0.14	0.27	0.25	0.14	0.21	0.17	0.16	0.21	0.17
付帯情報：全ての動物種の全血において、インキュベーション時間中に被験物質の代謝は認められず、安定であった。 a：$R_{BC/P}$ は、血球及び血漿中で測定した放射能濃度の比として算出した												

2.6.5.5.B ^{14}C-サフィナミド：In vivo マウス血液中分布

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-02
試験番号 : DMPK-176-07

試験番号/GLP 適用:	DMPK-176-07/non-GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	マウス/Crl:CD-1 (ICR) BR
動物数:	4 匹/性
摂餌条件:	摂食
媒体:	水
投与量:	100 mg(塩)/kg
放射線量:	5 MBq/kg
投与方法:	単回経口投与
サンプル:	血漿, 尿, 糞
分析法:	ラジオ-HPLC, LSC, LC-MS, LC-MS/MS

結果: DMPK-176-07

性別	時間(h)	血漿(ng eq/g)	赤血球(ng eq/g)	比
雄	0.25	18900 ± 2854	22200 ± 5572	1.17
	1	22300 ± 4460	19900 ± 3065	0.892
	4	42500 ± 8373	20100 ± 2573	0.473
	8	43900 ± 6892	15000 ± 4275	0.342
	24	8230 ± 1802	1160 ± 545	0.141
	C_{max} (ng eq/g)	43900	22200	-
	t_{max} (h)	8	0.25	-
	AUC_{0-24h} (ng eq·h/g)	629000	235000	0.373
雌	0.25	23600 ± 3375	26600 ± 5799	1.13
	1	22100 ± 5680	16300 ± 2624	0.738
	4	41200 ± 9558	19300 ± 5308	0.468
	8	44200 ± 6807	14000 ± 3934	0.317
	24	2750 ± 1081	490 ± 138	0.178
	C_{max} (ng eq/g)	44200	26600	-
	t_{max} (h)	8	0.25	-
	AUC_{0-24h} (ng eq·h/g)	525000	203000	0.438

（平均値 ± 標準偏差）

2.6.5.5.C ^{14}C-サフィナミド：単回経口投与後のラットにおける定量的全身オートラジオグラフィー（quantitative whole-body autoradiography ; QWBA）による組織分布

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-04
試験番号 : R09360

試験番号/GLP 適用:	R09360/GLP
試験系:	定量的全身ラジオグラフィー(QWBA)
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	ラット/Crl: CD (SD)
動物数:	3 匹/性
摂餌条件:	絶食
媒体:	注射用蒸留水
投与方法:	単回経口投与
投与量:	10 mg(塩)/kg
サンプル:	全血, 血漿, 組織
サンプリング時点:	投与後 0.5, 4, 24 及び 168 時間

結果:R09360

時間:	性別	濃度(µg eq/mL)		濃度(µg eq/g)							
		血漿	全血	腎臓	肝臓	大脳	褐色脂肪	骨髄	大腸壁	白色脂肪	涙腺
0.5h	雄	8.00±1.76	5.78±0.81	28.01±16.00	22.84±10.90	7.64±3.76	9.45±5.21	6.37±2.79	4.59±2.40	3.81±2.14	17.73±14.09
	雌	7.10±2.45	5.32±2.02	37.07±19.18	27.43± 7.66	11.93±4.69	18.13±6.97	12.29±1.22	10.92±3.17	5.22±1.70	24.54± 5.65
	平均	7.55±1.97	5.55±1.40	29.89±14.63	25.14± 8.79	9.78±4.47	13.79±7.27	9.33±3.77	7.75±4.28	4.51±1.90	21.14±10.30
4h	雄	8.40±0.93	5.17±0.85	5.26± 1.11	7.84± 0.33	0.00±0.00	4.05±1.32	0.87±0.75	3.69±1.05	1.13±1.06	14.53± 4.48
	雌	7.71±2.09	4.40±1.52	10.64± 2.72	11.78± 1.53	3.58±0.88	12.45±3.39	3.14±0.89	11.60±3.39	2.47±0.38	20.03± 4.42
	平均	8.06±1.49	4.78±1.18	7.95± 3.48	9.71± 2.48	1.79±2.04	8.25±5.14	2.00±1.45	7.64±4.88	1.80±1.02	17.28± 4.99
24h	雄	0.27±0.02	0.16±0.02	0.28± 0.48	1.22± 0.29	0.00±0.00	4.96±4.26	6.25±4.74	4.46±3.02	6.25±3.24	13.29± 2.94
	雌	0.43±0.22	0.26±0.12	0.00± 0.00	1.31± 0.51	0.00±0.00	5.76±1.77	7.04±4.79	2.50±0.64	16.97±7.78	9.81± 3.98
	平均	0.33±0.14	0.20±0.08	0.14± 0.34	1.06± 0.63	0.00±0.00	5.36±2.95	6.65±4.28	3.48±2.23	11.61±7.93	11.55± 3.67
168h	雄	0.07±0.02	0.05±0.04	-	-	-	0.00±0.00	-	-	3.40±0.62	1.05± 0.33
	雌	0.10±0.05	0.06±0.33	-	-	-	2.12±0.47	2.69±2.29	-	6.68±2.50	1.61± 0.18
	平均	0.08±0.04	0.06±0.03	-	-	-	1.06±0.20	2.69±2.29	-	5.04±2.42	1.30± 0.40

-: not detectable

2.6.5.5.D ^{14}C-サフィナミド：単回静脈内投与後のラットにおける組織分布

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-07
試験番号 : 847960

試験番号/GLP 適用:	847960/GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	ラット/Crl: CD (SD)
動物数:	4 匹/性
摂餌条件:	摂食
媒体:	生理食塩液
投与方法:	単回静脈内投与
投与量:	1 mg/kg (123 µCi/mg)
サンプル:	血漿, 全血, 組織
測定対象:	^{14}C 全放射能
分析法:	LSC

結果: 847960

Time	性別	濃度(µg eq/mL)		濃度(µg eq/g)							
		血漿	全血	腎臓	肝臓	脳	脂肪	精巣上体	十二指腸	腸管	涙腺
168h	雄	0.005±0.004	0.003±0.002	0.012±0.002	0.021±0.004	0.002±0.000	0.685±0.272	0.253±0.085	0.006±0.002	0.054±0.015	0.009±0.004
	雌	0.022±0.008	0.012±0.004	0.021±0.005	0.045±0.015	0.002±0.000	0.459±0.104	-	0.012±0.005	0.073±0.017	0.025±0.006

2.6.5.5.E ^{14}C-サフィナミド：7 日間にわたり経口投与したラットにおける定量的全身オートラジオグラフィー（quantitative whole-body autoradiography；QWBA）による組織分布

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-07
試験番号 : 847960

試験番号/GLP 適用:		847960/GLP																
被験物質:		^{14}C-サフィナミド																
種/系統:		ラット/Crl: CD (SD)																
動物数:		3-4 匹/時点																
摂餌条件:		摂食																
媒体:		生理食塩液																
投与方法:		反復経口投与(7 日間)																
投与量:		5 mg/kg (10 µCi/mg)																
サンプル:		血漿, 全血, 組織																
測定対象:		^{14}C 全放射能																
分析方法:		LSC																
結果:847960																		
Time:	性別	濃度(µg eq/mL)		濃度(µg eq/g)														
		血漿	全血	腎臓	肝臓	脳	脂肪	精巣上体	十二指腸	腸管	涙腺	胃	尿道*	膀胱	胴体	皮膚	甲状腺*	前立腺*
最終投与後 1 時間	雄 3 匹	3.666 ±0.325	2.111 ±0.202	6.612 ±0.102	10.904 ±0.281	1.608 ±0.472	7.241 ±0.668	8.522 ±2.739	17.688 ±3.334	20.488 ±3.335	3.668 ±0.836	5.486 ±2.473	11.489 ±2.210	8.814 ±9.771	2.586 ±0.100	1.594 ±0.172	0.280 ±0.014	4.874 ±1.235
最終投与後 96 時間	雄 4 匹	0.258 ±0.174	0.140 ±0.089	0.227 ±0.139	0.704 ±0.274	0.012 ±0.005	14.687 ±10.513	5.977 ±3.374	0.302 ±0.114	1.297 ±0.606	0.442 ±0.326	0.279 ±0.147	10.113 ±12.439	0.370 ±0.205	1.533 ±0.908	2.705 ±1.655	0.056 ±0.039	0.640 ±0.236
*:臓器重量 100mg 当たりからの換算値																		

2.6.5.5.F ^{14}C-サフィナミド：単回経口又は静脈内投与後の有色ラットの眼及び一部組織からの消失

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-05
試験番号 : DMPK-17-08

試験番号/GLP 適用	DMPK-17-08/non-GLP
試験種:	組織分布
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	ラット/Lister Hooded (Hsd Ola:LH)
動物数:	雄 3 匹/投与経路/時点
摂餌条件:	摂食
媒体:	水
投与方法:	単回静脈内投与, 単回経口投与
投与量:	1 mg(塩)/kg
放射線量:	2 MBq/kg
サンプリング時点:	投与後 1, 8, 24, 72 及び 120 時間
サンプル:	血漿, 器官及び組織
分析法:	LSC

結果: DMPK-17-08

投与経路	血漿及び組織中総 ^{14}C-放射能濃度(平均, ng eq/g)													
	静脈内投与							経口投与						
器官/組織	1h	8h	24h	72h	120h	$t_{1/2}$ (24-120h) (h)	AUC_{0-120h} (ng eq h/g)	1h	8h	24h	72h	120h	$t_{1/2}$ (24-120h) (h)	AUC_{0-120h} (ng eq h/g)
血漿	643	354	95.7	51.0	24.3	48.6	12400	390	347	64.7	41.6	17.1	50.0	9290
肝臓	4720	873	244	103	45.5	39.6	37400	3580	1460	208	74.2	34.9	37.2	37400
腎臓	2060	258	56.9	26.1	18.3	58.7	12200	1210	441	46.8	21.5	12.8	51.3	11100
副腎	3180	727	151	85.8	90.3	129	28900	2330	1320	133	73.8	51.3	69.8	29700
皮膚														
a) 非有色部位	486	155	262	49.2	149	nc	16500	218	233	166	93.6	102	137	15600
b) 有色部位	925	562	523	353	188	65.0	479000	272	462	328	236	158	91.1	31700
眼	3220	2010	1210	557	432	64.6	109000	526	1080	591	329	209	64.0	53000
涙腺	3360	1060	1210	301	212	38.1	77400	896	995	1360	272	198	34.5	69500

Nc：算出せず

2.6.5.5.G ^{14}C-サフィナミド：有色ラットの眼における in vivo 代謝

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-06
試験番号:DMPK-122-08

試験番号/GLP 適用:	DMPK-122-08/non-GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	ラット/Lister Hooded, Hsd Ola:LH (有色)
動物数/性:	雄 3 匹
摂餌条件:	摂食
媒体:	水
投与量:	Day 1-4: 非標識体サフィナミド, 80 mg/kg/day(塩) Day 5: ^{14}C-サフィナミド, 80 mg/kg/day(塩)
投与方法:	経口投与
サンプル:	血漿, 眼, 涙腺
分析法:	ラジオ-HPLC, LC-MS/MS

結果: DMPK-122-08

サフィナミド及び代謝物の分布 (投与量に対する%)

サンプル	サンプリング時点 [a]	総放射能	サフィナミド	M370-2	NW-1199	NW-1689	NW-1689AG	NW-1153
血漿	8h	1.76	0.0986 (5.6)	0.1672 (9.5)	0.0176 (1.0)	1.3904 (79)	b	0.0986 (5.6)
眼	8h	0.113	0.1096 (97)	-	0.0035 (3.1)	-	-	-
涙腺	8h	0.201	0.1548 (77)	-	-	0.0342 (17)	-	0.0121 (6.0)

付帯情報：硝子体及び水晶体を除いた有色ラットの眼では、放射能がほぼ全てサフィナミド未変化体によるものであった。血漿中で主要代謝物である NW-1689 は、眼組織では認められなかった。

a：1 日 1 回 5 日間経口投与し、最終投与後 8 時間に採材。
b：NW-1689AG は、ラジオ-HPLC では検出されなかったが（総放射能の 1%未満）、化合物の存在は LC-MS/MS により実証された。
-：検出されず
( )：カッコ内は試料の総放射能に対する割合(%)を示す
M370-2：NW-1199 のグルクロン酸抱合体

2.6.5.5.H ^{14}C-サフィナミド：有色ラットの眼における in vivo 代謝

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-07
試験番号:DMPK-146-08

試験番号/GLP 適用:	DMPK-146-08/non-GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	ラット/Lister Hooded, Hsd Ola:LH (有色)
動物数:	雌 4 匹
摂餌条件:	摂食
媒体:	生理食塩液
投与量:	Day 1-13: 非標識体サフィナミド, 150 mg/kg(塩) Day 14 : ^{14}C-サフィナミド, 150 mg/kg(塩)
サンプリング時点:	投与後 0, 2, 4 及び 6 時間
投与方法:	経口投与
サンプル:	血漿, 眼
分析法:	ラジオ-HPLC, LC-MS/MS

結果: DMPK-146-08

サフィナミド及び代謝物の分布(投与量に対する%)

サンプル	サンプリング時点 [a]	総放射能	サフィナミド	M370-2	NW-1199	NW-1689	NW-1689AG	NW-1153	M318
血漿	6 h	1.43	0.139 (9.7)	0.190(7.6)	0.0172 (1.2)	0.958 (67)	0.127 (8.9)	0.0315 (2.2)	0.0257 (1.8)
眼	6 h	0.135	0.1350 (100)	-	-	-	-	-	-

付帯情報：サフィナミドはほとんどが代謝され、主に NW-1689 となった。しかし、有色ラットの眼（硝子体及び水晶体を除いた）では NW-1689 は認められず、ほぼサフィナミド未変化体しか認められなかった。

a：1 日 1 回 14 日間投与し、最終投与後 6 時間に採取。 －：検出されず。 ( )：カッコ内は試料の総放射能に対する割合（%）を示す。
M370-2：NW-1199 のグルクロン酸抱合体。
M318：*N*-オキシド又はモノヒドロキシサフィナミド。

2.6.5.5.I ^{14}C-サフィナミド、^{14}C-NW-1689：ラット血漿、眼及び脳における in vivo 代謝

被験物質: ^{14}C-サフィナミド, ^{14}C-NW-1689
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-08
試験番号:DMPK-176-08

試験番号/GLP 適用:	DMPK-176-08/non-GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド, ^{14}C-NW-1689
種/系統:	Group 1: Wistar ラット Hsd/Cpb:WU (アルビノ) Group 2: Wister ラット Crl:WI (Han) (アルビノ) Group 3: Lister Hooded ラット Crl:LIS (有色)
摂餌条件:	摂食
投与量及び動物数:	Group 1: ^{14}C-サフィナミド 150 mg/kg (塩)を単回経口投与, (アルビノラット雌 4 匹) Group 2: 非標識体サフィナミド 150 mg/kg(塩)を 13 日間経口投与後, 投与 14 日目に ^{14}C-サフィナミド 150 mg/kg(塩) を経口投与(アルビノラット雌 4 匹) Group 3: ^{14}C-NW-1689 5 及び 100 mg/kg を単回皮下投与(アルビノラット；雌 6 匹, 有色ラット；雌 6 匹)
媒体:	サフィナミド:生理食塩液 NW-1689: DMSO
放射線量:	5 MBq/kg
サンプル:	血漿, 眼(硝子体及び水晶体を除く), 脳
分析法:	LSC (総放射能), LC-MS/MS (未変化体), ラジオ-HPLC 及び LC-MS/MS (代謝物同定)

結果:DMPK-176-08

サフィナミド及び代謝物の分布(投与量に対する%)

サンプル	サンプリング時点	総放射能	サフィナミド	M370-2	NW-1689	NW-1689AG	NW-1153
血漿 (単回投与)	6 h[a]	3.27	trace	-	3.24 (99)	trace	trace
眼(単回投与)	6 h[a]	0.00705	0.00345 (49)	0.00052 (7.4)	0.00212 (30)	0.00044 (6.2)	0.00019 (2.7)
血漿 (14 日間/1 回/日)	6 h[b]	1.80	0.324 (18)	-	1.48 (82)	trace	trace
眼 (14 日間/1 回/日)	6 h[b]	0.00492	0.00350 (71)	-	0.00108 (22)	0.00016 (3.3)	-

付帯情報：単回及び反復投与後の代謝プロファイルは、かなり類似していた。サフィナミドは、ほとんどが NW-1689 に代謝された。アルビノラットの眼（硝子体及び水晶体を除く）では、単回及び反復投与後のいずれにおいても、サフィナミド未変化体と NW-1689 が主な放射性成分として特定された。サフィナミドを投与したアルビノラットの脳では、サフィナミド未変化体のみが認められた。NW-1689 を投与したアルビノ及び有色ラットの脳では、NW-1689 未変化体のみが認められた。

-：検出されず。
( )：カッコ内は試料の総放射能に対する割合(%)を示す。
a：単回経口投与後 6 時間に採材。
b：投与 14 日目の最終投与後 6 時間に採材。
trace：ラジオ-HPLC の LLOQ（総放射能の 1%）未満であったが、これらの化合物の存在は LC-MS/MS により実証された。
M370-2：NW-1199 のグルクロン酸抱合体。

被験物質 (投与経路)	投与量 (mg/kg/day)	系統	血漿		眼			脳		
			投与量に対する% (CV%)	濃度 (ng eq/g)	投与量に対する% (CV%)	濃度 (ng eq/g)	$C_{眼}/C_{血漿}$比	投与量に対する% (CV%)	濃度 (ng eq/g)	$C_{脳}/C_{血漿}$比
サフィナミド (経口投与)	150×1	Wistar (アルビノ)	3.27 (13.3)	106000	0.00705	38900	0.37	0.550	81100	0.77
	150×14		1.80 (43.6)	58800	0.00492	31800	0.54	0.576	85500	1.45
NW-1689 (皮下投与)	100×1	Wistar (アルビノ)	4.23 (9.59)	121000	0.00468	24500	0.20	0.0277	4023	0.033
	5×1		23.3 (1.14)	33300	0.0249	4390	0.13	0.0812	449	0.013
	100×1	Lister Hooded (有色)	2.71 (31.2)	77300	0.00189	8470	0.11	0.0140	1820	0.024
	5×1		14.8 (11.7)	21100	0.0150	3020	0.14	0.0638	368	0.017

2.6.5.5.J ^{14}C-サフィナミド：アルビノ及び有色ラットの眼における in vivo 代謝

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-09
試験番号:DMPK-48-08

試験番号/GLP 適用:	DMPK-48-08/non-GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統 – 動物数:	ラット/Lister Hooded (Hsd Ola:LH)(有色) – 雄 3 匹及び Wistar Hsd/Cpb:WU (アルビノ) – 雄 6 匹
摂餌条件:	摂食
媒体:	水
投与方法:	単回経口投与
投与量:	有色ラット: 10 mg/kg(塩), アルビノラット: 5 mg/kg(塩)
サンプル	血漿, 眼(硝子体, 水晶体を除く)
分析法:	ラジオ-HPLC, LC-MS/MS

結果:DMPK-48-08

サフィナミド及び代謝物の分布(投与量に対する割合%)

サンプル	サンプリング時点	総放射能	サフィナミド	M370-2	NW-1199	NW-1689	NW-1689AG	NW-1153
血漿(有色)	6 h	0.641	a)	0.0897 (14)	-	0.538 (84)	a)	a)
眼(有色)	6 h	0.0560	0.0510 (91)	-	0.0038 (6.7)	-	-	-
血漿(アルビノ)	6 h	3.30	a)	0.254 (7.7)	-	2.94 (89)	0.0429 (1.3)	a)
眼(アルビノ)	6 h	0.00259	0.00025 (9.7)	0.00049 (19)	-	0.00145 (56)	-	

付帯情報：有色及びアルビノラットの血漿における代謝プロファイルは、かなり類似していた。両系統において、サフィナミド未変化体は、相当程度 NW-1689 に代謝された。しかし、有色及びアルビノ（色素なし）ラットの硝子体及び水晶体を除いた眼では、質的及び量的に顕著な系統特異的な差異が認められた。有色素の眼では、代謝物はほとんど認められず、ほぼ全てサフィナミド未変化体であったが、無色素の眼では、主に代謝物、NW-1689 及び M370-2 が認められた。

－：検出されず　　( )：カッコ内は試料の総放射能に対する割合(%)を示す
a：放射性シグナルは、ラジオ-HPLC の定量下限（検体中総放射能の 1%）未満であったが、これらの成分の存在は LC-MS/MS により実証された。
M370-2：NW-1199 のグルクロン酸抱合体

2.6.5.5.K サフィナミド：単回投与後のマウス、ラット及びサルの血漿及び脳内濃度

被験物質: サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-01, 4.2.2.3-11, 4.2.2.3-12, 4.2.2.3-02, 4.2.2.3- 10
試験番号 : METPK-149-95, METPK-99-93, METPK-134-95, METPK-150-95, DMPK-23-11

試験番号(対応する別の報告書番号):	METPK-149-95 (9550334) 及び DMPK-23-11	METPK-99-93 (9550284) 及び DMPK-23-11	METPK-134-95 (9550335) 及び DMPK-23-11	METPK-150-95 (9550336) 及び DMPK-23-11
GLP 適用:	non-GLP	non-GLP	non-GLP	non-GLP
被験物質及び測定対象:	サフィナミド	サフィナミド	サフィナミド	サフィナミド
種/系統:	マウス/CD-1(ICR)BR	ラット/Crl:CD (SD)Br	サル/カニクイ	サル/カニクイ
動物数:	雄 3 匹/時点	雄 3 匹/時点	雌 1 匹/時点	雄 2 匹/投与量
摂餌条件:	絶食	絶食	絶食	絶食
媒体:	水	水	水	水
投与方法:	単回経口投与	単回経口投与	単回経口投与	単回経口投与
投与量(mg/kg):	7	10	5	50, 100
サプリング時点:	投与後 0, 0.25, 0.5, 1, 1.5 2, 3, 4, 6 及び 16 時間	投与後 10 及び 20 分, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24 及び 48 時間	投与後 0.5, 1, 2, 3, 4 及び 8 時間	投与後 2 時間
サンプル:	血漿, 脳	血漿, 脳	血漿, 脳	血漿, 脳
分析法:	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC

結果:

	AUC(0-t)/dose (ng h/mL)/(mg/kg)			C_2/dose (ng/mL)/(mg/kg)	
				50 mg/kg	100 ng/kg
血漿	219	129	751	151	113
脳	3450	2060	6620	738	834
脳/血漿	15.8	16.0	8.81	4.90	7.48

2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合

2.6.5.6.A ^{14}C-サフィナミド及び NW-1689：ヒト血漿への in vitro 蛋白結合

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-13
試験番号 : DMPK127-07

試験番号/GLP 適用:	DMPK127-07/non-GLP
試験材料：	生理的 pH を維持するため、70 mM リン酸緩衝液 pH 7.4 で事前に透析したヒト血漿。 70 mM リン酸緩衝液 pH 7.4 を用いた蛋白質溶液 : ヒト血清アルブミン（human serum albumin ; HSA）、α1-酸性糖蛋白質（α1-acid glycoprotein ; AAG）、超低密度リポ蛋白（very low density lipoprotein ; VLDL）、低密度リポ蛋白（low density lipoprotein ; LDL）及び高密度リポ蛋白（high density lipoprotein ; HDL）
試験タイトル:	^{14}C-サフィナミド及び代謝物 NW-1689 の in vitro ヒト血漿蛋白結合
被験物質:	^{14}C-サフィナミド及び NW-1689
測定及び分析方法:	平衡透析法 (透析時間 1 時間)にて実施。 ^{14}C-サフィナミドは LSC、NW-1689 は LC-MS/MS にて測定した。^{14}C-サフィナミドの安定性の確認はラジオ-HPLC にて実施した。
^{14}C-サフィナミド濃度:	1.3, 5 及び 50 μM (塩)
NW-1689 濃度:	2.0, 8.1 及び 81 μM
測定数:	各マトリックス、各濃度につき N=3

結果

サンプル(蛋白濃度)		ヒト血漿			HSA (39.9 mg/mL)			AAG (0.72 mg/mL)			VLDL (0.30 mg/mL)			LDL (1.47 mg/mL)			HDL (0.55 mg/mL)		
濃度		低	中	高	低	中	高	低	中	高	低	中	高	低	中	高	低	中	高
		サフィナミド																	
*f*b (%)	1	89	89	88	90	90	89	7	7	6	11	12	10	53	53	51	26	26	25
	2	89	89	88	89	89	89	9	7	6	11	11	9	52	53	52	27	27	25
	3	89	88	88	89	90	89	8	7	6	11	12	10	53	53	51	27	26	26
*Mean f*b (%)		89 ± 0			89 ± 0			7 ± 1			11 ± 1			52 ± 1			26 ± 1		
		NW-1689																	
*f*b (%)	1	nc	99.98	99.98	99.93	99.94	99.90	-	5.4	1.9	17	19	-	17	26	22	78	73	53
	2	nc	99.98	99.97	99.94	99.95	99.90	-	-	4.7	-	0	4.6	25	33	26	86	73	43
	3	nc	99.98	99.97	99.95	99.95	99.89	-	-	2.0	8.7	7.7	6.2	21	27	24	78	68	51
*Mean f*b (%)		100 ± 0			100 ± 0			4 ± 2			9 ± 7			25 ± 4			67 ± 15		

付帯情報：ヒト血清アルブミンは、ヒト血漿中におけるサフィナミド及び NW-1689 の非共有結合に関与する蛋白質である。平衡透析中に、サフィナミドの代謝又は分解は認められなかった。

nc：緩衝液側の濃度が定量下限以下であったため、算出できなかった。

2.6.5.6.B ^{14}C-サフィナミド、^{14}C-NW-1153、^{14}C-NW-1689：ウサギ、ミニブタ、イヌ及びサル血漿への in vitro 蛋白結合

被験物質: ^{14}C-サフィナミド, ^{14}C-NW-1153, ^{14}C-NW-1689
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-14
試験番号 : DMPK162-07

試験番号/GLP 適用:	DMPK162-07/GLP
測定方法：	ウサギ、ミニブタ、イヌ、サル（蛋白結合用）及びヒト（平衡時間の判定のみ）の血漿を、実験をとおして生理的 pH を維持するため、70 mM リン酸緩衝液 pH 7.4 で事前に透析した。データ評価では、平衡透析中に血漿を含有する細胞において認められる体積の増加（ドナン効果）も考慮した。
試験タイトル:	^{14}C-サフィナミド、^{14}C-NW-1153 及び NW-1689 のウサギ、ミニブタ、イヌ及びサルに対する in vitro 血漿蛋白結合
被験物質:	^{14}C-サフィナミド、^{14}C-NW-1153、NW-1689
透析時間:	^{14}C サフィナミド及び NW-1689: 1 時間 ^{14}C-NW-1153: 2 時間
^{14}C-サフィナミド濃度	1.3, 5.0 及び 50 µM (塩)
^{14}C-NW-1153 濃度	1.6, 6.6 及び 66 µM
NW-1689 濃度	2.0, 8.1 及び 81 µM
サンプル数	動物種毎、各濃度につき N=3
分析法(安定性):	ラジオ-HPLC
分析法:	^{14}C-サフィナミド: LSC ^{14}C-NW-1153: LSC NW-1689: LC-MS/MS

結果:DMPK162-07

種(系統)		ウサギ(ニュージーランド)			ミニブタ(ゲッチンゲン)			イヌ(ビーグル)			サル(カニクイ)		
濃度:		低	中	高	低	中	高	低	中	高	低	中	高
		サフィナミド											
fb (%)	1	83.0	83.3	82.8	82.1	82.1	81.3	81.0	81.4	81.3	84.4	85.3	83.7
	2	83.4	83.2	83.0	81.9	82.2	81.3	80.6	81.2	80.7	84.8	85.4	83.7
	3	83.5	83.8	83.0	82.2	82.4	81.6	80.8	81.2	80.8	85.0	85.3	83.9
Mean fb (%)		83 ± 0			82 ± 0			81 ± 0			85 ± 1		
		NW-1153											
fb (%)	1	70.9	71.4	71.0	65.9	65.0	63.9	58.1	59.2	58.1	62.4	62.0	61.0
	2	71.2	71.4	70.4	65.3	64.8	63.7	59.2	59.5	58.5	62.4	62.6	61.2
	3	71.1	71.2	70.9	65.2	64.4	63.7	58.1	59.4	58.7	62.8	62.4	60.6
Mean fb (%)		71 ± 0			65 ± 1			59 ± 1			62 ± 1		
		NW-1689											
fb (%)	1	nc	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2	nc	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	3	nc	100	欠損	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Mean fb (%)		100 ± 0			100 ± 0			100 ± 0			100 ± 0		

付帯情報：平衡透析中又は試料保存中に、サフィナミド、NW-1153 又は NW-1689 の代謝又は不安定性は認められなかった。
nc：緩衝液側の濃度が定量下限以下であったため、算出できなかった。

2.6.5.6.C NW-1689AG：サル及びヒト血漿への in vitro 蛋白結合

被験物質: NW-1689AG
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-15
試験番号 : DMPK20-11

試験番号/GLP 適用:	DMPK20-11/non-GLP									
試験材料:	サル及びヒト血漿（70 nM リン酸緩衝液で pH 7.4 に調整）									
試験タイトル:	NW-1689 1β-O-アシルグルクロン酸抱合体のヒト及びサルにおける in vitro 非共有結合の血漿蛋白結合									
被験物質:	NW-1689AG									
濃度:	0.5, 2 及び 20 μM (0.21, 0.84 及び 8.4 μg/mL)									
陽性対照:	^{14}C-テストステロン (1 μM)									
測定法:	限外濾過法									
分析法:	^{14}C-テストステロン: LSC NW-1689AG: LC-MS/MS									
サンプル調製数:	各濃度につき 3 サンプル									
測定数:	1/サンプル									
インキュベーション時間:	サル;10 分, ヒト;10 または 20 分									
結果:DMPK 20-11										
マトリックス		ヒト血漿						サル血漿		
インキュベーション時間		10 分			20 分			10 分		
		NW-1689AG								
濃度(μM)		0.5	2	20	0.5	2	20	0.5	2	20
fb (%)	1	-	97.52	97.40	97.50	97.66	97.52	93.92	93.44	93.66
	2	96.77	97.88	97.49	97.07	97.56	97.39	94.47	93.72	93.76
	3	96.83	97.88	97.48	97.41	97.56	97.33	93.88	93.15	93.59
Mean fb (%)		97.4 ± 0.4			97.4 ± 0.2			93.7 ± 0.4		
		^{14}C-テストステロン								
濃度(μM)		1			1			1		
fb (%)	1	97.3			97.2			96.0		
	2	97.3			97.2			96.0		
	3	-			-			96.0		
Mean fb (%)		97.3			97.2			96.0 ± 0.4		
付帯情報：^{14}C-テストステロンの結果は、試験施設の過去データの範囲内であったため、実験系の妥当性が確認された。サル及びヒトの血漿中の NW-1689AG の非結合率は、検討した濃度範囲内では濃度依存的ではなかった。このため、in vivo では、20 μM まで NW-1689AG の血漿蛋白結合が飽和するとは考えられなかった。										

2.6.5.6.D サフィナミド、NW-1153、NW-1689：マウス、ラット及びヒト血漿への in vitro 蛋白結合

被験物質: サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-16
試験番号 : NWR/12

試験番号./GLP 適用	NWR/12/GLP									
試験材料:	マウス, ラット及びヒト血漿									
試験タイトル:	サフィナミド、NW-1689 及び NW-1153 のマウス、ラット及びヒトにおける in vitro 血漿蛋白結合の種間比較									
被験物質:	サフィナミド, NW-1153, NW-1689									
濃度:	0.5, 2 及び 20 µg/mL									
試験法:	平衡透析法 (透析時間 3 時間)									
分析法:	LC-MS/MS									
測定数:	N=2									
結果:NWR/12										
種 (系統)		ラット (SD)			マウス (CD-1)			ヒト		
濃度(µg/mL)		0.5	2	20	0.5	2	20	0.5	2	20
	No.	サフィナミド								
fb (%)	1	90.8	88.1	90.0	90.1	87.3	87.8	94.6	91.2	91.7
	2	91.5	87.9	88.8	90.3	85.5	87.7	91.8	91.9	90.9
Mean fb (%)		89.4 ± 1.6			88.1 ± 1.8			92.0 ± 1.3		
		NW-1153								
fb (%)	1	77.2	82.1	73.1	71.1	75.4	71.6	Ss	71.0	72.4
	2	76.6	82.3	77.5	66.6	74.8	73.2	69.6	68.0	72.5
Mean fb (%)		78.1 ± 3.5			72.1 ± 3.2			70.7 ± 1.9		
		NW-1689								
fb (%)	1	99.0	99.5	99.4	Ns	97.7	Ss	>98.9	>99.7	99.8
	2	99.0	99.6	99.4	97.3	97.1	97.7	>98.8	>99.7	99.8
Mean fb (%)		99.5 ± 0.1			97.5 ± 0.3			99.8 ± 0.0		
付帯情報：蛋白結合の平衡には達しなかったが、3 時間で定常状態に近づいた。サフィナミド、NW-1153 及び NW-1689 について、蛋白結合に濃度依存性は認められなかった。 Ns : サンプルなし Ss : サンプル損壊										

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当する試験なし。

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

該当する試験なし。

2.6.5.9 薬物動態試験：in vivo における代謝

2.6.5.9.A ^{14}C-サフィナミド：マウスにおける in vivo 代謝

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-02
試験番号:DMPK-176-07

試験番号/GLP 適用:	DMPK-176-07/non-GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	マウス/Crl: CD-1 (ICR) BR
動物数:	4 匹/性
摂餌条件:	摂餌
媒体:	水
投与量:	100 mg/kg(塩)
放射線量:	5 MBq/kg
投与方法:	単回経口投与
サンプル:	血漿, 尿, 糞
分析法:	ラジオ-HPLC, LSC, LC-MS, LC-MS/MS

結果: DMPK-176-07

サフィナミド及び代謝物の分布 (血漿 ： 総放射能 AUC (AUC_{TR})に対する AUC_{0-8h} の割合（%）、尿及び糞 ： 投与放射能に対する割合（%）

サンプル	性別	サンプリング時点	総放射能；血漿は TR が 100%、尿糞は投与量が%	サフィナミド	M195	M370-1	M370-2	NW-1199	M494-2	M494-1	M303-2	NW-1689	NW-1689 AG	NW-1153	M353	未知代謝物
血漿	雄	0.25, 1, 4, 8, 24 h[a]	100 [288]	26 [76.2]	n.t.	16 [45.0]	2 [5.60]	n.a.	n.t.	3 [9.60]	n.t.	47 [134]	n.t.	5 [15.7]	n.t.	-
	雌	0.25, 1, 4, 8, 24 h[a]	100 [286]	23 [64.8]	n.t.	14 [41.0]	2 [5.07]	n.a.	n.t.	3 [7.24]	n.t.	52 [150]	n.t.	4 [10.1]	n.t.	-
尿	雄	0-72 h	64	n.d.	n.d.	20.6	22.7	3.54	2.42	2.30	2.33	n.t.	n.t.	7.33	1.52	1.23
	雌	0-72 h	71	0.31	n.d.	22.1	26.8	3.16	1.09	3.58	1.56	n.t.	1.33	5.78	3.18	2.32
糞	雄	0-72 h	35	3.30	27.3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.t.	n.t.	3.07	n.d.	0.85
	雌	0-72 h	28	2.95	21.8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.t.	n.d.	2.71	n.d.	0.30

付帯情報：薬剤投与後 24 時間以内に、投与量の 90%（雄）及び 93%（雌）が迅速に排泄される。

a：いくつかの濃度は 24 時において LLOQ 未満であったため、AUC は 0～8 時間のみを算出した。
n.a.：算出不可
n.t.：測定せず
n.d.：検出されず
[ ]：カッコ内の数値は、^{14}C-データに基づく AUC_{0-8h}（μg eq h/mL）を示す。
主要代謝物の内容
M303-2：NW-1689 のグリシン抱合体
M353：サフィナミドのタウリン抱合体
M-195：*O*-脱ベンジル化 NW-1153
M370-1、-2：NW-1199 のグルクロン酸抱合体
M494-1、-2：ヒドロキシサフィナミドのグルクロン酸抱合体

2.6.5.9.B ^{14}C-サフィナミド：ラット血漿、尿及び糞便中の代謝物のパターン

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-07
試験番号:847960

試験番号/GLP 適用:	847960/GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド（塩）
種/系統:	ラット/Crl:CD (SD)
摂餌条件:	摂餌
動物数:	1 サンプル当り 4 匹分をプールして供試
媒体:	生理食塩液
投与方法:	単回静脈内投与及び反復経口投与
投与量:	1 mg（塩）/kg 静脈内投与 (123 μCi/mg), 5mg（塩）/kg×7 日間反復経口投与 (10 μCi/mg)
サンプル:	血漿, 尿, 糞
測定対象:	^{14}C 全放射能
分析法:	LSC

結果: 847960

サフィナミド及び代謝物の分布 (血漿: 総放射能の AUC に対する割合(AUC_{TR})、尿・糞: 投与放射能に対する割合) (%)

投与経路 投与量	性別	サンプル	サンプリング時点	血漿中総放射能; 投与量に対する排泄率 %	サフィナミド (P2, U4 F3)	P1 U1 F1	U2 F2	P3 U3 F4	P4 U5 F5	U6 F6	U7 F7	U8 F8	U9 F9	U10 F10	F12
静脈内	雄	血漿	0-96 h	12[a]											
1 mg/kg		尿	0-48 h	68; 69[c]	-	-	1.0	0.7	-	1.3	0.8	0.6	3.8	60	
		糞	0-48 h	18; 19[c]	0.4	1.0	0.2	0.2	0.2	1.3	0.2	0.2	0.5	0.1	7.2
静脈内	雌	血漿	0-96 h	20[a]											
1 mg/kg		尿	0-48 h	70; 72[c]	0.49	0.7	0.8	1.8	0.6	-	1.1	0.7	2.2	62	
		糞	0-48 h	13; 15[c]	0.3	1.1	0.2	-	0.2	1.4	0.2	0.1	0.2	0.3	4.1
経口	雄	血漿	144-168 h	[80[a]; 44[b]]											
5 mg/kg		血漿	1 h	nd	5.7 [0.21][d]	69 [2.5][d]		13.2 [0.5][d]	9.3 [0.3][d]						
×		尿, 糞	0-240 h	64, 23											
7 日間		尿, 糞	144-168 h	63, 24											

付帯情報：^{14}C-サフィナミドを単回静脈内投与後の放射能の排泄は、尿中に約 70%、糞中に約 15～20% であった。
^{14}C-サフィナミドを反復経口投与後の放射能の排泄は、尿中に約 60%、糞中に約 20% であった。

[ ]：カッコ内の数値は、^{14}C-データに基づく AUC（μg eq h/mL）を示す　－：認められず　nd：測定せず
a：$AUC_{0-\infty}$　　b：AUC_{ss}（144～168 時間）　　c：累積排泄率（0～168 時間）　　d：μg eq/mL
P1～P4：血漿中代謝物（P2：サフィナミド）
U1～P10：尿中代謝物（U4：サフィナミド）
F1～P12：糞中代謝物（F3：サフィナミド）

2.6.5.9.C ^{14}C-サフィナミド：イヌにおける in vivo 代謝

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-16
試験番号:DMPK-175-08

試験番号./GLP 適用:	DMPK-175-08/non-GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	イヌ/ビーグル
動物数:	雌 3 匹
摂餌条件:	絶食
媒体:	水
投与量:	13.2 mg（塩）/kg、10 mg（サフィナミド）/kg
放射線量:	1 MBq/kg
投与方法:	単回経口投与
サンプリング時点:	血漿:投与後 0.25, 0.5, 1, 4, 8 及び 24 時間（1 匹のみ投与後 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 170, 264 及び 336 時間） 尿及び糞:投与後 96 時間（1 匹のみ投与後 168 時間）
サンプル:	血漿, 尿, 糞
分析法:	LCS, ラジオ-HPLC, LC-MS/MS

結果:DMPK-175-08

サフィナミド及び代謝物の分布(血漿:総放射能の AUC (AUC_{TR})に対する AUC_{0-24h} の割合, 尿及び糞: 投与放射能に対する割合)（%）

サンプル	サンプリング時点	血漿中総放射能; 投与量に対する排泄率 %	サフィナミド	NW-1689	NW-1689 AG	NW-1153	M438-1	M262-2	M262-1	M422-2	NW-1199	M370	M195	M318-1	M494-1	M494-4	M494-6
血漿 [a]	0.25, 0.5, 1, 4, 8 及び 24 h	100 [162]	9.9 [16]	49.9 [81]	16.7 [27]	3.8 [6]	4.8 [8]	2.1 [3]									
尿	0-96 h	36%	0.6	0.04	1.1	5.2	1.2	0.3	-	0.6	4.3	4.2	7.1	-	0.8	1.0	0.5
糞	0-96 h	34%	2.1	2.1	-	3.6	-	1.3	8.1	-	4.2	-	-	1.1	-	-	-

付帯情報：吸収はほぼ完全であった；サフィナミドはかなりの代謝を受け、14 種類の第 I 相及び第 II 相代謝物が特定された；投与後 96 時間の累積排泄率は 71.7%で、35.7%が尿中、34.4%が糞便中であった。ヒトで認められた代謝物は、いずれも雌のビーグル犬でも認められたが、NW-1689 のヒドロキシル化代謝物（M262-1 及び M262-2）及びそのグルクロン酸抱合体（M438-1）は、イヌのみで、ヒトでは認められなかった。

a : 総放射能の血漿中濃度は、被験物質であるサフィナミドの分子量（molecular weight ; MW）を考慮し、ng eq/mL で算出した。全ての代謝物の血漿中濃度は、nmol eq/mL で算出し、その後それぞれの代謝物の MW に基づき、ng eq/mL に変換したため、AUC/AUC_{TR} の割合の合計が 100%以下になっている。ここに示す全ての濃度は、サフィナミド遊離塩基の MW に基づいている。

[ ] : カッコ内の数値は、^{14}C-データに基づく AUC_{0-24h}（μg eq h/mL）を示す

主要代謝物の命名については、表 2.6.5.9.A を参照。

M370 : NW-1199 のグルクロン酸抱合体

M353 : NW-1153 のタウリン抱合体

M262-1、-2 : ヒドロキシル化 NW-1689

M318 : モノヒドロキシサフィナミド

M438-1 : ヒドロキシル化 NW-1689 のグルクロン酸抱合体

M195 : *O*-脱ベンジル化 NW-1153

M494-1、-4、-6 : モノヒドロキシサフィナミドのグルクロン酸抱合体

2.6.5.9.D ^{14}C-サフィナミド：サルにおける in vivo 代謝

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-01
試験番号:DMPK-37-09

試験番号/GLP 適用:	DMPK-37-09/non-GLP
被験物質/	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	サル/カニクイ
動物数:	雌 3 匹
摂餌条件:	絶食
投与量:	13.2 mg（塩）/kg 、10 mg（サフィナミド）/kg
放射線量:	1.5 MBq/kg
媒体	水
投与方法:	単回経口投与
サンプル:	血漿, 尿, 糞
分析法:	ラジオ-HPLC, LC-MS/MS

結果: DMPK-37-09

サフィナミド及び代謝物の分布(血漿: 総放射能の $AUC_{0\text{-}24h}$ (AUC_{TR})に対する%, 尿・糞: 投与放射能に対する%)

サンプル	サンプリング時点	血漿中 TR に対する%; 投与量に対する排泄率%	サフィナミド	NW-1689	NW-1689 AG	M398-1	M494-5	M370	M494-1	M398-2	NW-1153	NW-1199	M195	M303-2	M353
血漿 [a]	0.5, 1, 4, 8 及び 24 h	100 [181]	9.34 [16.9]	46.2[b] [83.7]		14.0 [25.4]	9.34 [16.9]	5.97 [10.8]	3.15 [5.70]	1.31 [2.37]	0.575 [1.04]	0.323 [0.585]	-	-	-
尿	0-96 h	72.3	1.2	-	10.3	2.2	2.8	15.5	5.3	-	4.8	11.4	4.8	0.9	0.4
糞	48-120 h	4.35	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	0.2	-	2.3	-	-

付帯情報：吸収はほぼ完全であった。
; サフィナミドは広く代謝され、12 種類の第 I 相及び第 II 相代謝物が特定された。
; 尿・糞中の総放射能を測定した結果では、投与後 120 時間に、累積総排泄率は 79%であり、そのうち 74%が尿中、5%（0～48 時間：0.5%）が糞中であった。
; ヒトで認められた代謝物は、いずれも雌のカニクイザルでも認められたが、モノヒドロキシサフィナミドの硫酸抱合体（M398-1、-2）及びグルクロン酸抱合体（M494-1、-5）及び NW-1199 のグルクロン酸抱合体（M370）は、サルのみで、ヒトでは認められなかった。

a : 総放射能の血漿中濃度は、被験物質であるサフィナミドの分子量（MW）を考慮し、ng eq/mL で算出した。全ての代謝物の血漿中濃度は、nmol eq/mL で算出し、その後それぞれの代謝物の MW に基づき、ng eq/mL に変換したため、AUC/AUC_{TR} の割合の合計が 100%以下になっている。ここに示す全ての代謝物の濃度は、サフィナミドに換算した値である。
b : NW-1689 と NW-1689AG（M422）は、クロマトグラフィーにより分離することはできなかった。このため、10 mg/kg の非標識サフィナミドを 3 例の別のカニクイザルに単回経口（強制）投与し、選択性の高い定量的 LC-MS-MA アッセイを用い、サフィナミド未変化体、NW-1689 及び NW-1689AG を正確に定量した。該当する血漿中濃度を、表 2.6.5.3.C に示す。
[ ] : カッコ内の数値は、^{14}C-データに基づく $AUC_{0\text{-}24h}$（μg eq h/mL）を示す　主要代謝物の命名については、表 2.6.5.9.A を参照。
M370 : NW-1199 のグルクロン酸抱合体
M353 : NW-1689 のタウリン抱合体
M398-1、-2 : モノヒドロキシサフィナミドの硫酸抱合体
M303-2 : NW-1689 のグリシン抱合体
M195 : *O*-脱ベンジル化 NW-1153
M494-1、-5 : モノヒドロキシサフィナミドのグルクロン酸抱合体

2.6.5.9.E NW-1153：ラットにおける in vivo 代謝

被験物質: NW-1153
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-05
試験番号:DMPK-121-09

試験番号/GLP 適用:	DMPK-121-09/non-GLP
被験物質:	NW-1153
試験の種類:	NW-1153 単回経口投与後の NW-1153 及び NW-1689 薬物動態パラメータ
種/系統:	ラット/Wistar Hsd/Cpb:WU（雄）, Wistar Crl:WI (Han)（雌）
動物数:	2 匹/性
摂餌条件:	摂食
投与量:	5 mg/kg
媒体:	HS15/エタノール/水 (10/10/80 v/v %)
投与経路:	単回経口投与
サンプリング時点:	投与後 2, 4 及び 8 時間
サンプル:	血漿
測定対象:	NW-1153, NW-1689
分析方法:	LC-MS/MS

結果:DMPK121-09

	薬物動態パラメータ(n=2, 平均)			
	NW-1153		NW-1689	
	雄	雌	雄	雌
t_{max} (hr)	2	2	6	5
C_{max} (ng/mL)	701	780	18100	18900
C_{max} (μM)	2.31	2.57	73.5	76.8
$AUC_{0\text{-}8h}$ (ng·hr/mL)	1850	1960	119000	122000
$AUC_{0\text{-}8h}$ (μM×hr)	6.11	6.47	483	495

付帯情報：ラットにおいて、経口投与した NW-1153 は、迅速に NW-1689 に変換された。

2.6.5.10 薬物動態試験：in vitro における代謝

2.6.5.10.A ^{14}C-サフィナミド：マウス、ラット、サル及びヒトにおける in vitro 代謝

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-03, 4.2.2.4-04
試験番号:NWR-03, NWR-05

試験番号/GLP 適用:	NWR-03 (代謝プロファイル) + NWR-05 (代謝物の同定)/両方とも QA あり
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
比放射能:	70 mCi/mmol
濃度:	NWR-03: 50 µM (塩)（肝細胞）
	NWR-05: 50 µM (塩)（肝細胞）、10 µM (塩)（MAO-A、MAO-B）
試験系：	NWR-03：CD-1 マウス、SD ラット、カニクイザル（雌）及びヒトから採取した肝細胞
	NWR-05：- 240 分間のインキュベーション（50 µM）、試験番号: NWR-03 による肝細胞試料
	- 120 分間のインキュベーション（10 µM）、遺伝子組換えヒト MAO-A 及び MAO-B
	- 120 分間のインキュベーション（10 µM）、プールしたヒトミクロソーム
分析法:	NWR-03:ラジオ-HPLC
	NWR-05: LC-MS/MS

結果:	試験番号 NWR-03					試験番号 NWR-05				
サフィナミド濃度 種/性別	肝細胞					プール肝ミクロソーム（1 mg/mL）			発現系ミクロソーム	
	4 h					2 h			2 h	
	50 µM					10 µM			10 µM	
	マウス/雄	ラット/雄	サル/雌	ヒト/男性		蛋白濃度 1 mg/mL			蛋白濃度 1 mg/mL	
	n=2	n=2	n=2	被験者 1, n=2	被験者 2, n=2	阻害剤なし	MAO A 阻害 [d]	MAO B 阻害 [e]	MAO-A	MAO-B
代謝速度 (nmol/h/10^6 cells)	7.27	10.5	15.6	3.83	4.60					
Met1 (%), 未同定 [a,c]	<LLOQ	3.94	1.52	<LLOQ	<LLOQ	-	-	-	-	-
Met2/3 (%),未同定 [b,c]	2.46	8.26	8.98	1.66	1.76	-	-	-	-	-
Met4 (%),未同定 [c]	nd	nd	3.23	nd	nd	-	-	-	-	-
NW-1689 Met5(%)[c]	4.26	23.49	8.01	5.73	8.44	x	-	-	-	-
NW-1153 Met6 (%)[c]	24.21	5.32	6.87	3.84	11.85	nd	-	-	-	-
サフィナミド, 残存率(%)[c]	61.10	46.71	58.51	82.94	72.15	x	x	x	x	x
Met7 (%), 未同定 [b, c]	nd	2.08	nd	<LLOQ	<LLOQ	-	-	-	-	-
MetX	Not tested					x (遅い)	nd	減少	x (遅い)	nd

付帯情報：Met1 はグルクロン酸抱合体、Met2/3 及び Met7 は硫酸抱合体であることが示された。まとめとして、サフィナミドの代謝は、in vitro のマウス、ラット、サル及びヒト肝細胞で同様であるとみられ、NW-1689 及び NW-1153 が主な代謝物であった。サル肝細胞では、その他の動物種では検出されなかった代謝物（Met4）が認められた。

a：グルクロン酸抱合代謝物である可能性が高い

b：硫酸化代謝物である可能性が高い

c：代謝物は、保持時間（逆相-クロマトグラフィー）の順に表示した

d：クロルジリン（1 mM）

e：パルジリン（1 mM）

< LLOQ：定量下限（総溶出物の 1%とみなす）未満

nd：検出されず　　na：入手できない　　x：生成／有　　-：<LLOQ

2.6.5.10.B ^{14}C-サフィナミド：新鮮ウサギ肝細胞における in vitro 代謝

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-05
試験番号: DMPK-165-07

試験番号/GLP 適用:	DMPK-165-07/GLP
試験材料:	雌性ニュージーランド白ウサギから調製した初代肝細胞
被験物質:	^{14}C-サフィナミド, 50 µM (塩)
比放射能:	4.70 MBq/mg (126.9 µCi/mg)
分析法:	ラジオ-HPLC, LC-MS/MS
インキュベーション:	37°C, 4 時間
結果: DMPK-165-07	
代謝物	総サンプル放射能に対する割合（%）
Met1 (%), 未同定	2.03
Met2 (%), (M194), NW-1199	6.13
Met3 (%), (M246), NW-1689	4.56
Met4 (%), (M422) NW-1689AG	1.42
Met5 (%), (M303-1), NW-1153	17.38
Met6 (%), 未同定	nd
Met7 (%), (M316)	1.64
サフィナミド (%)	59.92
Met8 (%), 未同定	1.01
付帯情報：代謝物は、保持時間の順に MET1～MET8 と表示した。	
nd：検出されず又は LLOQ（総放射能の 1%とみなす）未満	

2.6.5.10.C ^{14}C-サフィナミド：新鮮イヌ肝細胞における in vitro 代謝

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-06
試験番号: DMPK-54-08

試験番号/GLP 適用:	DMPK-54-08/GLP
試験材料:	雄性ビーグル犬より調製した初代肝細胞
被験物質:	^{14}C-サフィナミド, 50 µM (塩)
比放射能:	4.70 MBq/mg
分析法:	ラジオ-HPLC, LC-MS/MS (126.9 µCi/mg)
インキュベーション:	37°C, 4 時間
結果: DMPK-54-08	
代謝物	総サンプル放射能に対する割合（%）
Met1 (%), 未同定	3.5
Met2 (%), (M303-1) NW-1153	10.5
Met3 (%), 未同定	4.6
Met4 (%), 未同定	3.1
Met5 (%), (M316)	3.4
Met6 (%), (M318)	14.9
サフィナミド (%)	48.8

2.6.5.10.D ^{14}C-サフィナミド：ヒト初代肝細胞における固有クリアランス

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-07
試験番号: DMPK-30-08

試験番号/GLP 適用:	DMPK-30-08/non-GLP							
インキュベーション及びサンプリングした試験番号:	MS1120071 (DMPK163-07)							
試験種:	ヒト初代肝細胞を用いた ^{14}C-サフィナミドの代謝プロファイルと固有クリアランスの評価							
被験物質:	^{14}C-サフィナミド							
試験材料:	3 名のドナーから採取された培養初代ヒト肝細胞(0.3×10^6 cells/well)							
インキュベーション条件:	^{14}C-サフィナミド 1.2 及び 5.9 μM (塩); インキュベーション時間 0, 0.5, 1, 2, 4, 6 及び 24 時間							
分析方法：	経時的なサフィナミドの減少及び代謝物の生成をラジオ-HPLC により測定した。識別は LC/MS により実施し、保持時間の比較は標準物質を用いて実施した。							
評価：	肝細胞における in vitro 固有クリアランス（$CL_{int,hep}$）は、半減期から算出した。In vivo クリアランス（CL_H）は in vitro クリアランス（$CLu_{int,hep}$）を生理学的スケーリングパラメータ（単位重量当たりの肝細胞数、肝重量、体重、肝血流量、ヘマトクリット）で補正して算出した。							
濃度	1 μM (塩)			5 μM (塩)			mean ± S.D.	CV (%)
ドナー	D1	D2	D3	D1	D2	D3		
k_{el} (min^{-1})	0.00047	0.00107	0.00092	0.00056	0.00090	0.00077	0.00078 ± 0.00023	29%
$CL_{int,\ hep}$ (μL/min/10^6 cells)	0.79	1.8	1.5	0.93	1.5	1.3	1.3 ± 0.4	
$CLu_{int,\ hep}$ (μL/min/10^6 cells)	0.88	2.0	1.7	1.0	1.7	1.4	1.4 ± 0.4	
$CLu_{int,H}$ (L/h/kg)	0.13	0.29	0.25	0.15	0.25	0.21	0.21 ± 0.06	
CL_H (L/h/kg)	0.014	0.031	0.027	0.017	0.027	0.023	0.023 ± 0.007	
% of $Q_{H,B}$	0.93%	2.1%	1.8%	1.1%	1.7%	1.5%	1.5% ± 0.4%	
代謝物のプロファイル	NW-1153 は 2 時間以降、NW-1689AG（M422）は 4 時間以降、M422-1～3（NW-1689 のアシル基転移産物）は 6 または 24 時間のサンプルにおいて検出された。NW-1689 への経路における中間体と考えられる Met-A 又は Met-X は検出されなかった。また、サフィナミドの *N*-グルクロン酸抱合体は検出されなかった。							

k_{el}：消失速度定数
$CL_{int,hep}$：肝細胞における in vitro 固有クリアランス
$CLu_{int,hep}$：肝細胞の固有非結合型クリアランス
$CLu_{int,H}$：肝臓の見かけ上の固有クリアランス
CL_H：In vivo での肝クリアランス
$Q_{H,B}$：肝血流

2.6.5.10.E ^{14}C-サフィナミド：ヒト肝ミクロソームにおける in vitro CYP 表現型分類

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-08
試験番号: NWR-04

試験番号/GLP 適用:	NWR-04/GLP
試験種:	CYP 分子種
試験系:	個別ヒト肝ミクロソーム [n=15, CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4（ﾃﾞｷｽﾄﾛﾒﾄﾙﾌｧﾝ *N*-脱ﾒﾁﾙ化）, 3A4/5（ﾃｽﾄｽﾃﾛﾝ 6β-水酸化）, 4A11 の酵素活性既知] 及びプールヒト肝ミクロソーム (n=20); CYP-選択的阻害剤 (CYP1A2, 2B6, 2C19, 2D6, 3A4 に対する); Bactosomes™ (CYP1A2, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4)
被験物質/比放射能:	^{14}C-サフィナミド/49.4 mCi/mmol
分析法:	ラジオ-HPLC

相関関係解析 ： 個々のヒト肝ミクロソーム中の CYP 活性とサフィナミド代謝速度の間の相関
有意な相関 : CYP3A4/5 (r=0.9773, p=0.0000), CYP2B6 (r=0.8520, p=0.0001), CYP3A4 (r=0.8442, p=0.0001)[a]
相関なし ： CYP1A2, 2A6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 4A11 (r=0.0431 to 0.3004)

ヒト肝ミクロソーム ＋CYP 選択的阻害剤:

CYP1A2 (フラフィリン 10 μM):	0.0% 阻害
CYP2B6 (ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム 30 μM):	0.0% 阻害
CYP2C19 (トラニルシプロミン 30 μM)	3.3% 阻害
CYP2D6 (キニジン 5 μM)	0.0% 阻害
CYP3A4/5 (ケトコナゾール 2 μM):	93.7% 阻害

Bactosomes™:
検出された代謝: CYP1A2 (6.18%; 代謝物 5 種),
CYP2C19 (15.5%; 代謝物 1 種、Met-A と推定),
CYP2D6 (37.8%; 代謝物 7 種),
CYP3A4 (30.1%; 代謝物 9 種); ヒト肝ミクロソームと類似した代謝パターン

観測されなかった代謝: CYP2B6, 2C9, 2E1 (<1.6%)

付帯情報 : 初期実験により、至適なミクロソーム蛋白質濃度は 0.5 mg/mL、インキュベーション時間は 60 分、サフィナミド濃度は 10 μM であることが明らかになった。ヒト肝ミクロソーム（HLM）におけるサフィナミドの代謝は全般的に緩慢で、2 時間での変換割合は 15%未満であった。総合的に、HLM では最大 13 種類の代謝物が認められ、このうち 4 種類が主要代謝物と分類された。主要代謝物 1 種類及び微量の代謝物 3 種類の生成には NADPH が不要、つまり CYP450 が媒介していなかった。NW-1153 の生成は HLM では認められなかった。HLM におけるサフィナミドの NADPH 依存的代謝は CYP3A4/5 にるものと考えられた。

a：サフィナミド代謝速度の相関係数（r） ；3 種類の主要な NADPH 依存的代謝物の生成について、類似した相関が認められた。

2.6.5.10.F ^{14}C-サフィナミド：In vitro におけるヒト CYP 及び MOA 表現型分類

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-09
試験番号: NWR-14

試験番号/GLP 適用:	NWR-14/GLP
試験種:	CYP/MAO phenotyping
試験材料:	初代肝細胞(2 バッチ), CYP/MAO に対する選択的阻害剤, Bactosomes™ (CYP2C19)
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
比放射能:	50.8 mCi/mmol
分析法:	ラジオ-HPLC, LC-MS/MS

結果: NWR-14

試験系: / インキュベーション条件: / 代謝物 (%ROI)	ヒト肝細胞 batch 1, 37°C, 4 時間, 50 µM: コントロール	CYP3A4 阻害 [c]	MAO-A 阻害 [d]	MAO-B 阻害 [e]	ヒト肝細胞 batch 2, 37°C, 4 時間, 50 µM: コントロール	MAO-A 阻害 [d]	Bactosomes™ CYP2C19, 37°C, 1 時間, 50 µM (125 pmol CYP2C19/mL incubation)
サフィナミド *N*-グルクロニド(part of Met1)[a,b] 及び NW-1689 (part of Met1)[a,b]	11.53	10.43	4.31	7.89	22.34	8.13	minor
NW-1153 (Met2)[b]	13.01	14.38	11.13	12.45	9.64	6.16	nd
MetA[b]	nd	0.53	10.76	2.03	nd	4.60	major
サフィナミド, 残存 [b]	36.52	35.2	34.77	31.1	65.14	36.28	major
その他代謝物	38.94[a]	39.46[a]	39.03[a]	46.53[a]	2.88[a]	44.83[a]	minor

付帯情報：肝細胞においては、MAO-A は Met-A から NW-1689 の生成経路に関与していると考えられた。一方、サフィナミドから MetA への代謝には、CYP2C19 及び CYP3A4 等の CYP アイソザイムが関与していると考えられた。

a：分離されなかったが、LC-MS/MS により特定
b：代謝物は、保持時間（RP-クロマトグラフィー）の順に表示した
c：トロレアンドマイシン（100 µM）
d：クロルジリン（1 µM）
e：パルギリン（15 µM）、MAO-B に対する部分的阻害剤
nd：非検出（0.5%未満）

2.6.5.10.G ^{14}C-サフィナミド：NW-1689 生成に関与する代謝酵素の同定

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-10
試験番号: DMPK-123-07

試験番号/GLP 適用:	DMPK-123-07					
方法： 分析法：	^{14}C-サフィナミドを、ヒト肝ミクロソーム及びその他の複数の in vitro 試験系において 60 分間インキュベートし、サフィナミドの減少及び代謝物の生成を評価した。 ラジオ-HPLC					
試験系	タンパク濃度	サフィナミド (μM)	サフィナミド (% 残存率)	NW-1199 (% 生成率)	NW-1689 (% 生成率)	その他 [a] (% 生成率)
ヒト肝ミクロソーム	1, 3 及び 5 mg/mL	1, 5, 20	>99	<1	<1	<1
ヒト肝ミクロソーム	0.5, 1 及び 3 mg/mL	3	>99	<0.5	<2	≤1
ヒト肝ミクロソーム	0.5, 1 及び 3 mg/mL	10	>96	≤1.5	<3	<1.5
ヒト肝ミクロソーム	0.5, 1 及び 3 mg/mL	20	>94	<1	<4	<1.5
ヒト肝ミクロソーム	0.5 mg/mL	10	>94	<3	<4	-
ミトコンドリア画分	1,2 及び 5 mg/mL	10	>99	<1.5	≤0 [b]	-
サイトゾル画分	5mg/mL	10	>99	<1	0	0
脾臓 S9 画分	1 mg/mL	3	100	-	-	-
ヒト肺ミクロソーム	1 mg/mL	3	>95	<2	≤1	<2
ヒト小腸ミクロソーム	1 mg/mL	3	>93	<2	<2	<4
ヒト腎ミクロソーム	1 mg/mL	3	>95	<2	<2	<2
発現系 CYP3A4	50 pmol/mL	10	>86	3.1	0.4	<10; Met-A (1.8)
発現系 CYP3A5	50 pmol/mL	10	≥100	≤0 [b]	-	≤0
発現系 CYP2C19	50 pmol/mL	10	>95	≤0 [b]	0.7	> 4; Met-A (3.9)
発現系 CYP4F2	50 pmol/mL	10	≥99	0	-	<1
発現系 CYP2J2	3 mg/mL	10	>98	<1	-	<2; Met-A (1.5)
発現系 MAO-A	0.05 mg/mL	10	≥100	≤0 [b]	-	Met-X (0.9)
発現系 MAO-B	0.05 mg/mL	10	≥100	-	-	-
ヒト全血	100%	10	≥100	≤0 [b]	≤0 [b]	-
ヒト血漿	100%	10	>99	<1		-
人工胃液	100%	10	≥100	-	-	Met-X (0.3)
人工腸液	100%	10	≥100	<1	-	-
付帯情報：a：Met-A、Met-X 及びその他の代謝物への寄与（%）、b：コントロールサンプルと比較し、低値の場合						

方法: 分析法:	ヒト肝ミクロソーム (1 mg/mL)における、Met-A (10 µM)から NW-1689 及び Met-X への代謝生成に対する CYP 非特異的阻害剤 ABT 及び MAO-A 特異的阻害剤クロルジリンの影響を評価した。 インキュベーション時間：0, 5, 10, 15, 30 及び 60 分 Met-X 及び NW-1689 の生成を LC-MS/MS で測定した(LLOQ: 2.5 nM, ULOQ: 5000 nM)。						
		NW-1689 濃度 (nM)					
ヒト肝ミクロソーム +/- NADPH	阻害剤	0 min	5 min	10 min	15 min	30 min	60 min
+	-	8.20	648	1420	2060	3230	4410
-	-	5.66	309	831	1180	1820	2960
+	ABT	<LLOQ	110	238	326	631	864
-	ABT	<LLOQ	93.9	246	376	800	1190
+	クロルジリン	<LLOQ	18.8	29.8	37.0	57.4	104
-	クロルジリン	<LLOQ	34.9	58.2	80.6	181	348
		Met-X 濃度 (nM)					
ヒト肝ミクロソーム +/- NADPH	阻害剤	0 min	5 min	10 min	15 min	30 min	60 min
+	-	93.3	924	750	416	37.5	7.98
-	-	103	1410	2070	2580	1380	1080
+	ABT	11.9	58.8	134	113	153	101
-	ABT	12.5	176	184	372	550	714
+	クロルジリン	4.36	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
-	クロスジリン	5.39	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	2.68	2.96
方法: 分析法：	発現系 MAO-A 及び MAO-B における、Met-A (10 µM)から Met-X への代謝生成に対する、CYP 非特異的阻害剤 ABT 及び MAO-A 特異的阻害剤クロルジリンの影響を評価した。 インキュベーション時間：0, 5, 10, 15, 30 及び 60 分 Met-X の生成を LC-MS/MS で測定した(LLOQ: 2.5 nM, ULOQ: 5000 nM)。						
結果:		Met-X 濃度 (nM)					
	阻害剤	0 min	5 min	10 min	15 min	30 min	60 min
発現系 MAO-A	-	74.2	2060	2310	2710	3120	2950
発現系 MAO-A	ABT	19.8	300	748	980	1700	2780
発現系 MAO-A	クロルジリン	5.49	4.24	4.87	5.54	4.27	4.68
発現系 MAO-B	-	5.20	4.66	5.16	5.23	6.73	9.67
発現系 MAO-B	ABT	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	2.54
発現系 MAO-B	クロルジリン	5.13	4.63	4.77	5.13	7.58	8.08
コントロール	-	5.07	3.72	3.40	2.91	2.77	<LLOQ

2.6.5.10.H ^{14}C-サフィナミド：ヒト ALDH アイソザイムによる NW-1689 代謝への寄与

被験物質:サフィナミド、NW-1153、NW-1199、NW-1689、NW-1689AG、Met-X
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-11
試験番号: DMPK-125-07

試験番号:	DMPK-125-07
試験材料:	発現系 ALDH1A1, ALDH1B1, ALDH2, ALDH7A1
被験物質:	Met-X
試験系：	Met-X（0～1,000 μM）を各種発現系 ALDH 中においてインキュベーションし、ALDH による Met-X の酸化反応により生じる NADH の生成速度より V_{max} 及び Km を求めた。
測定方法:	25ºC, 340 nm での NADH の生成

結果:MPK125-07

ミカエリスメンテン定数	ALDH1A1	ALDH1B1	ALDH2	ALDH7A1
Km (μM)	17 ± 6	44 ± 15	6.3 ± 1.8	5.1 ± 1.2
V_{max} (nmol/min/mg)	90 ± 19	134 ± 20	157 ± 11	34 ± 1.8
V_{max}/Km (mL/min/mg)	5.29	3.05	24.9	6.67

試験材料: 被験物質: 測定方法:	組み換えヒト ALDH サフィナミド（50 μM）、NW-1153 (50 μM)、NW-1199 (50 μM)、NW-1689 (50 μM)、NW-1689AG (50 μM) 25ºC、340 nm での NADH の生成				
結果：	阻害効果				
ALDH 分子種	ALDH1A1	ALDH1B1	ALDH2	ALDH3A1	ALDH7A1
基質	ﾌﾟﾛﾋﾟｵﾝｱﾙﾃﾞﾋﾄﾞ (100 μM)	ｱｾﾄｱﾙﾃﾞﾋﾄﾞ (50 μM)	ｱｾﾄｱﾙﾃﾞﾋﾄﾞ (5 μM)	ﾍﾞﾝｽﾞｱﾙﾃﾞﾋﾄﾞ (200 μM)	ﾌﾟﾛﾋﾟｵﾝｱﾙﾃﾞﾋﾄﾞ (650 μM)
サフィナミド(50 μM)	なし	なし	なし	なし	なし
NW-1153 (50 μM)	なし	なし	なし	なし	なし
NW-1199 (50 μM)	なし	なし	なし	なし	なし
NW-1689 (50 μM)	なし	なし	なし	なし	なし
NW-1689AG (50 μM)	IC_{50}=35 μM	IC_{50}>200 μM	なし	なし	なし

被験物質: 濃度: 試験材料:	NW-1689AG 被験物質: 10, 25, 50, 100 μM 基質: 50, 100, 200 μM (プロピオンアルデヒド) 組み換えヒト ALDH1A1						
結果：	適合度及び NW-1689AG による阻害モデルの阻害キネティックパラメータ						
ランク	モデル式	R^2	AIC	V_{max} (nmol/min/mg)	K_m (μM)	K_i (μM)	IC_{50} (μM)
1	部分的不競合モデル	0.95	196.7	278 ± 22	121 ± 20	4.12 ± 0.88	8.3
2	部分的混合モデル	0.94	199.4	278 ± 23	121 ± 21	10991 ± 1.3×10^6	8.3
3	部分的非競合モデル	0.84	242.6	194 ± 14	47 ± 10	7.4 ± 2.4	10.9
4	完全不競合モデル	0.76	258.3	214 ± 26	79 ± 22	25.5 ± 4.6	45.4
5	完全混合モデル	0.75	260.9	213 ± 29	78 ± 26	4875 ± 2×10^5	44.9
6	完全非競合モデル	0.69	268.9	177 ± 17	47 ± 14	46 ± 7.6	67.7
7	部分的競合モデル	0.60	282.6	174 ± 23	40 ± 19	3.6 ± 2.0	101.7
8	完全競合モデル	0.52	288.6	160 ± 21	38 ± 19	12.4 ± 5.5	45.3
付帯情報：ヒト ALDH1A1 に対し、阻害の可能性があるのは NW-1689AG のみであると特定された。							
AIC：赤池情報量基準（Akaike’s information criterion）。							

2.6.5.10.I ^{14}C-サフィナミド：サフィナミドから NW-1153 及び NW-1153 から NW-1689 への代謝に関与する薬物代謝酵素の同定

Test items: ^{14}C-サフィナミド, ^{14}C-NW-1153
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-12
試験番号: DMPK-124-07

試験番号/GLP 適用:	DMPK-124-07
サフィナミドから NW-1153 への生成に関与する薬物代謝酵素系の同定	
試験系／(インキュベーション条件):	- ヒト初代肝細胞（37°C、4 時間） ± BNPP（1 mM）、PMSF（0.2 mM）、イブプロフェン（0.1 mM）、インドメタシン（0.1 mM） - ラット初代肝細胞（37°C、4 時間） ± BNPP（1 mM） - ヒト血漿（37°C、24 時間） ± BNPP（1 mM）、PMSF（0.2 mM） - ラット肝ミクロソーム（37°C、1.5 時間） - ヒト肝 S9 画分（37°C、1.5 時間） - ヒト発現系カルボキシルエステラーゼ hCE-1、hCE-2（30 及び 37°C、1.5 時間） - ヒト発現系脂肪酸アミドヒドロラーゼ FAAH（30 及び 37°C、1.5 時間）± URB597（0.1 μM）
被験物質：	^{14}C-サフィナミド：1～10 μM（塩）（比活性：44.6 mCi/mmol）
分析法:	ラジオ-HPLC, LC-MS-MS

結果: DMPK124-07

試験系/インキュベーション時間	総サンプル放射能に対する割合（%）					
	サフィナミド (残存率)	NW-1153	NW-1689	NW-1199	Met-A	Others
ヒト肝細胞/4 h (n=2)						
溶媒のみ	98.4/94.5[a]	-/-[a]	-/-[a]	1.6/5.5 [a]		-/-
ｺﾝﾄﾛｰﾙ 阻害剤無し	78.3/43.6[a]	16.6/40.7[a]	1.9/4.8[a]	2.7/5.1[a]		0.8/6.0
PMSF (0.2 mM)	94.1/83.3[a]	0.0/1.6 [a]	1.7/2.8[a]	3.4/9.0[a]		1.8/3.5
BNPP (1 mM)	95.7/81.6[a]	0.0/1.5[a]	0.0/4.7[a]	3.5/8.4[a]		1.7/3.9
ｺﾝﾄﾛｰﾙ 阻害剤無し	76.9	17.7	2.5	2.8		0.8
イブプロフェン (0.1 mM)	84.0	10.8	1.5	2.9		1.7
インドメタシン(0.1 mM)	84.8	9.4	1.6	3.5		1.7
ラット肝細胞/4 h (n=2):						
溶媒のみ	98.9/95.4	-/-	-/-	-/4.6		1.1/-
ｺﾝﾄﾛｰﾙ 阻害剤無し	-/24.6	2.1/1.4	21.0/24.6	11.8/39.8		65.4/ 10.4
BNPP (1 mM)	6.7/np[b]	-/np[b]	13.4/np[b]	64.8/np[b]		15.2/np[b]

ヒト血漿/24 h (n=2):						
溶媒のみ	94.5	-	-	5.5		-
ｺﾝﾄﾛｰﾙ 阻害剤無し	90.3	-	-	4.3		5.5
PMSF (0.2 mM)	89.5	-	-	4.9		5.7
BNPP (1 mM)	90.4	-	-	4.1		5.6
ラット肝ミクロソーム/1.5 h (n=2):						
溶媒のみ	97.2	-	-	2.8	-	-
ｺﾝﾄﾛｰﾙ ｺﾌｧｸﾀｰ無し	85.6	-	4.8	4.4	-	5.2
ｺﾝﾄﾛｰﾙ RLM ｺﾌｧｸﾀｰ無し	94.9/98.1	-/-	-/-	-/2.0	- / -	5.1/-
+ $NADPH_{reg}$/NADPH	4.0/5.3	3.1/1.9	10.1/14.9	72.8/60.1	2.4/3.9	10.5/14.1
ヒト肝 S9 画分/1.5 h (n=2):						
溶媒のみ	89.6	-	-	4.9		5.6
ｺﾝﾄﾛｰﾙ ｺﾌｧｸﾀｰ無し	88.8/90.9[c]	-/1.6[c]	1.7/1.5[c]	4.3/3.2[c]		5.2/2.8[c]
NADP	89.5/84.9[c]	-/-[c]	2.2/2.6[c]	3.3/4.9[c]		5.0/7.7[c]
NADH	89.9/88.0[c]	-/-[c]	-/2.9[c]	3.5/5.0[c]		6.7/4.2[c]
NADPH	90.4/85.6[c]	-/2.5[c]	2.9/3.3[c]	3.4/4.6[c]		3.4/4.0[c]
ヒトカルボキシルエステラーゼ/1.5 h (n=2):						
hCE-1	nc/nc[d]					
hCE-2	nc/nc[d]					
ヒト発現系 FAAH/1.5 h (n=2/3):						
溶媒のみ	100.0/98.7[e]	-/-[e]		-/1.4[e]		-/-[e]
ｺﾝﾄﾛｰﾙ (FAAH 無し,+URB597)	97.6/94.2[e]	-/-[e]		2.4/2.4[e]		-/3.4[e]
FAAH 阻害剤無し	94.8/93.0[e]	2.3/1.7[e]		3.0/1.8[e]		-/4.1[e]
FAAH+URB597 (阻害剤)	97.5/94.4[e]	-/-[e]		2.6/2.7[e]		-/3.0[e]

a：それぞれ 2 つの異なるバッチの平均値（n = 2）、 b：np = 実施せず（1 回の阻害実験のみ） c：EDTA 有 / EDTA 無（各 n = 1）
d：nc = サフィナミドの変化なし e：37°C 及び 30°C での 2 つの異なる実験の平均値（それぞれ n = 2 及び n = 3）。

NW-1153 から NW-1689 への生成に関与する薬物代謝酵素系の同定				
試験系／（インキュベーション条件）: 被験物質： 分析法:	- ヒト初代肝細胞、ラット初代肝細胞（37°C、4 時間） - ヒト肝ミクロソーム（37°C、1.5 時間） - 発現系 MAO-A、MAO-B、FMO-1、FMO-3、FMO-5（37°C、1.5 時間） - グルタチオンペルオキシダーゼ GS-Px（37°C、4 時間） - ミエロペルオキシダーゼ My-Px（37°C、4 時間） ^{14}C-NW -1153: 3 μM（塩）（比活性：50.56 mCi/mmol） ラジオ-HPLC, LC-MS-MS			
試験系/インキュベーション時間	総サンプル放射能に対する割合（%）			
	NW-1153 (残存率)	NW-1689	Met-A	その他
ヒト肝細胞/4 h (n=2): ラット肝細胞/4 h (n=2) ヒト肝ミクロソーム/1.5 h	83.0 35.2 代謝変化なし	4.8 60.7	- -	12.2 5.2
発現系ヒト代謝酵素/1.5 h (n=2):				
コントロール [a] MAO-A MAO-B FMO-1 FMO-3 FMO-5	94.8 92.2 91.4 89.8 90.2 83.4	- - - - - 1.8	 5.4	5.3 7.9 8.7 10.2 9.8 9.5
発現系 FMO-5 / 発現系 MAO-A/1.5 h (n=2):				
コントロール [b] MAO-A のみ FMO-5 のみ FMO-5 & MAO-A	91.6 93.1 83.5 78.4	- - 2.2 3.2	 1.8 -	8.5 6.9 13.4 18.5
ペルオキシダーゼ/4 h (n=2):				
コントロール グルタチオンペルオキシダーGS-Px コントロール ミエロペルオキシダーゼ My-Px	89.6 92.9 94.6 92.4	- - - -	- - - -	10.4 7.2 5.5 7.7
a：^{14}C-NW-1153 純度 93.8%　　b：^{14}C-NW-1153 純度 93.1% －：検出されず（0.5%未満）				

2.6.5.10.J NW-1689：NW-1689 のグルクロン酸抱合に関与する UGT（Uridine diphosphate glucuronosyltransferase）分子種の同定

被験物質: NW-1689
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-13
試験番号:.XT104133 (DMPK-145-10)

試験番号:	XT104133 (DMPK-145-10)
試験材料:	ヒト肝ミクロソーム（0.5 mg/mL）、発現系 UGTs（0.5 mg/mL）
被験物質濃度:	NW-1689/15～1500 μM（ヒト肝ミクロソーム）, 10 μM（発現系 UGTs）
分析法:	NW-1689AG の生成を LC-MS/MS を用いて測定

結果: XT04133

項目	結果											
ヒト肝ミクロソームにおける NW-1689 から NW-1689AG への代謝速度パラメータ	V_{max}（pmol/min/mg）						4350 ± 78					
	K_m（μM）						211 ± 10					
	V_{max}/K_m（μL/min/mg）						20.6					
発現系 UGTs における NW-1689 から NW-1689AG の生成に関与する分子種	UGT1A1	UGT1A3	UGT1A4	UGT1A6	UGT1A7	UGT1A8	UGT1A9	UGT1A10	UGT2B4	UGT2B7	UGT 2B15	UGT 2B17
	+	+	−	−	+	−	+	−	−	−	+	−

2.6.5.10.K ^{14}C-NW-1689AG の反応性評価

被験物質: ^{14}C-NW-1689、NW-1689AG
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-14
試験番号: DMPK-164-07

試験番号:	DMPK-164-07
試験の種類:	ヒト血清アルブミン(HSA)に対する NW-1689AG の共有結合及びリン酸緩衝液中の安定性試験
被験物質:	^{14}C-NW-1689 又は非標識 NW-1689AG
放射能濃度:	^{14}C-ジクロフェナク ; 7.06 MBq/mL, ^{14}C-イブロフェン ; 8.50 MBq/mL, ^{14}C-バルプロ酸 ; 8.06 MBq/mL, ^{14}C-NW-1689 ; 8.62 MBq/mL
インキュベーション条件:	共有結合試験：^{14}C-NW-1689 を UDPGA 存在下、ヒト肝ミクロソーム中で 4 時間インキュベーションした後に、ヒト血清アルブミン（0.5 mM）を添加し、更に 37℃で 4、24、48 時間インキュベートした。 グルクロン酸転移活性試験：リン酸緩衝液（100 mM, 37℃, pH 7.4）中において NW-1689AG（1β-*O*-アシルグルクロニド）を 0～120 時間インキュベートした。
分析法:	共有結合試験：液体シンチレーションカウンター、グルクロン酸転移活性試験：UV-HPLC

結果: 共有結合試験				
	ヒト血清アルブミンに対する共有結合率（%）			
インキュベーション時間	ジクロフェナク	イブプロフェン	NW-1689	バルプロ酸
4 h	2.3	0.57	0.21	0.09
24 h	3.7	nc[a]	0.34	nc[a]
48 h	3.0	0.59	0.31	0.47
a：外れ値と考えられたみられたため、結合率は算出しなかった。				

結果: グルクロン酸転移活性試験										
	リン酸緩衝液中における NW-1689AG のグルクロン酸転移活性評価									
	1β-*O*-AG*	グルクロン酸抱合体の異性体（全体の合計に対する%）						NW-1689	異性体の合計(%)	全体の合計(%)
インキュベーション時間	RT[a] 23.2 min	RT[a] 20.6 min	RT[a] 22.0 min	RT[a] 22.4 min	RT[a] 24.0 min	RT[a] 24.4 min	RT[a] 28.3 min	RT[a] 28.4 min		
0 h	99.2		0.42					0.35	0.42	100
2 h	77.2	0.2	0.20	1.4	2.8	17.6		0.57	22.2	100
4 h	58.7	1.1	0.19	2.2	8.9	28.1		0.87	40.5	100
6 h	46.3	2.5	0.19	2.5	14.5	32.9		1.2	52.6	100
24 h	5.8	21.7	0.22	2.3	35.9	30.7		3.4	90.8	100
30 h	3.7	25.0	0.24	2.1	36.5	28.4		4.0	92.3	100
48 h	2.0	28.3	0.25	1.9	36.1	25.6	0.30	5.5	92.5	100
120 h	1.7	27.2	0.22	1.8	34.4	21.6	0.29	12.8	85.5	100
*：NW-1689 1β-*O*-アシルグルクロニド（NW-1689AG） a：RT はカラム保持時間										

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

2.6.4 薬物動態試験の概要文　2.6.4.5 代謝の項に記載する。

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用の項に記載する。

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.A ^{14}C-サフィナミド：単回経口投与したマウスにおける排泄

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-02
試験番号: DMPK-76-07

試験番号/GLP 適用:	DMPK-176-07/non-GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	マウス/Crl:CD-1(ICR)BR
動物数:	雄 6 匹, 雌 5 匹
摂餌条件:	摂食
媒体:	滅菌水
投与方法:	単回経口投与
投与量:	100 mg(塩)/kg
サンプル:	尿, 糞
測定対象/分析法	ラジオ-HPLC, LSC, LC-MS, LC-MS/MS

結果 累積排泄率（投与放射能に対する%）

	時間	尿	糞	Total
雄	0-8 h	15.5 ± 5.98	ne	15.5 ± 5.98
	0-24 h	57.3 ± 9.12	32.7 ± 4.52	90.1 ± 6.12
	0-48 h	62.7 ± 8.86	34.5 ± 4.62	97.3 ± 5.45
	0-72 h	64.4 ± 8.55	35.1 ± 4.61	99.5 ± 5.12
雌	0-8 h	15.3 ± 9.34	ne	15.3 ± 9.34
	0-24 h	66.5 ± 5.93	26.3 ± 4.81	92.7 ± 1.91
	0-48 h	71.0 ± 5.54	27.7 ± 5.24	98.6 ± 0.50
	0-72 h	72.0 ± 5.22	28.0 ± 5.28	100 ± 0.44

ne: 排出されず

2.6.5.13.B ^{14}C-サフィナミド：単回静脈内及び反復経口投与後のラットにおける排泄

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.2-07
試験番号: 847960

試験番号/GLP 適用:	847960/GLP	847960/GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	ラット/Crl: CD (SD)	ラット/Crl: CD (SD)
動物数:	雄 4 匹 / 雌 4 匹	雄 4 匹
摂餌条件:	摂食	摂食
媒体:	生理食塩液	生理食塩液
投与方法:	単回静脈内投与	7 日間反復経口投与
投与量:	1 mg/kg	5 mg/kg
サンプル:	尿, 糞	尿, 糞
測定対象	^{14}C-全放射能	^{14}C-全放射能
分析方法	LSC	LSC

結果		累積排泄率(全投与放射能に対する%)									
		1 mg/kg 静脈内投与					5 mg/kg 7 日間経口投与				
性別	時間	尿	糞	Total	組織・器官・胴体	総回収率	尿 [a]	糞 [a]	Total[a]	組織・器官・胴体	総回収率
雄	0-8 h	49.50 ± 10.61	-	49.50 ± 10.61	-	-	35.85 ± 10.25	-	35.85 ± 10.25		
	0-24 h	66.41 ± 5.73	16.19 ± 1.85	82.60 ± 5.01	-	-	63.27 ± 8.07	23.52 ± 7.62	86.79 ± 1.53		
	0-48 h	68.05 ± 5.43	17.80 ± 2.00	85.85 ± 4.79	-	-	69.42 ± 7.58	27.55 ± 9.54	96.97 ± 3.66		
	0-72 h	68.56 ± 5.34	18.38 ± 2.06	86.94 ± 4.73	-	-	72.68 ± 8.12	29.51 ± 9.91	102.19 ± 4.31		
	0-96 h	68.84 ± 5.29	18.67 ± 2.09	87.51 ± 4.69	-	-	74.55 ± 8.22	30.94 ± 10.46	105.49 ± 5.13	5.50 ± 2.87	94.94 ± 1.30
	0-120 h	69.04 ± 5.19	18.93 ± 2.08	87.97 ± 4.65	-	-					
	0-144 h	69.22 ± 5.11	19.14 ± 2.10	88.35 ± 4.61	-	-					
	0-168 h	69.38 ± 5.08	19.32 ± 2.06	88.69 ± 4.60	7.08 ± 1.75	96.53 ± 3.78					
雌	0-8 h	47.56 ± 2.51	-	47.56 ± 2.51	-	-					
	0-24 h	67.87 ± 9.72	10.22 ± 6.72	78.09 ± 4.90	-	-					
	0-48 h	70.11 ± 10.47	13.47 ± 5.76	83.59 ± 5.81	-	-					
	0-72 h	70.75 ± 10.72	14.12 ± 5.77	84.86 ± 5.98	-	-					
	0-96 h	71.09 ± 10.72	14.46 ± 5.81	85.55 ± 5.88	-	-					
	0-120 h	71.35 ± 10.70	14.69 ± 5.86	86.04 ± 5.78	-	-					
	0-144 h	71.60 ± 10.71	14.97 ± 5.96	86.57 ± 5.72	-	-					
	0-168 h	71.86 ± 10.71	15.27 ± 6.09	87.13 ± 5.70	7.35 ± 0.75	96.31 ± 3.80					

a：最終投与時に投与した放射能に占める割合（%）

2.6.5.13.C ^{14}C-サフィナミド：単回経口投与した雄ラットにおける排泄

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.4-15
試験番号: NWR-09

試験番号	NWR-09
被験物質	^{14}C-サフィナミド
種/系統	ラット/Crl: SD
動物数	雄 3 匹
摂餌条件	摂食
媒体	滅菌水
投与方法:	単回経口投与
投与量	10 mg/kg
サンプル:	血漿, 尿, 糞, 脳
分析対象:	^{14}C-全放射能
定量法:	LSC

結果: NWR-09			サフィナミド及び代謝物の分布									
試料	採取時点	血漿中総放射能;投与量に対する% *	サフィナミド	NW-1689 NW-1717[b] (PMetA[c] UMetA, Fx7)	NW-1199 (UMet1A, Fx4)	NW-1153 (UMetB)	p-ヒドロキシ-安息香酸	NW-1689AG	NW-1689 グリシン抱合体	NW-1199 硫酸抱合体	モノヒドロキシサフィナミド	NW-1153 タウリン抱合体
血漿	1.5, 4, 24 及び 72 h	100 [150]	微	54 [81]	微	-	-	微	-	-	-	-
尿	0-72 h	53	0.7	3.1	3.7	8.9	微	微	微	微	微	-
糞	0-72 h	34[a]	0.4	0.3	23	<1	-	-	-	微	<1	<1
試料	採取時点		サフィナミド	NW-1689 NW-1717[b] (PMetA[c] UMetA, Fx7)	未同定	未抽出						
脳	1.5 h		48	-	34	17						

付帯情報：ラットへの単回経口投与後、^{14}C-サフィナミドはほとんどが代謝された。このため、^{14}C-サフィナミド未変化体は、ラット血漿中においてわずかに認められたのみであった。主な循環血中の放射性代謝物は、NW-1689 であった。未変化薬物は、尿及び糞便中で微量に認められたのみであり、サフィナミドはほぼ代謝のみにより身体から除去されることが示された。

*：血漿; % of 全放射能の $AUC_{0\text{-}72\ h}$ (AUC_{TR})、尿及び糞;投与放射能量に対する%

a：糞便抽出液における放射性成分の割合に基づく

b：クロマトグラフィーにより分離することはできなかった

c：NW-1689 のみ

[ ]：カッコ内の数値は、^{14}C-データに基づく $AUC_{0\text{-}72\ h}$（μg eq h/mL）を示す　－：認められず

PMet：血漿中代謝物　　UMet：尿中代謝物。

主要代謝物の命名については、表 2.6.5.9.A を参照。

2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄

2.6.5.14.A ^{14}C-サフィナミド：ラットに単回投与したときのマスバランス試験

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.3-04
試験番号:R09360

試験番号/GLP 適用:	R09360/GLP
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
種/系統:	ラット/Crl: CD (SD)
動物数:	雌雄各 3 匹
摂餌条件:	絶食
媒体:	注射用蒸留水
投与方法:	単回経口投与
投与量:	10 mg(塩)/kg
測定サンプル:	尿，糞，ケージ洗浄液, CO_2，胆汁
分析法:	LSC

結果: R09360

(総投与量に対する%)

時間	性別	尿	糞	ケージ洗浄液	CO_2	各時点排泄率	累積排泄率	胆汁 [a]
0-1 h	雄	-	-	-	-	-	-	0.36 ± 0.55
	雌							0.25 ± 0.25
0-2 h	雄	-	-	-	-	-	-	0.84 ± 1.24
	雌							1.77 ± 1.39
0-4 h	雄	-	-	-	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.77 ± 2.70
	雌				0.01 ± 0.02	0.01 ± 0.02	0.01 ± 0.02	5.18 ± 3.94
0-6 h	雄	-	-	-	-	-	-	3.09 ± 4.33
	雌							6.43 ± 4.44
0-8 h	雄	38.82 ± 3.00	-	-	0.00 ± 0.00	38.82 ± 3.00	38.82 ± 3.00	-
	雌	38.77 ± 4.94			0.01 ± 0.02	38.77 ± 4.94	38.78 ± 4.96	
0-24 h	雄	57.55 ± 7.78	16.78 ± 9.90	1.32 ± 0.63	0.00 ± 0.00	36.84 ± 4.47	75.65 ± 4.88	11.54 ± 5.85
	雌	57.94 ± 4.05	14.72 ± 4.92	6.08 ± 1.53	0.02 ± 0.03	39.98 ± 5.40	78.76 ± 8.20	12.05 ± 8.80
0-48 h	雄	59.74 ± 6.51	19.00 ± 10.26	1.58 ± 0.76	-	4.66 ± 3.05	80.31 ± 4.70	-
	雌	58.90 ± 4.09	16.08 ± 4.88	6.14 ± 1.53		2.37 ± 0.36	81.13 ± 8.15	
0-72 h	雄	60.13 ± 6.34	19.29 ± 10.34	1.62 ± 0.78	-	0.72 ± 0.39	81.03 ± 4.87	-
	雌	59.08 ± 4.05	16.31 ± 4.85	6.15 ± 1.55		0.43 ± 0.09	81.56 ± 8.07	
0-96 h	雄	60.29 ± 6.31	19.39 ± 10.37	1.67 ± 0.82	-	0.32 ± 0.09	81.35 ± 4.96	-
	雌	59.30 ± 4.07	16.51 ± 4.75	6.18 ± 1.56		0.44 ± 0.12	82.00 ± 7.95	
0-120 h	雄	60.47 ± 6.26	19.57 ± 10.30	1.70 ± 0.83	-	0.39 ± 0.02	81.74 ± 4.94	-
	雌	59.38 ± 4.11	16.67 ± 4.77	6.19 ± 1.57		0.25 ± 0.05	82.26 ± 8.00	
0-144 h	雄	60.60 ± 6.23	19.67 ± 10.34	1.72 ± 0.84	-	0.26 ± 0.12	82.00 ± 5.04	-
	雌	59.47 ± 4.14	16.78 ± 4.80	6.19 ± 1.57		0.20 ± 0.05	82.45 ± 8.05	
0-168 h	雄	60.68 ± 6.21	19.75 ± 10.37	1.74 ± 0.85	-	0.17 ± 0.08	82.17 ± 5.11	-
	雌	59.54 ± 4.16	16.89 ± 4.79	6.20 ± 1.56		0.19 ± 0.08	82.64 ± 8.05	

a：胆管にカニューレ処置した別の群

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.A サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ヒト肝ミクロソームにおける in vitro CYP 阻害

被験物質: サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-01, 4.2.2.6-02
試験番号:IPAS –MET-99-04, NWR-17

試験番号/GLP 適用	IPAS-MET-99-04（QA 実施）及び NWR-17（GLP）	
試験系:	プールヒト肝ミクロソーム	
プールされた肝ミクロソームのドナーの数:	IPAS-MET-99-04: 15 名プールド	NWR-17: 50 名プールド
被験物質:	IPAS-MET-99-04: サフィナミド	NWR-17: サフィナミド, NWR-1153, NWR-1689
濃度(塩):	IPAS-MET-99-04: 0, 0.5, 5.0, 10, 50, 100 µM (サフィナミドメシル酸塩)	
	NWR-17: 0, 0.1, 1, 10, 30, 100 µM (サフィナミドメシル酸塩, NWR-1153 及び NWR-1689)	
分析法	ラジオ-HPLC	

結果

試験番号	IPAS-MET-99-04	NWR-17		
	直接阻害 IC_{50} (µM)			
チトクローム P450 分子種	サフィナミド	サフィナミド	NW-1153	NW-1689
CYP1A1/2 [a]	47.7	>100	>100	>100
CYP2C8 [b]	>100		>100	>100
CYP2C9 [c]	>100		>100	>100
CYP2C19 [d]	>100		>100	>100
CYP2D6 [e]	>100		>100	>100
CYP2E1 [f]	>100		>100	>100
CYP3A4/5 [g]	>100		>100, >100, >100	>100, >100, >100

付帯情報：

a: IPAS-MET-99-04 については 7-エトキシレゾルフィンの脱エチル化（CYP1A1/2）、NWR-17 についてはフェナセチンの脱エチル化（CYP1A2）で評価
b: パクリタキセルの 6α 位水酸化で評価
c: トルブミドの 4 位水酸化で評価
d: S-メフェニトインの 4 位水酸化で評価
e: IPAS-MET-99-04 についてはデキストロメトルファンの脱メチル化、NWR-17 についてはブフラロールの 1 位水酸化で評価
f: クロルゾキサゾンの 6 位水酸化で評価
g: IPAS-MET-99-04 についてはテストステロンの 6β 水酸化、NWR-17 についてはテストステロンの 6β 水酸化、ニフェジピンの酸化的芳香族化及びミダゾラムの 1 位水酸化で評価

2.6.5.15.B ^{14}C-サフィナミド、NW-1153、NW-1689：ヒト肝ミクロソームにおける in vitro CYP 阻害

被験物質: ^{14}C-サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-03
試験番号:XT075070 (DMPK-121-07)

試験番号/GLP 適用: XT075070(DMPK-121-07) / GLP
被験物質/試験系: ^{14}C-サフィナミドメシル酸塩, NW-1153, NW-1689/ヒト肝ミクロソーム(HLM)
方法: LC-MS/MS を用いて測定し, IC_{50} 及び Ki 値と阻害について評価

結果: 試験番号 XT075070 (DMPK-121-07)

サフィナミド

		直接阻害				時間依存的阻害		
		プレインキュベーション 0 分				プレインキュベーション 30 分		
CYP 分子種	代謝反応	IC_{50} (μM)	100 μM (%)[a] 最大阻害率	K_i (μM)	阻害のタイプ	IC_{50} (μM)	100 μM (%)[b] 最大阻害率	時間依存的阻害の有無[b]
CYP1A2	ﾌｪﾅｾﾁﾝ O-脱ｴﾁﾙ化	>100	50	54	競合阻害	13	79	有
CYP2A6	ｸﾏﾘﾝ 7 位-水酸化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP2B6	ﾌﾞﾌﾟﾛﾋﾟｵﾝ水酸化	>100	20	nd	nd	57	70	有
CYP2C8	ｱﾓｼﾞｱｷﾝ *N*-脱ｱﾙｷﾙ化	>100	6.8	nd	nd	>100	6.3	無
CYP2C9	ｼﾞｸﾛﾌｪﾅｯｸ 4′位-水酸化	>100	0.7	nd	nd	>100	14	無
CYP2C19	S-ﾒﾌｪﾆﾄｲﾝ 4′位-水酸化	>100	33	nd	nd	63	63	有
CYP2D6	ﾃﾞｷｽﾄﾛﾒﾄﾛﾌｧﾝ O-脱ﾒﾁﾙ化	>100	33	nd	nd	>100	21	有
CYP2D6[c]		>100	33	nd	nd	>100	24	有
CYP2E1	ｸﾛﾛｿﾞｷｻｿﾞﾝ 6 位-水酸化	>100	na	nd	nd	>100	5.3	無
CYP3A4/5	ﾃｽﾄｽﾃﾛﾝ 6β 位-水酸化	>100	13	nd	nd	>100	22	無
CYP3A4/5	ﾐﾀﾞｿﾞﾗﾑ 1′位-水酸化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP3A4/5	ﾆﾌｪｼﾞﾋﾟﾝ酸化	>100	na	nd	nd	>100	12	無

付帯情報：各被験物質濃度について 2 つの検体から得られた平均データ（対照活性に対する割合）を、IC_{50} 値の算出に用いた。IC_{50} 値は、XLfit により算出した。

a：最大阻害率（%）は、最高濃度の被験物質のデータにより算出した。最大阻害率（%） = 100% － 溶媒対照に対する割合（%）。

b：時間依存的な阻害は、プレインキュベーションの有無別の IC_{50} 値の比較、プレインキュベーションの有無別の最大阻害率（%）の比較及び IC_{50} プロットの目視により判定した。

c：繰り返し実験

na：サフィナミドの最高添加濃度（100 μM）における典型基質の代謝速度が、対照における代謝速度より速かったため、阻害率が得られなかった。nd：測定せず。

NW-1153								
		直接阻害				時間依存的阻害		
		プレインキュベーション 0 分				プレインキュベーション 30 分		時間依存的阻害の有無 [b]
CYP 分子種	代謝反応	IC_{50} (μM)	100 μM (%)[a] 最大阻害率	K_i (μM)	阻害のタイプ	IC_{50} (μM)	100 μM (%)[b] 最大阻害率	
CYP1A2	ﾌｪﾅｾﾁﾝ O-脱ｴﾁﾙ化	>100	8.9	nd	nd	>100	36	有
CYP2A6	ｸﾏﾘﾝ 7 位-水酸化	>100	9.3	nd	nd	>100	5.9	無
CYP2B6	ﾌﾞﾌﾟﾛﾋﾟｵﾝ水酸化	>100	11	nd	nd	47	78	有
CYP2C8	ｱﾓｼﾞｱｷﾝ *N*-脱ｱﾙｷﾙ化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP2C9	ｼﾞｸﾛﾌｪﾅｯｸ 4′位-水酸化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP2C19	S-ﾒﾌｪﾆﾄｲﾝ 4′位-水酸化	>100	10	nd	nd	>100	4.4	無
CYP2D6	ﾃﾞｷｽﾄﾛﾒﾄﾛﾌｧﾝ O-脱ﾒﾁﾙ化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP2E1	ｸﾛﾛｿﾞｷｻｿﾞﾝ 6 位-水酸化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP3A4/5	ﾃｽﾄｽﾃﾛﾝ 6β 位-水酸化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP3A4/5	ﾐﾀﾞｿﾞﾗﾑ 1′位-水酸化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP3A4/5	ﾆﾌｪｼﾞﾋﾟﾝ酸化	>100	na	nd	nd	>100	na	無

付帯情報：各被験物質濃度について 2 つの検体から得られた平均データ（対照活性に対する割合）を、IC_{50} 値の算出に用いた。IC_{50} 値は、XLfit により算出した。

a：最大阻害率（%）は、次の式を用い、評価した最高濃度の被験物質のデータにより算出した。最大阻害率（%） = 100% － 溶媒対照に対する割合（%）。

b：時間依存的な阻害は、プレインキュベーションの有無別の IC_{50} 値の比較、プレインキュベーションの有無別の最大阻害率（%）の比較及び IC_{50} プロットの目視により判定した。

na：NW-1153 の最高添加濃度（100 μM）における典型基質の代謝速度が、対照における代謝速度より速かったため、阻害率が得られなかった。　nd：測定せず。

NW-1689								
		直接阻害				時間依存的阻害		
		プレインキュベーション 0 分				プレインキュベーション 30 分		時間依存的阻害の程度 [b]
CYP 分子種	代謝反応	IC_{50} (μM)	100 μM (%)[a] 最大阻害率	K_i (μM)	阻害のタイプ	IC_{50} (μM)	100 μM (%)[b] 最大阻害率	
CYP1A2	ﾌｪﾅｾﾁﾝ O-脱ｴﾁﾙ化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP2A6	ｸﾏﾘﾝ 7 位-水酸化	>100	14	nd	nd	>100	11	無
CYP2B6	ﾌﾞﾌﾟﾛﾋﾟｵﾝ水酸化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP2C8	ｱﾓｼﾞｱｷﾝ *N*-脱ｱﾙｷﾙ化	>100	3.9	nd	nd	>100	7.2	無
CYP2C9	ｼﾞｸﾛﾌｪﾅｯｸ 4′位-水酸化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP2C19	S-ﾒﾌｪﾆﾄｲﾝ 4′位-水酸化	>100	0.75	nd	nd	>100	4.4	無
CYP2D6	ﾃﾞｷｽﾄﾛﾒﾄﾛﾌｧﾝ O-脱ﾒﾁﾙ化	>100	na	nd	nd	>100	na	無
CYP2E1	ｸﾛﾛｿﾞｷｻｿﾞﾝ 6 位-水酸化	>100	5.1	nd	nd	>100	na	無
CYP3A4/5	ﾃｽﾄｽﾃﾛﾝ 6β 位-水酸化	>100	4.4	nd	nd	>100	5.4	無
CYP3A4/5	ﾐﾀﾞｿﾞﾗﾑ 1′位-水酸化	>100	12	nd	nd	>100	5.1	無
CYP3A4/5	ﾆﾌｪｼﾞﾋﾟﾝ酸化	>100	na	nd	nd	>100	na	無

付帯情報：各被験物質濃度について 2 つの検体から得られた平均データ（対照活性に対する割合）を、IC_{50} 値の算出に用いた。IC_{50} 値は、XLfit により算出した。

a：最大阻害率（%）は、次の式を用い、評価した最高濃度の被験物質のデータにより算出した。最大阻害率（%） = 100% － 溶媒対照に対する割合（%）。

b：時間依存的な阻害は、プレインキュベーションの有無別の IC_{50} 値の比較、プレインキュベーションの有無別の最大阻害率（%）の比較及び IC_{50} プロットの目視により判定した。

na：NW-1689 の最高添加濃度（100 μM）における典型基質の代謝速度が、対照における代謝速度より速かったため、阻害率が得られなかった。　　nd：測定せず。

2.6.5.15.C サフィナミド：ヒト肝ミクロソームにおける時間依存的な in vitro CYP 阻害

被験物質: サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-04
試験番号:XT085009 (DMPK-10-08)

試験番号/GLP 適用:	XT085009 (DMPK-10-08), amendment report 2/GLP
濃度:	10 及び 100 µM (塩)
被験物質:	サフィナミド
試験系:	ヒト肝ミクロソーム
測定:	LC-MS/MS を用いて測定し、時間依存的阻害を評価

結果

	サフィナミド				
CYP 分子種	代謝反応	K_I (µM)	k_{inact} (min^{-1})	NADPH 依存性	希釈の影響の有無
CYP1A2	フェナセチン O-脱エチル化	33.5	0.075	有	無
CYP2B6	ブプロピオン水酸化	na	na	有	無
CYP2C19	S-メフェニトイン 4′位-水酸化	nd	nd	有	有
CYP2D6	デキストロメトロファン O-脱メチル化	nd	nd	有	有

na：K_I 及び k_{inact} 値の算出不可。 nd：阻害が希釈の影響を受けたため、測定せず。

2.6.5.15.D NW-1689AG：ヒト肝ミクロソームにおける in vitro CYP 阻害

被験物質: NW-1689AG
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-05
試験番号:XT105058 (DMPK-89-10)

試験番号/GLP 適用:	XT105058 (DMPK-89-10) /GLP
被験物質:	NW-1689AG
濃度:	0.3〜30 μM
試験系:	プールヒト肝ミクロソーム
試験方法:	直接阻害については、CYP2C8 の典型基質アモジアキンを、NW-1689AG 存在下、ヒト肝ミクロソーム中でインキュベーションすることにより評価した。 また、時間依存的阻害については、ヒト肝ミクロソームを NW-1689AG と NADPH 存在下または非存在下で 30 分間プレインキュベーションした後に、そのミクロソームにおけるアモジアキンの *N*-脱アルキル化反応を測定することで評価した。
測定方法:	LC-MS/MS

結果: XT105058 (DMPK-89-10)

CYP 分子種	代謝反応	直接阻害		時間依存的阻害 プレインキュベーション 30 分				代謝依存的阻害の程度
				（NADPH なし）		(NADPH あり)		
		IC_{50} (μM)	30 μM での阻害率 (%)	IC_{50} (μM)	30 μM での阻害率 (%)	IC_{50} (μM)	30 μM での阻害率 (%)	
CYP2C8	アモジアキン *N*-脱アルキル化	>30	22	>30	29	>30	29	無

付帯情報：代謝依存的阻害の程度は、プレインキュベーション又は NADPH の有無別の IC_{50} 値の比較及び IC_{50} プロットを目視により判定した。

2.6.5.15.E サフィナミド：ラット及びモルモットにおける in vivo CYP 誘導

被験物質: サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-06
試験番号:9650281

試験番号/GLP 適用:	9650281/non-GLP
試験の種類：	げっ歯類の肝臓における特定の薬物代謝酵素に対するサフィナミド（FCE 26743）の誘導特性の検討
被験物質/媒体:	サフィナミド/水
種/系統	ラット(Sprague Dawly)及びモルモット
動物数:	ラット: 雌雄各 5 匹、モルモット: 雄 5 匹
摂餌条件:	摂食
投与量/投与方法:	300 µmol/kg/day(120 mg 塩)/反復経口投与(4 日間)

試験系:	肝ミクロソーム、サイトゾル及びホモジネート上清	肝ミクロソーム	肝ミクロソーム	肝サイトゾル	肝ミクロソーム	肝サイトゾル	肝ホモジネート上清	肝ホモジネート上清
種:	ラット/モルモット	ラット	ラット	ラット/モルモット	ラット	ラット	ラット/モルモット	ラット/モルモット
測定項目:	反応名	*O*-脱アルキル化	エポキシド加水分解	エポキシド加水分解	グルクロン酸抱合	グルタチオン抱合	ペルオキシソーム β-酸化	ミトコンドリア β-酸化
	典型基質	7-エトキシレゾルフィン及び 7-ペントキシレゾルフィン	7-^{3}H-スチレンオキシド	^{3}H-*trans*-スチルベンオキシド	1-ナフトール、4-ヒドロキシビフェニル、アンドロステロン、テストステロン及び β-酸エストラジオール	1-クロロ-2, 4-ジニトロベンゼン	パルミトイル-CoA	9, 10-^{3}H-ヘキサデカノエート
分析法:	UV	蛍光定量	放射能	放射能	HPLC/UV	UV	UV	放射能
結果（最大活性誘導）	-	1.6 及び 1.7 倍	1.1 倍	1.5 倍/1.2 倍	0.9、1.5、1.5、1.2 及び 1.0 倍	1.3 倍	1.5 倍/1.8 倍	2.3 倍

結果[a]: 9650281

測定項目	ラット		モルモット
	雄	雌	雄
開始時体重[a]	98	98	99
終了時体重（開始時体重に対する%）[a]	97	101	96
終了時肝重量（体重に対する%）[a]	107	104	101
上清中蛋白量[a]	109	143	95
細胞質蛋白量[a]	139	89	108
ミクロソーム蛋白量[a]	138	96	nd
ペルオキシソーム ß-酸化[a]	113	147	171
ミトコンドリア ß-酸化[a]	103	230	67
7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化[a]	97	157	nd
7-ペントキシレゾルフィン O-脱エチル化[a]	173	173	nd
ミクロソームエポキシド水解酵素[a]	77	112	nd
可溶性エポキシド水解酵素[a]	146	66	97
1-ナフトール・グルクロン酸抱合[a]	91	93	nd
4-ヒドロキシビフェニル・グルクロン酸抱合[a]	149	107	nd
アンドロステロン・グルクロン酸抱合[a]	152	90	nd
テストステロン・グルクロン酸抱合[a]	107	117	nd
β-エストラジオール・グルクロン酸抱合[a]	80	100	nd
1-クロロ-2,4-ジニトベンゼン・グルタチオン抱合[a]	74	125	nd

付帯情報：サフィナミドによる薬物代謝酵素活性に対する影響は軽微に過ぎず、レゾルフィン *O*-脱アルキル化反応をわずかに増加させ、1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼンに対するグルタチオン *S*–転移酵素活性を若干減少させた。以前に観察されたパルミチン酸 β 酸化への干渉は、ペルオキシソームの増殖には至らなかったが、ミトコンドリアの β 酸化を若干増強した。既存の抗痙攣薬の作用と比較すると、サフィナミドによる薬物代謝酵素に対する影響は、無視できるとみなされる。

a：対照に対する割合（%）　　nd：測定せず

2.6.5.15.F サフィナミド： テストステロンのヒドロキシル化に対する影響

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-07
試験番号:FCE-26743-801i

試験番号/GLP 適用:	FCE-26743-801i/non-GLP
試験の種類:	In vivoCYP 誘導
被験物質:	サフィナミド
試験材料:	肝ミクロソーム
動物:	雄性 Sprague Dawly ラット、各評価につき 5 匹使用
媒体:	水
投与量:	300 µmol/kg（120 mg/kg/day(塩)）、4 日間反復経口投与
試料採取方法：	動物は、屠殺前に 24 時間絶食させた。屠殺の 16 時間前に、動物に最終投与を行った。
分析方法：	Bradford 法／測光法によるテストステロンヒドロキシル化アッセイ／HPLC により、蛋白質濃度を判定

結果: FCE26743-801i

	%コントロール	評価活性	%コントロール	評価活性	%コントロール
投与前体重	90	テストステロン 2-α-水酸化	97	テストステロン 7-α-水酸化	71
投与後体重	99	テストステロン 2-β-水酸化	63	テストステロン 15-β-水酸化	77
投与後肝重量	110	テストステロン 6-α-水酸化	96	テストステロン 16-α-水酸化	110
ミクロソーム蛋白質含有量	105	テストステロン 6-β-水酸化	75	テストステロン 16-β-水酸化	157
アンドロステンジオン生成量	93				

付帯情報：雄ラットにサフィナミドを投与したところ、検討した酵素活性のいずれに対しても顕著な影響は認められなかった。

2.6.5.15.G サフィナミド：ラットにおける in vivo CYP 誘導

被験物質:サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-08
試験番号:METPK-208-96

試験番号(対応する別の報告書番号)/GLP 適用:	METPK-208-96 (9750068)/non-GLP
試験の種類:	In vivo CYP 誘導
被験物質:	サフィナミド
試験材料:	サフィナミド投与後の肝ミクロソーム（同一群の試料はプールして使用）
種/系統:	SD ラット、雌雄
動物数:	各評価につき 5 匹使用
摂餌条件:	摂食
媒体:	水
投与量:	0, 20, 60, 100 及び 500 mg/kg /日
投与方法:	4 週間反復経口投与（500 mg/kg 群においては、雄で 11 日間、雌で 10 日間投与した）
分析法:	ウェスタンブロッティング及び EROD（エトキシレゾルフィン *O*-脱エチル化）アッセイ
集計結果:	サフィナミド反復投与後、雄及び雌ラットにおいて肝 CYP1A2 及び CYP3A2 の誘導が認められた。一方で、その他のチトクロム P450 アイソフォーム（1A1、2B1/2、2C12、2E1、3A1 及び 4A）においては、最高用量以外での誘導は認められなかった。CYP1A2 については、EROD アッセイを行ったが、20 mg/kg/日における誘導の程度が軽微（コントロールの約 1.1 倍）であったことから、ヒトで予測される最小用量レベル（10 mg/kg/日未満）でのサフィナミドによるチトクロム P450 のレベルに対する影響は無視できるほど軽微であると示唆された。CYP3A2 については、ウェスタンブロッティングにおいて、いずれの投与量においても陽性対象（デキサメタゾン及びプレグネノロン l6α-カルボニトリル）と比較して誘導の影響が軽微であることから、ヒトにおいて重大な影響を及ぼさないと考えられた。

2.6.5.15.H サフィナミド：形質移入したヒト肝細胞（HepG2）における in vitro CYP 誘導

被験物質: サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-09
試験番号:030242

試験番号/GLP 適用:	030242/non-GLP
試験の種類:	CYP3A4 誘導の評価
被験物質:	サフィナミド
濃度:	1, 10, 50 µM
試験系:	HepG2 細胞
試験方法:	レポータージーンアッセイ
陽性対照:	リファンピシン, 10 µM

結果: 030242

	誘導（%）		
	コントロールベクター	CYP3A4 ベクター	CYP3A4 誘導
媒体	100	100	100
1 µM サフィナミド	106	101	95
10 µM サフィナミド	105	115	109
50 µM サフィナミド	80	136	497
10 µM リファンピシン	111	552	171

付帯情報 : 50 µM サフィナミドによる特異的な CYP3A4 の誘導は、陽性対照である 10 µM リファンピシンで認められた誘導の 34%であり、サフィナミドは CYP3A4 の弱い誘導剤と考えられた。

2.6.5.15.I サフィナミド：初代ヒト肝細胞における in vitro CYP 誘導

被験物質: サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-10
試験番号:MSO1 (DMPK-122-07)

試験番号/GLP 適用:	MSO1 (DMPK-122-07) / non-GLP
試験の種類	培養初代ヒト肝細胞を用いた CYP1A2, CYP2C9 及び CYP3A4/5 誘導能評価
被験物質:	サフィナミド
試験系：	培養初代ヒト肝細胞
方法：	24 時間（mRNA）及び 72 時間（酵素活性、アポ蛋白質）にわたる 3、30 及び 100 μM のサフィナミドとのインキュベーション。 単層肝細胞培養におけるエトキシレゾルフィン脱エチル化（CYP1A2）、4-ヒドロキシトルブタミドの生成（CYP2C9）及び 6β-ヒドロキシテストステロンの生成（CYP3A4/5）の活性の分析。 2006 年の FDA の指針案に従い、陽性対照（CYP1A2 に対しては 50 μM Omeprazole、CYP2C9 及び CYP3A4/5 に対しては 10 μM Rifmpicin）に対する割合（%）を算出。CYP1A2 mRNA 発現及びミクロソームの CYP1A2 蛋白質発現の分析。

結果: MSO1

分子種	項目	ドナー番号	陽性対照(PC)		サフィナミド(塩)					
			ｵﾒﾌﾟﾗｿﾞｰﾙ 50 µM	ﾘﾌｧﾝﾋﾟｼﾝ 10 µM	3 µM		30 µM		100 µM	
			ｺﾝﾄﾛｰﾙとの比	ｺﾝﾄﾛｰﾙとの比	ｺﾝﾄﾛｰﾙとの比	% PC	ｺﾝﾄﾛｰﾙとの比	% PC	ｺﾝﾄﾛｰﾙとの比	% PC
CYP1A2	ミクロソーム CYP 活性	HH3	35	1.1	4.0	8.8	2.3	3.8	0.5	-1.4
		HH4	80	0.2	4.5	4.5	3.7	3.4	1.7	0.8
		HH5	170	2.8	2.8	1.0	5.0	2.4	2.9	1.1
		HH6	48	1.0	1.6	1.3	2.0	2.0	2.1	2.3
		HH7	14	1.0	1.5	3.7	2.6	13	2.6	13
		HH8	21	1.3	1.3	1.6	1.6	3.1	2.8	8.7
	ミクロソーム CYP アポ蛋白質 発現量	HH6	3.7	0.6	1.2	-	2.0	-	1.8	-
		HH7	2.1	0.9	1.5	-	1.6	-	1.6	-
		HH8	1.9	1.0	1.2	-	1.4	-	1.4	-
	CYP mRNA 発現量	HH6	132	0.8	1.2	-	2.8	-	1.4	-
		HH7	144	0.9	2.0	-	4.9	-	4.7	-
		HH8	266	1.1	2.3	-	4.0	-	0.9	-
CYP2C9	ミクロソーム CYP 活性	HH3	2.0	2.0	0.8	-22	0.9	-8	0.8	-22
		HH4	1.3	2.5	1.2	12	1.4	24	0.9	-7.1
		HH5	2.3	1.8	1.1	13	1.3	35	1.3	35
CYP3A4/5	ミクロソーム CYP 活性	HH3	0.6	36	1.2	1	2.2	6.5	0.9	-0.4
		HH4	0.4	15	1.0	-0.3	0.4	-4.7	0.2	-6.1
		HH5	2.1	3.2	1.1	4.8	2.0	53	2.8	84
		HH6	5.3	12	1.2	1.8	2.0	8.6	3.4	22
		HH7	3.4	5.5	0.9	-1.8	1.7	17	2.9	44
		HH8	7.6	15	1.3	2.2	2.5	11	5.9	35

2.6.5.15.J サフィナミド：初代ヒト肝細胞における in vitro CYP 誘導

被験物質: サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-11
試験番号:MS-042009-01（DMPK-42-09）

試験番号/GLP 適用:	MS-042009-01/GLP
試験の種類:	ヒト初代肝細胞における CYP2B6 の誘導性
被験物質:	サフィナミド
濃度:	3, 30 及び 100 µM (塩)
試験系：	初代ヒト肝細胞培養
方法：	72 時間のインキュベーション。ブプロピオンヒドロキシル化（CYP2B6）の活性の分析。 CYP2B6 活性に関する陽性対照 PC：1000 µM フェノバルビタール（PB）に対する割合の算出。

結果: MS-042009-01

項目	ドナー番号	陽性対照 (PB, 1 mM)	サフィナミド					
			3 µM		30 µM		100 µM	
		ｺﾝﾄﾛｰﾙとの比	ｺﾝﾄﾛｰﾙとの比	% PC	ｺﾝﾄﾛｰﾙとの比	% PC	ｺﾝﾄﾛｰﾙとの比	% PC
CYP2B6 (酵素活性)	1	3.2	2.2	53	1.7	30	nc*	nc*
	2	3.0	1.2	9	0.9	-3	nc*	nc*
	3	3.1	1.7	33	1.2	9	0.7	-14
	4	3.4	1.3	13	1.6	24	1.9	37
CYP2B6 (mRNA)	1	2.8	1.5	27	1.2	12	nc*	nc*
	2	3.6	1	0	2.5	60	2.5	60
	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	4	13	1.3	3	5	35	nc*	nc*

付帯情報：検討した条件下において、サフィナミドは in vitro で CYP2B6 の誘導剤である。

nc*：細胞傷害性のために算出できず、 nd：測定せず

2.6.5.15.K サフィナミド：初代ヒト肝細胞における in vitro CYP 誘導

被験物質: サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-12
試験番号:MS-032010-02 (DMPK-31-10)

試験番号(対応する別の報告書番号)/GLP 適用:	MS-032010-02 (DMPK-31-10)/non-GLP
被験物質:	サフィナミド
試験系:	初代ヒト肝細胞
試験の種類：	サフィナミドによる初代ヒト肝細胞におけるヒト肝 CYP1A2 及び CYP2B6、UGT1A1 及び SULT2A1 アイソザイムの誘導性
方法：	初代ヒト肝細胞培養と、サフィナミド 1、4、8、15、30、45、60 及び 80 μM（塩）との 72 時間にわたるインキュベーション。 細胞ミクロソームにおけるエトキシレゾルフィン脱エチル化（CYP1A2）、ブプロピオンヒドロキシル化（CYP2B6）及びエストラジオール 3-*O*-グルクロン酸抱合（UGT1A1）及びサイトゾルにおけるエチニルエストラジオール 3-*O*-硫酸抱合（SULT2A1）の活性の分析。 2006 年の FDA のガイドライン案に従い、陽性対照（CYP1A2 に対しては 50 μM Omeprazole 又は 100 μM Omeprazole、CYP2B6 に対しては 1000 μM Phenobarbital）に対する割合（%）を算出。

結果: MS-032010-02

処置	ドナー	ミクロソーム酵素活性						サイトゾル活性
		CYP1A2			CYP2B6		UGT1A1	SULT2A1
		倍[a]	%PC[b]	%PC[c]	倍[a]	%PC[d]	倍[a]	倍[a]
オメプラゾール 50 μM	1	8.0	100	65	0.6	-12	0.7	1.2
	2	9.3	100	69	/	/	/	/
オメプラゾール 100 μM	1	11.8	155	100	1.2	6	1.1	1.3
	2	13.0	146	100	/	/	/	/
フェノバルビタール 1000 μM	1	1.2	3	2	4.4	100	1.1	1.4
	3	2.0	12	8	4.0	100	1.3	1.4
サフィナミド 1 μM	1	0.9	-1	-1	1.4	12	0.9	1.6
	2*/3**	1.8	10	7	0.8	-8	1.0	1.6
サフィナミド 4 μM	1	1.3	5	3	1.6	18	1.1	1.5
	2*/3**	2.0	13	9	0.4	-20	1.0	1.4
サフィナミド 8 μM	1	1.7	10	6	1.4	12	0.7	1.5
	2*/3**	1.7	8	6	1.4	13	0.9	1.5
サフィナミド 15 μM	1	2.0	15	10	1.4	11	0.6	1.5
	2*/3**	2.0	12	8	0.3	-24	0.6	1.4
サフィナミド 30 μM	1	2.3	18	12	2.2	36	0.9	1.7
	2*/3**	2.4	17	11	0.5	-24	0.7	1.5
サフィナミド 45 μM	1	2.9	28	18	2.2	36	0.7	1.4
	2*/3**	3.8	34	23	0.8	-6	0.6	1.3
サフィナミド 60 μM	1	2.7	25	16	4.0	87	1.2	1.6
	2*/3**	3.9	35	24	1.7	22	0.9	1.1
サフィナミド 80 μM	1	2.5	22	14	4.9	114	0.9	1.8
	2*/3**	4.0	37	25	3.4	78	0.9	0.9

結果: MS-032010-02

処置	ドナー	mRNA							
		CYP1A2		CYP2B6		UGT1A1		SULT2A1	
		倍[e]	%PC[b]	倍[e]	%PC[d]	倍[e]	%PC[d]	倍[e]	%PC[d]
オメプラゾール 50 μM	1	389	100	/	/	/		/	
	2	42.9	100	/	/	/		/	
オメプラゾール 100 μM	1	286	73	/	/	/		/	
	2	39.9	93	/	/	/		/	
フェノバルビタール 1000 μM	1	/	/	13.0	100	3.0	100	5.0	100
	3	/	/	15.3	100	3.5	100	1.2	NR
サフィナミド 1 μM	1	6.3	1	2.3	11	1.4	16	2.5	35
	2*/3**	2.1	3	1.4	3	1.0	0	-1.2	NR
サフィナミド 4 μM	1	32.7	8	2.5	12	1.3	13	2.4	34
	2*/3**	2.2	3	1.7	5	1.1	5	1.0	NR
サフィナミド 8 μM	1	17.7	4	2.7	14	1.5	23	2.7	39
	2*/3**	2.7	4	1.8	5	1.1	4	1.2	NR
サフィナミド 15 μM	1	21.0	5	2.7	15	1.7	30	2.2	29
	2*/3**	2.7	4	2.3	9	1.3	11	1.1	NR
サフィナミド 30 μM	1	39.9	10	3.3	19	1.9	37	2.4	32
	2*/3**	3.6	6	2.7	12	1.3	11	1.4	NR
サフィナミド 45 μM	1	36.4	9	3.6	22	2.2	51	2.2	28
	2*/3**	4.6	9	4.2	22	1.5	20	1.1	NR
サフィナミド 60 μM	1	21.0	5	4.0	25	1.6	25	2.3	31
	2*/3**	3.9	7	4.8	26	1.7	27	-1.8	NR
サフィナミド 80 μM	1	2.7	0	2.7	14	1.1	2	1.0	NR
	2*/3**	2.3	3	5.4	31	2.4	54	1.2	NR

結果:試験番号 MS-032010-02

ドナー	Modeling					
	CYP1A2			CYP2B6		
	E_{max}	EC_{50}（μM）	n	E_{max}	EC_{50}（μM）	n
1	18[a]	15	1	156[a]	58	1
2*/3***	28[a]	24	1	98[a]	66	1
平均値 ± 差	24 ± 4[a]	19.5 ± 4.5		127 ± 29[a]	62 ± 4	
1,3	nc	nc		4.92[f]	71.35[f]	

a：CYP、UGT1A1 及び SULT2A1 の活性の対照（0.1% DMSO）に対する倍率
b：オメプラゾール 50 μM との比較
c：オメプラゾール 100 μM との比較
d：フェノバルビタール 1000 μM との比較
e：CYP、UGT1A1 及び SULT2A1 の mRNA 発現の対照（0.1% DMSO）に対する倍率
f：ドナー1,3 の CYP2B6 mRNA の Fold induction の平均値を基に算出
NR：誘導性なし　　nc：算出せず
*：CYP1A2 の場合
**：CYP2B6、UGT1A1、SULT2A1 の場合
***：CYP2B6 の場合

2.6.5.15.L サフィナミド：Caco-2 細胞における in vitro 透過性

被験物質 ： サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-13
試験番号 :DIXG1000

試験番号 ./GLP 適用:	DIXG1000/GLP								
試験の種類:	^{14}C-サフィナミドを用いた In vitro 透過性								
試験系:	Caco-2 細胞								
試験材料:	^{14}C-サフィナミド 10 μM 及び 2500 μM (塩)、^{3}H-ジゴキシン 5 μM、^{14}C-マンニトール 10 μM、^{3}H-プロプラノロール 100 μM Caco-2 細胞								
分析法:	LSC								
結果:DIXG1000									
処置	37°C			37°C アジ化ナトリウム(15 mM) + 2-デオキシグルコース(50 mM)			4°C		
	P_{app}^{A-B}±SD (10^{-6} cm/s)	P_{app}^{B-A}±SD (10^{-6} cm/s)	$P_{app}^{B-A}/P_{app}^{A-B}$ ratio	P_{app}^{A-B}±SD (10^{-6} cm/s)	P_{app}^{B-A}±SD (10^{-6} cm/s)	$P_{app}^{B-A}/P_{app}^{A-B}$ ratio	P_{app}^{A-B}±SD (10^{-6} cm/s)	P_{app}^{B-A}±SD (10^{-6} cm/s)	$P_{app}^{B-A}/P_{app}^{A-B}$ ratio
^{14}C-サフィナミド[a] (10 μM)	22.9 ± 1.0	25.7 ± 1.7	1.12	25.4 ± 3.4	27.3 ± 1.0	1.07	1.39 ± 0.42	0.133 ± 0.070	0.0959
^{14}C-サフィナミド[a] (2500 μM)	21.3 ± 5.7	19.7 ± 0.8	0.928	29.9 ± 1.3	32.2 ± 0.4	1.08	4.73 ± 2.16	1.14 ±0.60	0.262
^{3}H-ジゴキシン[a] (5 μM)	0.767 ±0.512	17.0 ± 0.451	17.8	0.633 ±0.148	5.77 ± 0.52	9.12	0.0434[b]	<LLOQ	nc
^{14}C-マンニトール(10 μM)	0.678[c]	-	nc	0.378[a] ± 0.118	-	nc	0.0986[b] 0.000283	-	nc
^{3}H-プロプラノロール[a] (100 μM)	24.3 ± 2.8	-	nc	29.4 ± 1.6	-	nc	1.75 ± 0.71	-	nc

P_{app}^{A-B}：頂端側から基底側への見かけ上の透過係数
P_{app}^{B-A}：基底側から頂端側への見かけ上の透過係数
a：n = 3
b：n = 2 のため標準偏差は算出できなかった
c：n = 1 のため標準偏差は算出できなかった
nc：算出せず

2.6.5.15.M 特定のヒト排出及び取込みトランスポーターとの in vitro 相互作用試験

被験物質: サフィナミド, NW-1153
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-14
試験番号:HLS-16-02Apr2014

試験番号/GLP 適用:	HLS-16-02Apr2014/non-GLP
試験系:	BCRP 排出トランスポーター OATP1B1, OATP1B3, OATP1A2, OATP2B1, OCT2, OAT1, OAT3, MATE1 及び MATE2-K 取り込みトランスポーター
被験物質:	サフィナミド, NW-1153
方法：	排出トランスポーターに対しては、単層膜を用いた両方向透過性アッセイ、及び取込みトランスポーターに対しては取込みトランスポーター基質アッセイにて評価した
繰り返し数:	3

被験物質	トランスポーター	プローブ基質	トランスポータータイプ	アッセイ	濃度 (μM)	IC_{50} (μM)	最大阻害率 (対照に対する%)	Net ER[d] 又は 蓄積倍数 [e]	基質性
サフィナミド	BCRP	n.a.	排出	ML	0.5, 5, 13.2, 50,132, 1320	試験せず	試験せず	-0.06～0.42	可能性は低い
	OATP1B1	$E_2$17βG[a]	肝	UPT	0.5, 5, 60, 600	試験せず	試験せず	1.19～1.82	可能性は低い
	OATP1B3	CCK-8[b]		UPT		試験せず	試験せず	1.20～1.89	可能性は低い
	OATP1A2	ES[c]	血液- 脳関門	UPT	基質性 (0.05, 0.5, 5, 50) 阻害性 (0.5, 1, 1.5, 5, 10, 15, 50)	算出せず	55%（50 μ）	0.98～1.35	可能性は低い
	OATP2B1	ES[c]		UPT		算出せず	25%（50 μM）	1.37～3.69	可能性は低い
	OCT1	メトホルミン	腎	UPT	0.5, 1, 1.5, 5, 10, 15, 50	39.3	58%（50 μM）	-	試験せず
	MATE1	メトホルミン		UPT		算出せず	50 μM まで相互作用なし	-	試験せず
	MATE2-K	メトホルミン		UPT		算出せず	50 μM まで相互作用なし	-	試験せず
NW-1153	OAT1	テノホビル	腎	UPT	0.05, 0.1, 0.5, 5	試験せず	試験せず	0. 52～2.15	可能性は低い
	OAT3	ES[c]		UPT		試験せず	試験せず	2.27～4.84 3.78/0.98[f]	可能性あり
	OCT2	メトホルミン		UPT	基質性 (0.05, 0.1, 0.5, 5) 阻害性 (0.05, 0.1, 0.15, 0.5, 1, 1.5, 5)	n.a.	5 μM まで 相互作用なし	0.57～0. 92	可能性は低い
	MATE1	メトホルミン		UPT	0.05, 0.1, 0.15, 0.5, 1, 1.5, 5	n.a	5 μM まで 相互作用なし	-	試験せず
	MATE2-K	メトホルミン		UPT		n.a	5 μM まで 相互作用なし	-	試験せず

a: エストラジオール-17-β-グルクロニド, b: コレシストキニン-B, c: エストロン-3-硫酸,
d: BCRP, e: OATP1B1, OATP1B3, OATP1A2, OATP2B1, OAT1, OAT3, OCT2, f: NW-1153 0.5 μM, 2 分の条件での再験（阻害剤なし/阻害剤あり）
ML-単相アッセイ, UPT-取り込みアッセイ, n.a. -適用できず

2.6.5.15.N ^{14}C-サフィナミド：ヒト肝細胞への取込み

被験物質: ^{14}C-サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-15
試験番号 : DMPK-15-10

試験番号/GLP 適用:	DMPK15-10/non-GLP
試験系:	凍結ヒト肝細胞
被験物質:	^{14}C-サフィナミド
添加濃度:	0.7, 0.8 及び 7.3 μM (塩)
分析方法：	37°C 及び 4°C において、リソソームトラッピング阻害剤である NH_4Cl（37°C）の有無別に、液体シンチレーション計数法により実施した、ヒト肝細胞への ^{14}C-サフィナミドの取込みの測定（陽性対照：OCT1 に対しては ^{14}C-臭化テトラエチルアンモニウム及びリソソームトラッピングに対しては ^{3}H-プロプラノロール）。

結果: DMPK 15-10

化合物	ｲﾝｷｭﾍﾞｰｼｮﾝ時間	R_{acc} (倍)[f]				I (%)[g]	
		実験 3	実験 4	実験 5	実験 6	実験 5	実験 6
サフィナミド[a]	0.42/0.5 分[b]	40	29	41	50	18	22
	1.5 分	41	29	45	59	32	45
	3 分	39	33	48	62	32	43
	平均 R_{acc}	43					
プロプラノロール (1 μM)	0.42/0.5 分[c]					28	51
	1.5/2.5 分[d]					59	63
	3/4 分[e]					60	64

a：実験 3 及び 4 では 7.3 μM、実験 5 では 0.7 μM、実験 6 では 0.8 μM
b：実験 3～5 では 0.5 分、実験 6 では 0.42 分
c：実験 5 では 0.5 分、実験 6 では 0.42 分
d：実験 5 では 2.5 分、実験 6 では 1.5 分
e：実験 5 では 4 分、実験 6 では 3 分
f：蓄積率（Racc）：細胞内濃度をインキュベーション混合液の初期濃度で除して算出
g：リソソーム取り込み阻害の程度（I（%））は、20 mM NH_4Cl（リソソーム取り込み阻害剤）の添加により判定した

2.6.5.15.O サフィナミド、NW-1153 及び MW-1689：Caco-2/TC7 細胞における P-糖蛋白質の阻害

被験物質:サフィナミド, NW-1153, NW-1689
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-16
試験番号:DMPK-120-07

試験番号/GLP 適用: DMPK-120-07/non-GLP
試験の種類: In vitro P-gp 阻害
被験物質/濃度: サフィナミド（0.3～1000 μM(塩)）, NW-1153（30～300 μM）, NW-1689（100～1000 μM）
試験材料: Caco-2/TC7, ヒト大腸癌細胞; 5 μM ^{3}H-ジゴキシン
分析法: 液体シンチレーションカウンター

結果:DMPK-120-07

被験物質	サフィナミド			NW-1153			NW-1689		
阻害剤	^{3}H-ジゴキシン P_{app}^{A-B}	^{3}H-ジゴキシン P_{app}^{B-A}	^{3}H-ジゴキシン R_E	^{3}H-ジゴキシン P_{app}^{A-B}	^{3}H-ジゴキシン P_{app}^{B-A}	^{3}H-ジゴキシン R_E	^{3}H-ジゴキシン P_{app}^{A-B}	^{3}H-ジゴキシン P_{app}^{B-A}	^{3}H-ジゴキシン R_E
溶媒コントロール	0.912[a]	18.7[a]	20.5	1.26[g]	19.3[g]	15.3	0.905[d]	18.3[d]	20.2
ケトコナゾール (10 μM)	6.02[b]	10.3[b]	1.70	7.00[f]	9.17[f]	1.31	5.25[f]	8.14[f]	1.55
ｼｸﾛｽﾎﾟﾘﾝ A (10 μM)	8.19[b]	9.06[b]	1.11	7.58[f]	8.56[f]	1.13	5.53[f]	7.67[f]	1.39
0.30 μM	1.44[c]	23.7[c]	16.4						
3.0 μM	1.44[c]	20.6[c]	14.2						
10 μM	1.41[d]	28.8[d]	20.5						
30 μM	1.35[e]	19.4[e]	14.4	1.38[g]	22.1[g]	16.0			
100 μM	1.84[e]	17.2[e]	9.33	1.39[g]	22.1[g]	15.9	1.53[c]	19.3[c]	12.7
300 μM	2.84[e]	16.8[e]	5.91	1.39[g]	19.7[g]	14.1	1.52[g]	19.9[g]	13.1
1000 μM	6.08[e]	15.9[e]	2.61				1.90[g]	19.4[g]	10.2

付帯情報：サフィナミドは、Caco-2 細胞単層膜において、P-gp によるジゴキシン輸送に影響を及ぼさなかった。100 μM 以上の濃度における排出比の低下は、P_{app}^{B-A} の減少ではなく、P_{app}^{A-B} の増加によるものであった。

P_{app}^{A-B}：頂端側から基底側への見かけ上の透過係数（10^{-6} cm/秒）
P_{app}^{B-A}：基底側から頂端側への見かけ上の透過係数（10^{-6} cm/秒）
R_E：排出比
a：平均値、n = 12　b：平均値、n = 8　c：平均値、n = 3　d：平均値、n = 5　e：平均値、n = 9　f：平均値、n = 4　g：平均値、n = 6

2.6.5.15.P NW-1689AG の P-gp に対する阻害

被験物質: NW-1689AG
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-23
試験番号:DMPK-145-11

試験番号/GLP 適用：	DMPK-145-11/non-GLP
試験の種類：	In vitroP-糖蛋白質阻害
被験物質：	NW-1689AG
濃度：	1.5 及び 7.5 μM
試験材料：	Caco-2/TC7 細胞（ヒト大腸癌細胞）
測定法：	液体シンチレーションカウンター

結果：DMPK-145-11

実験№	NW-1689AG 濃度（μM）	^{3}H-ジゴキシンの排出比（RE）	^{3}H-ジゴキシン輸送の阻害（%）
1	-	28	-
	1.5	23	17
	7.5	32	-17
2	-	17	-
	1.5	19	-11
	7.5	17	-4.3

阻害（%）＝（1-（R_{Ei} - 1）/（R_{Ea} - 1）× 100
R_{Ei}：阻害剤の存在下における基質の排出比
R_{Ea}：阻害剤の非存在下における基質の排出比

2.6.5.15.Q サフィナミド及びその代謝物による BCRP に対する in vitro 阻害

被験物質: サフィナミド, NW-1153, NW-1689, NW-1689AG, NW-1199
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-17
試験番号:DMPK-103-10

試験番号/GLP 適用: DMPK-103-10/non-GLP
被験物質(濃度): サフィナミド (～100 μM 塩); NW-1689 (～100 μM); NW-1689AG, NW-1153 及び NW-1199 (～50 μM),
試験系: MDCKII-BCRP 及び MDCKII 細胞
分析法: 液体シンチレーションカウンター

結果: DMPK-103-10

濃度	^{14}C-PhIP 輸送の減少率 (%)（平均）					^{14}C-PhIP 輸送の阻害率 (%)（平均）				
(μM)	サフィナミド	NW-1689	NW-1689AG	NW-1153	NW-1199	サフィナミド	NW-1689	NW-1689AG	NW-1153	NW-1199
0.5	-	-	3.8[a]	-18	5.0	-	-	3.0[a]	-12	2.9
1	24	19	-	-	-	16	18	-	-	-
1.5	-	19	-	-	-	-	11	-	-	-
3	-	29	-	-	-	-	24	-	-	-
5	3.4	44	-	-	-	0.3	60	-	-	-
10	18	52	-	-	-	7.0	77	-	-	-
15	31	-	-	-	-	25	-	-	-	-
30	38	-	-	-	-	33	-	-	-	-
50	36	50	18/-3.2[a,b]	-8.4/-4.0[b]	15/-3.2[b]	46	74	10/-2.9[a, b]	-3.5/-15[b]	0.0/3.2[b]
100	45/51[b]	55/47[b]	-	-	-	54/75 [b]	74/68 [b]	-	-	-
$IC_{50,\ app}$ ± S.E (μM)	-	2.3 ± 2.3	>50	>50	>50	43 ± 23	3.7 ± 0.5	>50	>50	>50

減少率（%） = （1 － R_{Ei} / R_{Ea}） × 100
阻害率（%） = （1 － 総取り込み $_i$ / 総取り込み $_a$） × 100
R_{Ei}：阻害剤の存在下における排出比
R_{Ea}：阻害剤の非存在下における排出比
総取り込み a：阻害剤の非存在下における $Papp^{B-A}$ －$Papp^{A-B}$
総取り込み i：阻害剤の存在下における $Papp^{B-A}$ －$Papp^{A-B}$
a 実際の濃度は、不安定性のため、20%低かった可能性がある
b 値は 2 回の独立した実験で得た
－：測定せず

2.6.5.15.R サフィナミド及びその代謝物とヒト BSEP トランスポーターの in vitro 相互作用

被験物質: サフィナミド, NW-1153, NW-1689, NW-1689AG, NW-1199
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-18
試験番号:DMPK-55-09

試験番号/GLP 適用:	DMPK-55-09/non-GLP
試験の種類:	ヒト胆汁酸塩排出ポンプ (BSEP)を用いたベシクル輸送阻害アッセイ (in vitro)
被験物質:	サフィナミド, NM-1153, NW-1689, NW-1689AG, NW-1199
試験系:	ヒト BSEP-Sf9 細胞から調製したベシクル
分析法:	液体シンチレーションカウンター
測定数:	n=3

結果: DMPK-55-09

基質(μM)	阻害剤(μM)	ウェル数	溶媒コントロールを参照した取り込み(%)[a] バッチ 1 平均値 ± 標準偏差	溶媒コントロールを参照した取り込み(%)[a] バッチ 2 平均値 ± 標準偏差	溶媒コントロールを参照した阻害(%)[a] バッチ 1	溶媒コントロールを参照した阻害(%)[a] バッチ 2
タウロコール酸 (2 μM)	サフィナミド(3 μM)[b]	3	97 ± 4	105 ± 7	3.4	-
	サフィナミド(300 μM)	3	98 ± 8	118 ± 8	1.9	-
	NW-1689 (3 μM)[b]	3	98 ± 2	115 ± 3	1.7	-
	NW-1689 (300 μM)	3	57 ± 6	66 ± 3	43	34
	NW-1689AG (1 μM)	3	97 ± 8	119 ± 2	3.5	-
	NW-1689AG (100 μM)	3	95 ± 4	105 ± 4	5.5	-
	NW-1199 (1 μM)[b]	3	101 ± 3	118 ± 7	-	-
	NW-1199 (100 μM)	3	97 ± 4	107 ± 2	2.6	-
	NW-1153 (3 μM)[b]	3	90 ± 4	122 ± 9	9.8	-
	NW-1153 (300 μM)	3	92 ± 3	120 ± 6	8.0	-
	サフィナミド, NW-1689, NW-1689AG, NW-1199 に対するシクロスポリン A (20 μM)	3	6.0 ± 3.4	4.0 ± 1.3	94	96
	NW-1153 に対するシクロスポリン A (20 μM)	3	4.3 ± 3.3	7.6 ± 1.3	96	92

付帯情報：サフィナミド、NW-1689、NW-1689AG、NW-1199 は DMSO（pH 7.4）に溶解した。一方、NW-1153 は MeOH/HCl（pH 7.0）に溶解した。

a：取込みの値は、被験物質の非存在下における輸送を 100%（阻害なし）、ATP の非存在下において測定した輸送を 0%（トランスポーター活性なし）と規定し、相対的スケールで示した。

b：原液の濃度の確認は実施していない（DMPK16-10 参照）

2.6.5.15.S OATP1B1 による BSP 取込みの in vitro 阻害

被験物質:サフィナミド, NW-1153, NW-1689, NW-1689AG, NW-1199
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-19
試験番号:DMPK-84-08

試験番号/GLP 適用:	DMPK-84-08/non-GLP
試験の種類:	OATP1B1 による BSP 取り込みの阻害（in vitro）
被験物質:	サフィナミド, NW-1153, NW-1689, NW-1199, NW-1689AG
試験系:	OATP1B1 発現型・非発現型の HEK 細胞
分析法:	液体シンチレーションカウンター

結果

基質	阻害剤	ウェル数	取り込み量 (pmol/mg protein/min) 平均値 ± 標準偏差	阻害率(%)
^{3}H-BSP (0.05 µM)	-	6	2.5 ± 0.1	
^{3}H-BSP (0.05 µM)	プラバスタチン(100 µM) (陽性対照)	6	1.5 ± 0.1	42
^{3}H-BSP (0.05 µM)	サフィナミド(50 µM)	6	2.5 ± 0.1	3
^{3}H-BSP (0.05 µM)	NW-1153 (20 µM)	6	2.3 ± 0.1	9
^{3}H-BSP (0.05 µM)	NW-1199 (120 µM)	6	2.1 ± 0.1	17
^{3}H-BSP (0.05 µM)	NW-1689 (2 µM)	6	2.5 ± 0.1	3
^{3}H-BSP (0.05 µM)	NW-1689AG (30 µM)	6	2.3 ± 0.1	9
^{3}H-BSP (0.05 µM)	NW-1153 前処置 (20 µM)	6	2.1 ± 0.1	15
^{3}H-BSP (0.05 µM)	NW-1689 前処置 (2 µM)	6	2.1 ± 0.2	16

2.6.5.15.T HEK 細胞におけるサフィナミド及びその代謝物の OATP1B3 による BSP 取込みに対する in vitro 阻害

被験物質: サフィナミド, NW-1153, NW-1689, NW-1689AG, NW-1199
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-20
試験番号:DMPK-142-10

試験番号/GLP 適用	DMPK-142-10/non-GLP
試験系	OATP1B3 又はコントロールベクターを導入した HEK 細胞
被験物質	サフィナミド, NW-1153, NW-1689, NW-1689AG, NW-1199
分析法	液体シンチレーションカウンター

結果: DMPK-142-10

試験実施日	阻害率(%)							
	サフィナミド (50 μM)	NW-1153 (20 μM)	NW-1689 (2 μM)	NW-1689AG (34 μM)	NW-1199 (134 μM)	NW-1153 前処置 (20 μM)	NW-1689 前処置 (2 μM)	テルミサルタン (5 μM)
09.02.2011	8	11	2	5	15	24	24	84
16.02.2011	-4	-3	-12	-7	1	2	-14	80
平均値	2	4	-5	-1	8	13	5	82
標準偏差	6	7	7	6	7	11	19	2

2.6.5.15.U サフィナミド：HEK 細胞における OTC2 の in vitro 阻害

被験物質: サフィナミド
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-21
試験番号:DMPK-166-07

試験番号/GLP 適用:	DMPK-166-07/non-GLP
被験物質:	サフィナミド
試験材料:	OCT2 を安定的に発現しているヒト胎児由来腎（HEK）細胞及びコントロールベクターを導入した HEK 細胞 放射ラベルした典型基質 MPP^+
分析法:	液体シンチレーションカウンター

結果: DMPK-166-07

阻害剤	OCT2-HEK 取り込み [a]		ベクター-HEK 取り込み [a]		OCT2-HEK － コントロールベクター-HEK			
					取り込み [a]		輸送（%）	
	実験 1	実験 2	実験 1	実験 2	実験 1	実験 2	実験 1	実験 2
Control	2.68 ± 0.27	2.23 ± 0.06	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.02	2.51 ± 0.27	2.07 ± 0.07	100 ± 11	100 ± 3
50 μM キニジン	nd	1.73 ± 0.04	nd	0.09 ± 0.01	nd	1.64 ± 0.04	nd	79 ± 2
100 μM キニジン	1.61 ± 0.16	1.27 ± 0.09	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.01	1.54 ± 0.16	1.20 ± 0.09	62 ± 6	58 ± 5
30 μM β-エストラジオール	2.04 ± 0.30	nd	0.11 ± 0.03	nd	1.93 ± 0.31	nd	77 ± 12	nd
10 μM デシニウム-22	0.16 ± 0.03	nd	0.09 ± 0.01	nd	0.07 ± 0.04	nd	3 ± 1	nd
1 μM サフィナミド	3.04 ± 0.51	nd	0.18 ± 0.00	nd	2.86 ± 0.51	nd	114 ± 20	nd
10 μM サフィナミド	2.88 ± 0.27	1.96 ± 0.06	0.21 ± 0.04	0.20 ± 0.06	2.67 ± 0.27	1.77 ± 0.09	107 ± 11	85 ± 4
50 μM サフィナミド	2.28 ± 0.12	1.70 ± 0.19	0.12 ± 0.02	0.14 ± 0.01	2.16 ± 0.12	2.19 ± 0.19	86 ± 45	106 ± 9
100 μM サフィナミド	1.97 ± 0.11	1.66 ± 0.01	0.15 ± 0.08	0.10 ± 0.02	1.82 ± 0.13	1.56 ± 0.02	73 ± 5	75 ± 1
200 μM サフィナミド	nd	0.94 ± 0.17	nd	0.08 ± 0.01	nd	0.86 ± 0.17	nd	42 ± 8
500 μM サフィナミド	nd	0.65 ± 0.10	nd	0.06 ± 0.01	nd	0.59 ± 0.10	nd	29 ± 5
750 μM サフィナミド	nd	0.53 ± 0.06	nd	0.06 ± 0.01	nd	0.47 ± 0.06	nd	23 ± 3
1000 μM サフィナミド	nd	0.37 ± 0.04	nd	0.03 ± 0.00	nd	0.34 ± 0.04	nd	17 ± 2

付帯情報：サフィナミドは、1 μM 及び 10 μM で、OCT2 が媒介する MPP^+輸送を阻害しないか、わずかに阻害したのみであった。高濃度では、サフィナミドは濃度依存的に MPP^+輸送を阻害した。100 μM において、サフィナミドによる MPP^+取込みの阻害は 30%以下であった。およその IC_{50} 値は 130 ± 20 μM と算出された。

a：（pmol/mg 蛋白質/分）　　nd：測定せず

2.6.5.15.V HEK 細胞におけるサフィナミド及びその代謝物による OAT1、OAT3 及び OAT4 の in vitro 阻害

被験物質: サフィナミド, NW-1153, NW-1689, NW-1689AG, NW-1199
CTD における記載箇所: 4.2.2.6-22
試験番号: DMPK-53-10 (PCT_003-10)

試験番号(対応する別の報告書番号)/GLP 適用:	DMPK-53-10 (PCT_003-10) / non-GLP
試験系 :	OAT1, OAT3 及び OAT4 発現 HEK 細胞
被験物質/濃度:	サフィナミド (50 µM), NW-1153 (20 µM), NW-1689 (2 µM), NW-1689AG (30 µM), NW-1199 (120 µM)
基質:	OAT1: p-アミノ馬尿酸（PAH） OAT3: ^{3}H-エストロン 3-硫酸（ES） OAT4: ^{3}H-エストロン 3-硫酸（ES)
陽性コントロール阻害剤:	OAT1: グリベンクラミド OAT3: インドメタシン OAT4: スルホブロモフタレイン 2 ナトリウム水和物（BSP）
測定方法:	液体シンチレーションカウンター
測定回数:	2
N 数:	3

結果: DMPK-53-10

評価化合物	濃度(μM)	測定 No.	OAT1			OAT3			OAT4		
			基質	濃度(μM)	阻害率（%）	基質	濃度(μM)	阻害率（%）	基質	濃度(μM)	阻害率（%）
サフィナミド	50	1	PAH	135	-39	ES	16	32	ES	13	8.2
		2			-29			21			2.1
		1		13.5	-14		1.6	41		1.3	-3.3
		2			-12			36			-7.0
NW-1153	20	1	PAH	135	-36	ES	16	17	ES	13	13
		2			-6			-5			-6.3
		1		13.5	-12		1.6	13		1.3	4.9
		2			-23			9.2			-3.0
NW-1689	2	1	PAH	135	-10	ES	16	10	ES	13	11
		2			10			-10			7.5
		1		13.5	-10		1.6	6.4		1.3	2.1
		2			-21			3.5			-9.1
NW-1689AG	30	1	PAH	135	-42	ES	16	22	ES	13	19
		2			4			-30			8.8
		1		13.5	-7.2		1.6	30		1.3	7.6
		2			-19			29			-6.0
NW-1199	120	1	PAH	135	-30	ES	16	18	ES	13	16
		2			2			-13			12
		1		13.5	-17		1.6	10		1.3	7.1
		2			-25			4.8			-11
グリベンクラミド	20	1	PAH	135	73	実施せず			実施せず		
		2			66						
		1		13.5	57						
		2			55						
インドメタシン	10	1	実施せず			ES	16	86	実施せず		
		2						74			
		1					1.6	84			
		2						82			
BSP	5	1	実施せず			実施せず			ES	13	90
		2									93
		1								1.3	93
		2									95

付帯情報 : サフィナミド及び 4 種類の代謝物（NW-1153、NW-1199、NW-1689 及び NW-1689AG）は、形質導入した細胞において、OAT1 及び OAT4 に対する重要な阻害を示さなかった。OAT3 を形質導入した細胞において、サフィナミドは ^{3}H-ES 取込みをある程度阻害した（16 μM ES で 27%及び 1.6 μM ES で 39%）。^{3}H-ES 1.6 μM では、OAT3 を形質導入した細胞において阻害（30%）を示したのは代謝物である NW-1689AG のみであったが、^{3}H-ES を 16 μM に設定した実験では、影響は認められなかった。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

該当する試験なし。