2.6.4 薬物動態試験の概要文

目次

表一覧 2
図一覧 2
略語一覧 3
1 まとめ 5
2 分析方法 13
3 吸収 15
3.1 物理化学的性質 15
3.2 透過性 15
3.3 単回投与時における薬物動態 15
3.4 反復投与時における薬物動態 16
4 分布 18
4.1 蛋白結合、脳内及び血球移行 18
4.2 組織内分布 19
5 代謝 22
6 排泄 26
7 薬物動態学的薬物間相互作用 28
7.1 テポチニブが引き起こす薬物間相互作用 28
7.1.1 CYP 阻害及び誘導 28
7.1.2 UGT 阻害 30
7.1.3 トランスポーター阻害 31
7.2 テポチニブが受ける薬物間相互作用 33
8 その他の薬物動態試験 34
8.1 PK/PD 及び腫瘍増殖モデル 34
9 考察及び結論 35
10 図表 37
11 引用文献 37

表一覧

表 1 非臨床薬物動態試験の概要 7
表 2 生物学的分析法の検証試験の概要 14
表 3 血漿中長期保存安定性の概要 14
表 4 各動物種にテポチニブを投与したときの PK パラメータ 16
表 5 ヒトにおけるテポチニブの PK パラメータ 16
表 6 雌雄ラット及びイヌに粒子径の異なるテポチニブ原薬を投与したときに得られた曝露量（AUC）及び AUC 比の比較 18
表 7 各動物種の in vitro における代謝物パターン及びラット並びにヒトに ^{14}C-テポチニブを経口投与したときの代謝物パターンの比較 23
表 8 雌雄 Wistar ラットに ^{14}C-テポチニブを経口及び静脈内投与したときの総放射活性の排泄及び分泌量（DMPK 155-[redacted] 試験） 27
表 9 テポチニブ及び MSC2571109A による CYP mRNA 誘導 28
表 10 in vitro におけるテポチニブ及び MSC2571109A による CYP 直接阻害 29
表 11 in silico におけるテポチニブ及び MSC2571109A による CYP 阻害及び誘導並びにその臨床関連性のリスク評価 29
表 12 テポチニブ及び MSC2571109A による UGT 阻害 31
表 13 in vitro におけるテポチニブのトランスポーター阻害及びその臨床関連性 32
表 14 in vitro における MSC2571109A のトランスポーター阻害及びその臨床関連性 33

図一覧

図 1 雄 Lister Hooded Rat に 4 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを単回経口投与したときの投与 1 時間後における標識体の組織内分布 21
図 2 雄 Lister Hooded Rat に 4 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを単回経口投与したときの投与 24 時間後における標識体の組織内分布 21
図 3 ラット、イヌ及びヒトに ^{14}C-テポチニブを経口投与したときの推定代謝経路 26

略語一覧

AAG	alpha 1 acid glycoprotein	α_1-酸性糖蛋白
AUC	area under the concentration vs time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-t}	area under the concentration vs time curve from zero to the time	0 から t 時間後における血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{τ}	area under the plasma concentration time curve over a dosing interval	投与間隔ごとの血漿中濃度-時間曲線下面積
BCS	biopharmaceutics classification system	生物薬剤学分類システム
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
C_B/C_P	blood-to-plasma ratio	血漿中濃度に対する血中濃度比
CL	total clearance	全身クリアランス
CL_p	plasma clearance	血漿クリアランス
C_{max}	maximum concentration	最高血漿中濃度
$C_{max, ss}$	maximum concentration at steady state	定常状態における最高血漿中濃度
CV	coefficient of variation	変動係数
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
DDI	drug drug interaction	薬物間相互作用
Dv	Deviation	偏差
EC_{50}	half maximal effective concentration	50%効果濃度
E_{max}	maximal effect	最大効果
EMA	European Medical Agency	欧州医薬品庁
F	Bioavailability	バイオアベイラビリティ
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FIM	first in man	ヒト初回投与
f_m	fraction metabolized	代謝分率
FMO	flavin containing onooxygenase	フラビン含有モノオキシゲナーゼ
f_u	fraction unbound	非結合型分率
$f_{u, br}$	fraction unbound to brain tissue homogenate	脳組織ホモジネートにおける非結合型分率
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン

IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IV	Intravenous	静脈内
$K_{BC/plasma}$	distribution coefficient blood cells to plasma	血球/血漿分配係数
K_i	constant of inhibition	阻害定数
K_m	Michaelis constant	ミカエリス定数
KP_{uu}	unbound brain-to-plasma partition ratio	脳／血漿間非結合型薬物濃度比
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
LSC	liquid scintillation counter	液体シンチレーションカウンター
MATE	multidrug and toxic compound extrusion	多剤排出輸送体
NA	Not appricable	該当なし
NR	Not reported	報告せず
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporter peptide	有機アニオントランスポーターペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PD	Pharmacodynamic	薬力学
P-gp	P-glycoprotein	P 糖蛋白
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
PO	per oral	経口
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RP2D	recommnded phase II dose	臨床第 II 相試験の推奨用量
$t_{1/2}$	half-life	消失半減期
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティックス
t_{max}	time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TR	total radioactivity	総放射活性
UGT	UDP-glucuronosyl transferase	UDP-グルクロン酸転移酵素
V_{max}	maximum velocity	最大反応速度
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積
V_z	volume of distribution	分布容積

1 まとめ

テポチニブ（MSC2156119J）を単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態（PK）は NMRI マウス（薬理試験でも使用）、Wistar ラット、ビーグル犬（毒性試験でも使用）及びカニクイザルを用いて評価した。^{14}C-テポチニブを投与したときの in vivo 分布及び排泄はげっ歯類を用いて評価した。テポチニブのトキシコキネティックス（TK）は Wistar ラット及びビーグル犬を用いて GLP 適合下の反復投与毒性試験により評価した。臨床第 II 相試験の推奨用量（RP2D）の選択を指示するため、薬物動態／薬力学（PK/PD）及び PK-有効性モデルは KP4 担癌マウスから得られたデータに基づいて構築した。ラットにテポチニブを経口投与したときの PK 試験で用いた剤形はラット反復経口投与毒性試験と同じ（溶媒：0.25% Methocel 水溶液）であった。イヌにテポチニブを経口投与したときの PK 試験で用いた剤形はラット反復経口投与毒性試験と同じであったが、イヌ反復経口投与毒性試験で用いた剤形は硬ゼラチンカプセルであった。吸収及び曝露量に関する粒子径の影響はラット及びイヌ PK 並びに毒性試験により評価した。種々のサンプル中のテポチニブ及びヒトにおける重要なエナンチオマー代謝物 M506 は液体クロマトグラフィータンデム質量分析法（LC-MS/MS）、液体シンチレーションカウンター（LSC）及び定量的全身オートラジオグラフィ（QWBA）を用いて測定した。

テポチニブの in vitro 代謝は肝細胞、肝ミクロソーム及び遺伝子組み換えヒトチトクローム P450（CYP）を用いて、in vivo 代謝はラット、イヌ及びヒトを用いてそれぞれ評価した。血漿蛋白結合、血球移行、肝取り込みトランスポーター、ヒト薬物代謝酵素及びトランスポーターに関する相互作用の試験を実施し、臨床におけるテポチニブが誘発する又は標的となる薬物間相互作用（DDI）の可能性を評価した。ヒト循環血中における主代謝物 MSC2571109A（代謝物 M506 の R 体）はヒト血漿蛋白結合、血球移行、ヒト薬物代謝酵素及びトランスポーターの阻害剤として、DDI の可能性を評価した。毒性試験で使用した動物種であるイヌの血漿、胆汁及び肝組織サンプル、及びラットの血漿サンプルについて、テポチニブを経口投与したときのラセミ代謝物 M506 の曝露量を検討するために探索的な分析をおこなった。

マウス、ラット、イヌ及びサルにテポチニブを静脈内投与したときの PK データから、テポチニブの全身クリアランス（CL）はマウスにおいて中程度、ラット及びイヌにおいて高値、サルにおいて低値であることが示された。定常状態における分布容積（V_{ss}）が全ての動物種において高値であったことから、テポチニブは広範囲に組織に移行することが示唆された。全ての動物種における消失半減期（$t_{1/2}$）は短～中程度であった。テポチニブを経口投与したとき、マウスにおいては速やかに吸収されたが、ラット、イヌ及びサルにおいては緩やかに吸収された。全ての動物種における経口投与時のバイオアベイラビリティ（F）は中程度であった。

ラットにおける曝露量は用量比を下回る増加を示し、イヌにおいては概ね用量比例性を示した。ラットにテポチニブを反復経口投与したとき、全投与群でわずかな蓄積が認められた。用量依存的蓄積はイヌにおいても認められ、全試験を通して最高用量群における蓄積比は 2.4～6.9 倍であった。曝露量は雄ラットより雌ラットの方が高値であり、全ての試験を通して血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）の雄／雌比は 0.36～0.9 であった。イヌにおいて、性差は認められなかった。ラット及びイヌ TK 試験から、粒子径のより小さい製剤を投与したとき、テポチニブの曝露量は 1.4～6.5 倍高値になることが示唆された。

組織内分布及びマスバランスはラットを用いて評価した。ラットに ^{14}C-テポチニブを静脈内投与したとき、薬剤関連放射活性は主に小腸及び胃腸管壁の粘膜層（及びその内容物）で認められたことから、薬剤関連放射活性は胆汁排泄され、消化管に分泌することが示唆された。ラットに ^{14}C-テポチニブを経口投与したとき、薬剤関連放射活性は小腸から吸収され、ほとんどの放射活性は胃腸管内容物及びその組織壁で認められた。また、血流量の多い組織における放射活性濃度も最高値であった。薬剤関連放射活性は投与 24 時間後までに主に糞中排泄され、98.5%の放射活性が排泄物及び大腸内容物より検出された。薬剤関連放射活性はメラニンに対して高い親和性を示し、メラニン含有組織からの消失は緩やかであった。（推定 $t_{1/2}$ は 163 時間）。数種の放射活性が脳及び脊髄で検出された。

イヌにテポチニブを経口投与したとき、薬剤関連放射活性は主に糞中に排泄され、投与 24 時間後、全放射活性の 91.9%が排泄物中（ケージ洗浄液を含めると 92.6%）より検出された。特に糞中からは 91.4%が検出された。

担癌マウスに ^{14}C-テポチニブを経口投与したとき、薬剤関連放射活性は胃腸管から吸収され、腫瘍組織においても検出された。薬剤関連放射活性は胃腸管において最高値を示し、そのほとんどは投与 24 時間以内に排泄されたが、腫瘍組織においては投与 24 時間後も検出された。

動物において、テポチニブは血漿に比べて赤血球に移行しやすく、移行は濃度非依存的であった。ヒトにおいて、テポチニブの血球移行はわずかに濃度依存性（高濃度で増加）を示し、1 μM で血漿及び血球に同程度移行した。このことから、臨床でヒトにテポチニブを投与したときの定常状態における平均血漿中濃度である 2.23 μM での血漿中濃度と全血中濃度は同程度である。ヒト循環主代謝物である MSC2571109A は血漿及び血球にほぼ同程度移行し、濃度非依存的であった。全動物種において、テポチニブの蛋白結合率は中程度～高値であり、サル及びヒトにおいて、非結合分画は濃度依存的増加が認められたが、その他の動物においては認められなかった。全動物種において、MSC2571109A の蛋白結合率は高値であり、濃度非依存的であった。テポチニブは全取り込み量のうち、40.9%が肝細胞に能動的に取り込まれた。しかしながら、OATP 及び OCT を過剰発現した HEK 細胞を用いた試験において、肝取り込みが認められなかったことから、テポチニブはこれらトランスポーターを介して能動的に輸送されないことが証明された。

ヒト in vitro において、テポチニブは代謝が主消失経路ではないが、テポチニブは第 I 相（N-酸化及び脱メチル化）及び第 II 相（直接グルクロン酸抱合、ヒト特異的）反応によって代謝された。酸化代謝は主に CYP3A4 及び 2C8 を介し、N-オキシドのジアステレオマーの生成はその他の薬物代謝酵素（例、フラビン含有モノオキシゲナーゼ（FMO））も関与している可能性が示唆された。ヒトマスバランス試験において、10 種類の第 I 相及び第 II 相代謝物が検出された。CYP 及び細胞質性代謝酵素による 2 段階の生体内変換により生成したキラル O-酸化代謝物 M506 は循環血漿中で検出された唯一の主代謝物であり、総放射活性の 40.4%、親化合物であるテポチニブの 74.9%の曝露量に相当した。M506 の R 体（MSC2571109A）は主代謝物であり、テポチニブの曝露量の 64.6%を占めた。予測されたヒト特異的直接グルクロン酸抱合体（M668）は少量（全放射活性の 4.23%。すなわちテポチニブの 10%以下）認められ、2009 年に発出された「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイドライン」（ICH M3 (R2)）及び「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（ICH S9）に基づいて、この第 II 相代謝物の安全性評価は必要ないと判断した。ラットにおいて、N-オキシド代謝物は M506 同様、血漿中で検出された。ラット及びイヌにおける曝露量は低値であったことから、N-オキシド代謝物は不均衡代謝物であり、ヒト特

異的代謝物でないことが示唆された。これは、ラット及びイヌはヒト安全性評価のために実施される毒性試験に適した動物種であることを確認するものである。

トランスポーター活性は Caco-2 細胞単層及び MDR1-LLC-PK1 細胞を用いて同定し、テポチニブは P-糖蛋白（P-gp）の基質であることが示唆された。

ラットにおいて、胆汁排泄は未変化体の主消失経路であり、尿中より検出された未変化体は微量であった。ヒトにおいても、主排泄経路は糞中であり、尿中排泄の関与は少なかった。糞中及び尿中より検出された未変化体は総放射活性のそれぞれ 45%、7%であった。糞中より検出された M506 は総放射活性のわずか 3%であった。M506 が親化合物に比べて血漿中における曝露量が高値であったこと及び血漿中主代謝物であると考えられたにもかかわらず、M506 への代謝は主代謝経路ではないことが示唆された。

in vitro 試験の静的薬物速度論モデルから、RP2D（500 mg）投与時におけるテポチニブ及び MSC2571109A は mRNA レベルにおいて CYP3A4 を誘導する可能性を有し、MSC2571109A は CYP3A4/5 によって代謝される薬物の CL を低下させる可能性を有する。テポチニブ及び MSC2571109A は in vitro において、数種の UDP-グルクロン酸転移酵素（UGT）を阻害した。臨床曝露量を考慮すると、UGT1A1/6/9 及び 2B17 に対する薬物間相互作用のリスクは考えにくい。一方、他の UGT アイソフォームについてはリスクから除外することが出来る。in vitro において、テポチニブは臨床関連濃度で P-gp、乳癌耐性蛋白（BCRP）、OCT1、多剤排出輸送体（MATE）1 及び MATE2 の阻害薬であることが示唆された。また、M506 の R 体（MSC2571109A）について、OCT1、OCT2 及び MATE2K の基質である薬物との併用による臨床的意味のある DDI の可能性を除外することは出来ない。

テポチニブ及び MSC2571109A を用いて実施した非臨床薬物動態の概要を表 1 に示す。

表 1　　非臨床薬物動態試験の概要

試験の種類	試験番号	動物種又は試験系	用量又は濃度	GLP 適合	主な所見
吸収	DMPK 52-[redacted]	MDR-LLC-PK1 細胞	0.3～1.5 μM	非適	P-gp の基質。排出比はテポチニブ濃度の増加と共に減少
	DMPK 140-[redacted]	Caco-2/TC7 細胞	1.8～100 μM	非適	みかけ透過性は中程度（P_{app}: 160 nm/s メトプロロールより 2 倍低値）
	DMPK 74-[redacted]	マウス	2 mg/kg（iv） 5 mg/kg（po）	非適	中程度の CL、高 V_{ss}、中程度の $t_{1/2}$、経口 F は 32～41%
	DMPK 75-[redacted]	ラット	3 mg/kg（iv） 6 mg/kg（po）	非適	高 CL、高 V_{ss}、中程度の $t_{1/2}$、F は 21～55%
	DMPK 106-[redacted]	ラット	30 mg/kg	非適	[redacted]製剤にすることで同等の曝露量、高 C_{max}、ばらつき小
	DMPK 72-[redacted]	イヌ	2 mg/kg（iv） 5 mg/kg（po）	非適	高 CL、高 V_{ss}、中程度の $t_{1/2}$、F は 22%
	DMPK 73-[redacted]	サル	2 mg/kg（iv） 5 mg/kg（po）	非適	中程度の CL、高 V_{ss}、中程度の $t_{1/2}$、F は 25%
	DMPK 90-[redacted]	サル	15 mg/kg（po）	非適	摂食下で低曝露量になる傾向がわずかに認められた。しかしながら、ばらつきが大きい

試験の種類	試験番号	動物種又は試験系	用量又は濃度	GLP 適合	主な所見
					ため、解釈が困難であった。
分布	DMPK 144-[redacted]	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、ヒト（血漿）	0.3～10 μM	非適	種差は小さく、血漿蛋白結合率は高値であった。ヒト f_u において軽微な濃度依存性が認められた（1.6～3.4%）。
	DMPK 133-[redacted]	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、ヒト（全血）	0.1～1 μM	非適	動物と異なり、ヒトでは主に血漿に分布し、その $K_{BC/plasma}$ は 0.6～1.0 であったことから、血漿中及び血中テポチニブ濃度は同程度であった。
	[redacted]MERCDP1（DMPK 35-[redacted]）	ラット（脳組織）	0.3～3.0 μM	非適	ラット脳組織における結合率は極めて高値（$f_{u,br}$: ～0.004）であった
	DMPK 94-[redacted]	ヒト（血漿）	0.1～10 μM	非適	主結合蛋白質は HSA であり、補体 C3、C4 及びセルロプラスミンも寄与する可能性がある。
	DMPK 55-[redacted]	ヒト（血漿、蛋白溶液）	1 μM	非適	血漿における主結合蛋白質は HSA 及び AAG であった。
	DMPK 171-[redacted]	ヒト（肝細胞）	0.1～1 μM	非適	能動的な肝取り込みには OATP 及び OCT が関与した
	DMPK 149-[redacted]	マウス	6 mg/kg（po）	非適	腫瘍組織における放射活性は投与 24 時間後も検出された（テポチニブのみ）
	DMPK 38-[redacted]	ラット	2 mg/kg（iv） 4 mg/kg（po）	非適	放射活性が高値な組織は胃腸管、中程度は肝臓、肺、腎臓及び眼であった。テポチニブ又は代謝物はメラニンと結合した。
	DMPK 65-[redacted]	ラット	4 mg/kg（po）	非適	胃腸管の放射活性が最高値であり（po）、肝臓、肺、腎臓（投与 6 時間後）及びリンパ節（投与 24 時間後）においても高値であった。
	DMPK 128-[redacted]	ラット	3.66 mg/kg/h（持続 iv）	非適	定常状態における脳／血漿比は 2.87 であった。
	[redacted]-GR031-P0	マウス、ラット、イヌ、ヒト（血漿）；蛋白溶液	0.2～10 μM[a]	非適	MSC2571109 の種差は小さく、血漿蛋白結合率は高値であった。ヒト f_u は 1.2%であり、血漿中の主結合蛋白質は HSA であった。
	WBD[redacted]-001	ヒト（全血）	0.2, 2 μM[a]	非適	MSC2571109 は主に血漿中に分布した。ヒト全血における C_B/C_P は 0.77 であり、明らかな濃度依存性は認められなかった。
代謝	DMPK 96-[redacted]	マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、ヒト（肝細胞）	0.8～15 μM	非適	ヒトにおける主代謝物は 2 種類 N オキシドのジアステレオマー及び直接（おそらく N-）グルクロン酸抱合体（ヒト特異的代謝物であるが、毒性学的懸念はない）であった。
	DMPK 87-[redacted]	ヒト（ミクロソー	0.5～100 μM	非適	CYP3A4 及び 2C8 がテポチニ

試験の種類	試験番号	動物種又は試験系	用量又は濃度	GLP 適合	主な所見
		ム、rCYPs）			ブの酸化的代謝（第 I 相反応）に関与した。
	XT[redacted]4049 （DMPK 49-[redacted]）	ヒト（rCYPs）	0.1～10 μM 1.5～150 μM 10～200 μM	非適	CYP3A4: K_m=89 μM、V_{max}＝18 pmol/min/pmol P450 CYP2C8: K_m=93 μM、V_{max}＝3.7 pmol/min/pmol P450
	XT[redacted]4053 （DMPK 65-[redacted]）	ヒト（肝細胞）	1 μM	非適	肝細胞において、CYP3A4 及び 2C8 はテポチニブの酸化的代謝にほとんど寄与しなかった。
	DMPK 35-[redacted]	ラット	50 mg/kg	非適	テポチニブ以外で血漿循環代謝物として検出されたのは N-酸化代謝物のみだった。
	DMPK 41-[redacted]	ヒト	100/145 mg （po）	非適	N-オキシドのジアステレオマー（M508-1 及び-2）は微量のヒト循環血漿代謝物であった。
	DMPK 53-[redacted]	ヒト	100/145 mg （po）	非適	M668 は主血漿代謝物であり、M478、M508-1 及び-2 は微量循環代謝物であった。
	[redacted]-GR004-C0	ヒト	500 mg/2.5MBq （po）	非適	総放射活性の 13%は尿中、71%は糞中より排泄された。10 種類の代謝物が同定され、M506 が循環血中主代謝物であった。全排泄経路の 25%以上が関与する排泄経路は認められなかった。
	[redacted]GR009-C0	ヒト	500 mg （po）	非適	健康被験者において、M506 のエナンチオマーが検出された。そのうち、R 体（MSC2571109A）が循環血における主代謝物であった（テポチニブの $AUC_{0\text{-}240h}$ の 65%）。
	G-A-VIT[redacted]-006 ([redacted]-GR086-P0)	ヒト（肝細胞、ミクロソーム、rCYPs）	10 μM	非適	M506 は 2 段階の代謝を経て生成され、CYP 及び細胞質性酵素が関与している可能性がある
	G-A-VIV[redacted]-023 ([redacted]-DA0487-0)	イヌ	10 mg/kg	非適	MSC2571109A 及び MSC2571107A はイヌ血漿で認められ、その濃度はテポチニブに比べて低値であった。全放射活性の 91.9%（ケージ洗浄液を含めると 92.6%）が糞中より検出され、特に糞中において 91.4%検出された。
排泄	DMPK 155-[redacted]	ラット	2 mg/kg（iv） 4 mg/kg（po）	非適	テポチニブを静脈内及び経口投与したとき、胆汁排泄が主排泄経路であり、そのほとんどが投与 24 時間以内に排泄された。
薬物相互作用 （薬物代謝酵素）	XT[redacted]5043 (DMPK 68-[redacted])	ヒト（ミクロソーム）	0.03～49.5 μM	非適	CYP 阻害作用は弱～中程度であり、時間依存的阻害に対する根拠はない又は少なかった。

試験の種類	試験番号	動物種又は試験系	用量又は濃度	GLP 適合	主な所見
	MS-062008-02 （DMPK 51-[redacted]）	ヒト（肝細胞）	0.1～5 μM	非適	関連する酵素誘導（活性レベル）は認められなかった。すなわち、代表的酵素誘導剤の20%未満であった（臨床関連性はない可能性が高い）。
	XT[redacted]5037 ([redacted]-GR030-P0)[a]	ヒト（ミクロソーム）	0.02～15 μM	非適	MSC2571109A は CYP 阻害剤であり、CYP3A4 を時間依存的に阻害した。
	XT[redacted]3099 ([redacted]-QPD045-P0)[a]	ヒト（肝細胞）	0.003～5 μM	非適	MSC2571109A は CYP3A4 及び 2B6 を誘導した。
	XT[redacted]5024[a] ([redacted]-DA0272-0)	ヒト（rUGTs）	テポチニブ又は MSC2571109A: 0.015～15 μM	非適	テポチニブは UGT1A9 及び 2B17 を阻害し、MSC2571109A は UGT1A1、1A3、1A4、1A9、2B15 及び 2B17 を阻害した。
	[redacted]-QPD200-P0[a]	in silico	-	非適	MSC2571109A は CYP2B6 を臨床上有意に誘導しないと予測した。
	[redacted]-QPD211-P0[a]	in silico	-	非適	MSC2571109A は CYP2C9 を臨床上有意に阻害しないと予測した。
	[redacted]-DA0624-0[a]	in silico	-	非適	・CYP 阻害及び誘導を介した DDI の可能性は CYP3A4 を除く全ての CYP で可能性はない ・UGT 阻害に基づく臨床 DDI の可能性はない。 ・テポチニブのトランスポーター阻害による臨床 DDI リスクは OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 で可能性はないが、P-gp、BCRP、OCT1、BSEP、MATE1 及び MATE2K で可能性を否定できない。 ・MSC2571109A のトランスポーター阻害による臨床 DDI リスクは OATP1B3、OAT1、OAT3 及び MATE1 で可能性はないが、OATP1B1、OCT1、OCT2、MATE2K で可能性を否定できない。
薬物相互作用（トランスポーター）	DMPK 57[redacted]	Caco-2 細胞	0.1～10 μM	非適	P-gp を IC_{50}=0.41 μM で阻害した（臨床上、DDI を引き起こす可能性あり）。
	DMPK 55-[redacted]	Caco-2 細胞	0.03～30 μM	非適	BCRP を IC_{50}=1.9 μM で阻害した（臨床上、DDI を引き起こす可能性あり）。
	PCT-008[redacted] (DMPK 76-[redacted])	HEK293 細胞	0.36～3.6 μM	非適	ヒト OAT1&3 を阻害しなかった（臨床上、DDI を引き起こす可能性なし）。
	DMPK 77-[redacted]	HEK293 細胞	0.42～4.2 μM	非適	ヒト OATP1B1&3 を阻害しなかった（臨床上、DDI を引き

試験の種類	試験番号	動物種又は試験系	用量又は濃度	GLP 適合	主な所見
					起こす可能性なし)。
	XS-0165 (DMPK 32-[redacted])	hBSEP 小胞	2.6～12.8 μM	非適	BSEP を阻害しなかった（臨床上、DDI を引き起こす可能性なし)。
	TNO 9518 (DMPK 44-[redacted])	MDCKII-BCRP 細胞	0.3～15 μM	非適	BCRP に対する基質特異性は小さく、その排出比は 2 未満であった（臨床上、DDI を引き起こす可能性なし)。
	DMPK 24-[redacted]	HEK293 細胞	0.2～20 μM	非適	ヒト OCT1 を IC_{50}=2.3 μM で阻害した（臨床上、DDI を引き起こす可能性あり)。
	PCT-063-[redacted] ([redacted]-GR034-P0)	HEK293 細胞	1.0～500 μM	非適	ヒト OCT2 を IC_{50}=67 μM で阻害した（臨床上、DDI を引き起こす可能性は少ない)。
	PCT-065-[redacted] ([redacted]-GR034-P0)	HEK293 細胞	0.47～32 μM	非適	MATE1 に対する基質特異性はなかった（臨床上、DDI を引き起こす可能性なし)。
	9626-02 ([redacted]-GR115-P0)	MDCKII-MRP2 細胞	0.1～15 μM	非適	MRP2 に対する基質特異性はなかった（臨床上、DDI を引き起こす可能性なし)。
	PCT-064-[redacted][a] ([redacted]-GR035-P0)	HEK293 細胞	0.005～150 μM; 0.033～5 μM[a]	非適	テポチニブはヒト MATE1 及び 2 を IC_{50}=3.6 μM、1.1 μM でそれぞれ阻害した。 MSC2571109A はヒト MATE1 及び 2 を IC_{50}=4.1 μM 以上、0.36 μM 以上でそれぞれ阻害した（臨床上、DDI を引き起こす可能性あり)。
	9626-03[a] ([redacted]-GR045-P0)	HEK293 細胞	0.05～5 μM[a]	非適	MSC2571109A は肝トランスポーターOATP1B1 及び OCT1 を IC_{50}=0.79 μM、0.60 μM でそれぞれ阻害した（臨床上、DDI を引き起こす可能性あり)。OATP1B3 は IC_{50}=5 μM 以上であったことから、DDI を引き起こす可能性はない。
	9626-03[a] ([redacted]-GR046-P0)	HEK293 細胞	0.05～5 μM[a]	非適	MSC2571109A は腎トランスポーターOAT3 及び OCT2 を IC_{50}=3.3 μM、0.04 μM でそれぞれ阻害した（臨床上、DDI を引き起こす可能性あり)。OAT1 は IC_{50}=5 μM 以上であったことから、DDI を引き起こす可能性なし。
	PCT-114-[redacted] ([redacted]-DA0273-0)	HEK293 細胞	0.03～300 μM	非適	テポチニブは肝取り込みトランスポーターである OATP1B1 及び 3 を IC_{50}=177, 35 μM でそれぞれ阻害し、腎トランスポーターである OAT を IC_{50}=271 μM で阻害した。一方、OAT3 は最大 300 μM まで阻害されなかった。DDI を引き起こす可能性なし
	PCT-121-[redacted]	HEK293 細胞	0.2～10 μM	非適	テポチニブは OATP1B1 及び 3、OCT1 及び 2 並びに

試験の種類	試験番号	動物種又は試験系	用量又は濃度	GLP 適合	主な所見
	（[redacted]-DA0484-0）				MATE-2K の基質ではなかった。
	PCT-122-[redacted][a] （[redacted]-DA0485-0）	HEK293 細胞	0.03～3 μM	非適	MSC2571109A は OATP1B1 及び 3、OCT1 及び 2 並びに MATE1 及び MATE-2K の基質ではなかった。
その他（PK/PD）	RF6770	マウス（in silico）	5, 15, 25, 50, 200 mg/kg	非適	ヒトにおける腫瘍縮小のための推定標的濃度は 390～823 ng/mL、持続的かつほぼ完全な標的 pMET 阻害（95%超）は腫瘍の安定又は退縮に必要である。
その他（TK）	T16157[c]	ラット	3, 10, 30, 90 mg/kg（po）	適	雄の曝露量はほぼ用量比例性を示し、雌の曝露量は用量比を上回る増加を示した。蓄積はわずかであり、曝露量は雌で高値であった。
	T16193[c]	ラット	30, 90, 270 mg/kg（po）	適	曝露量は用量比を下回る増加を示し、蓄積は最大 2 倍であった。曝露量は T16157 試験の 2～3 倍低値であった。曝露量は雌で高値であった。
	[redacted]-DA0061-0[a, b, c]	ラット	30, 90, 450, 2000 mg/kg（po）	適	MSC2571107A 及び MSC2571109A はラット血漿中で認められ、その血漿中濃度はテポチニブに比べて低値であった。
	T16179[c]	ラット	15, 45, 135 mg/kg（po）	適	全投与日において、曝露量は用量比を下回る増加を示した。反復投与後の蓄積はいずれの用量群でも軽微又は認められなかった。曝露量は雌で高値であった。
	RF0480[c]	ウサギ	50, 150, 450 mg/kg (po)	適	全ての動物において、テポチニブは曝露され、用量に比例して増加した。反復投与後の蓄積が認められた。
	RF5400[c]	ウサギ	0.5, 5, 25 mg/kg (po)	適	曝露量は概ね用量に比例して増加した。反復投与後の蓄積は認められなかった。
	T8421[c]	イヌ	2.5, 10, 40 mg/kg（po）	適	用量比例性からわずかにはずれた（雄において投与 25 日目は高値。雌において、投与 1 日目は低値）。低用量群でわずかな蓄積及び高用量群で明らかな蓄積が認められた。性差は認められなかった。
	T8427[c]	イヌ	3, 10, 30 mg/kg（po）	適	CV%が相対的に高値であったため、用量線形性に明確な傾向は認められなかった。蓄積比は 2～3、AUC は T8421 試験の 2～3.1 倍低値であった。
	T8453[c]	イヌ	10, 40, 160(120) mg/kg（po）	適	[redacted]製剤の曝露量は T8421 試験の曝露量と同程度又はそれ以上であり、T8427 試験と

試験の種類	試験番号	動物種又は試験系	用量又は濃度	GLP 適合	主な所見
					比較しても大幅に高値であった。
	[redacted]-DA009-N0 [c]	イヌ	3, 10, 30 mg/kg（po）	適	雄の曝露量は概ね用量比例性を示し、雌の曝露量は用量比を上回る増加を示した。性差は認められなかった。
	[redacted]-GR108-V0 [a, b, c]	イヌ	3, 10, 30 mg/kg（po）	非適	MSC2571107A の曝露量は MSC2571109A に比べて 2～4 倍高値であった。両代謝物はテポチニブの用量に対しわずかに用量比例性を示し、反復投与時に顕著な蓄積が認められた（投与 267 日目）。
	[redacted]-GR019-P0 [a, b, c]	イヌ	3, 10, 30 mg/kg（po）		MSC2571107A 及び MSC2571109A は胆汁及び肝臓で認められた。両生体試料中における代謝物濃度は MSC2156119J に比べて有意に低値であった。

AAG: α_1-酸性糖蛋白、AUC: 血漿中濃度－時間曲線下面積、CYP: チトクロム P450、CL: クリアランス、CV: 変動係数、DDI: 薬物間相互作用、GI: 消化管、HSA: ヒト血清アルブミン、IC_{50}: 50%阻害濃度、MATE1：多剤排出輸送体 1、MATE2K：多剤排出輸送体 2K、OAT:有機アニオントランスポーター、OATP: 有機アニオントランスポーターペプチド、OCT: 有機カチオントランスポーター、P_{app}：見かけの透過性、PK: 薬物動態、RA：放射活性、PD: 薬力学、PPB：血漿蛋白結合、TK: トキシコキネティクス、UGT：UDP-グルクロン酸転移酵素、V_{ss}: 定常状態における分布容積
a: 代謝物 MSC2571109A、b: 代謝物 MSC2571107A、c: CTD 2.6.7 参照

2　分析方法

生物学的分析方法はテポチニブの非臨床及び臨床開発のために開発及び検証された。動物における生物学的分析法の検証試験の概要を表 2 に、臨床試験サンプルの分析方法の要約を CTD 2.7.1 に示す。

マウス、ラット、イヌ及びサル非臨床 PK 試験並びに臨床試験におけるテポチニブ定量は、バリデートされたエレクトロスプレーイオン化 LC-MS/MS を用いて実施した（DMPK 74-[redacted]、DMPK 75-[redacted]、DMPK 72-[redacted]、DMPK 73-[redacted] 試験参照）。10 µL の血漿を用いて測定したときの検量線範囲は 0.500～250 ng/mL、全測定法の定量下限は 0.500 ng/mL であった。

毒性試験より得られた血漿サンプル測定のため、ラットの測定法は完全バリデーション、イヌの測定法は部分バリデーションを実施した（IMP29058 試験参照）。バリデーション試験報告書及び検量線範囲を表 2 に示す。

探索的分析に用いた測定法を除く全ての試験は米国食品医薬品局（FDA）ガイダンス（FDA Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation, May 2001）に基づいてバリデートされ、その要件及び推奨される線形性、選択性、精度及び真度の基準を満たした。

表 2 生物学的分析法バリデーションの概要

動物種	試験番号	測定対象物質	試料	検量線範囲（ng/mL）	使用した試験の試験番号
ラット	G-A-LAB-[redacted]-005	テポチニブ MSC2571109A MSC2571107A	血漿	5.00～2500 0.200～100 0.500～500	[redacted]-DA061-0
ラット	IMP29058	テポチニブ	血漿	0.200～100	T16157, T16179, T16193
ウサギ	RF0270	テポチニブ	血漿	0.200～100	RF0480, RF5400
イヌ	IMP29058	テポチニブ	血漿	0.200～100	T8421
イヌ	DMPK 103-[redacted]	テポチニブ	血漿	0.207～103	T8427, T8453, [redacted]-DA009-N0

T16157 試験、T16179 試験、T16193 試験、T8421 試験、T8427 試験、T8453 試験、RF0480 試験、RF0270 試験、DMPK 103-[redacted] 試験、IMP29058 試験、G-A-LAB-[redacted]-005 試験、[redacted]-DA0061-0 試験、RF5400 試験及び[redacted]-DA009-N0 試験参照

安定性試験の全パラメータから、テポチニブは不安定でないことが証明された。テポチニブの安定性はラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿を用いて分析下及び保管条件下で評価した。テポチニブは全ての動物血漿中において少なくとも室温で 4 時間安定であった。代謝物 M2571107A（M506 の S 体）及び MSC2571109A はラット血漿中において、全ての試験条件下で安定であった。

血漿サンプルを凍結及び解凍することによるテポチニブの長期安定性試験はラット、ウサギ及びイヌ血漿を用いて 3 回実施した。ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿における長期保存安定性の概要を表 3、完全なバリデーション結果（安定性を含む）は CTD 2.6.5、2 項に示す。

表 3 血漿中長期保存安定性の概要

動物種	分析対象物質	生体試料	長期保存安定性		試験番号
			-20°C	-70°C 又は-80°C	
ラット	テポチニブ MSC2571109A MSC2571107A	血漿	183 日	実施せず	G-A-LAB-[redacted]-005
ラット	テポチニブ	血漿	6 ヵ月	6 ヵ月	IMP29058
ウサギ	テポチニブ	血漿	6 ヵ月	3 ヵ月	RF0270*
イヌ	テポチニブ	血漿	6 ヵ月	6 ヵ月	IMP29058

*G-A-LAB-[redacted]-005, RF0270 及び IMP29058 試験参照

3 吸収

テポチニブは生物薬剤学分類システム（BCS）ガイダンスに基づいてクラス IV に分類された。テポチニブの in vitro における透過性は 160 nm/sec であり、PK 特性は良好であった。

3.1 物理化学的性質

テポチニブの物理化学的性質は CTD 2.6.1 に示す。テポチニブは FDA の BCS ガイダンスに基づいてクラス IV（低透過性、低溶解性：CTD 3.2.P.2.1 参照）に分類された。

3.2 透過性

テポチニブは能動拡散によって Caco-2 細胞単層を透過し、その値は 160 nm/sec であった。トランスポーター活性は Caco-2 細胞単層及び MDR1-LLC-PK1 細胞を用いて評価し、テポチニブは P-gp の基質であることが示唆された（DMPK 52-[redacted] 試験及び DMPK 140-[redacted] 試験参照）。

3.3 単回投与時における薬物動態

各動物種にテポチニブを単回経口及び静脈内投与したときの PK パラメータを表 4 に示す。マウスにテポチニブを単回経口投与したとき、テポチニブは速やかに吸収され、最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は 0.7（0.667）～1 時間であったが、ラット、イヌ及びサルにテポチニブを経口投与したときの吸収はより緩やかであった（t_{max} は 4～12 時間）。臨床上、テポチニブ錠（TF1 製剤）を RP2D である 500 mg を経口投与したとき、t_{max} の範囲は 2～24 時間であった（CTD 2.7.2 参照）。全ての動物種における経口投与時における F は中程度であった（21～55%：DMPK 74-[redacted] 試験、DMPK 75-[redacted] 試験、DMPK 72-[redacted] 試験及び DMPK 73-[redacted] 試験参照）。

テポチニブを単回静脈内投与したとき、推定クリアランスはマウスにおいて中程度、ラット及びイヌにおいて高値、サルにおいて低値であった（表 4）。比較として、ヒトに ^{14}C-テポチニブを静脈内投与したときのクリアランスは低値（12.8 L/h）であった（EMR200095-007 試験参照）。全動物種で V_{ss} は高値（8.2～25.8 L/kg）であったことから、広範な組織への分布が示唆された。全動物種で $t_{1/2}$ は短～中程度（2～10 時間）であったことから、テポチニブを反復投与したときに蓄積が認められる可能性は低いことが示唆された（表 4：DMPK 74-[redacted] 試験、DMPK 75-[redacted] 試験、DMPK 72-[redacted] 試験及び DMPK 73-[redacted] 試験参照）。動物種との比較のため、ヒト PK データの要約を表 5 に示す。

表 4 各動物種にテポチニブを投与したときの PK パラメータ

PK パラメータ [a]		マウス		ラット		イヌ		サル	
用量		2 mg/kg/ (iv) 5 mg/kg (po)		3 mg/kg/ (iv) 6 mg/kg (po)		2 mg/kg/ (iv) 5 mg/kg (po)		2 mg/kg/ (iv) 5 mg/kg (po)	
雌雄		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
t_{max} (po)	h	0.667	1.00	5.33	4.00	NA	4.00	NA	12.0
C_{max} (po)	ng/mL	83.5	62.2	21.8	66.0	NA	22.4	NA	55.5
$t_{1/2}$ (iv)	h	2.57	2.12	2.61	3.20	NA	7.64	NA	10.2
CL_p	L/h/kg	3.20	3.95	9.04	4.68	NA	3.31	NA	0.734
V_{ss}	L/kg	8.65	8.18	25.3	19.9	NA	25.8	NA	9.64
F	%	32.0	40.7	21.4	55.3	NA	22.1	NA	24.5

DMPK 74-[redacted] 試験、DMPK 75-[redacted] 試験、DMPK 72-[redacted] 試験及び DMPK 73[redacted] 試験参照
C_{max}: 最高血漿中濃度、CL_p: 血漿クリアランス、F: バイオアベイラビリティ、NA: 該当なし、PK: 薬物動態、$t_{1/2}$: 消失半減期、t_{max}: 最高血漿中濃度到達時間、V_{ss}: 定常状態における分布容積
各動物の N=3 の平均値、溶媒：Solutol HS15/エタノール/水 (iv); 0.25% Methocel 水溶液 (po)

表 5 ヒトにおけるテポチニブの PK パラメータ

	C_{max} (ng/mL)	C_{max} (μM)	t_{max} (h)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng･h/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μM･h)	$CL_{ss/f}$ (L/h)	C_{av} (ng/mL)	C_{av} (μM)
テポチニブ	1291	2.62	8	27437.7 [a]	55.7[a]	26.43	1097.9	2.23

EMR200095-001 試験及び CTD 2.7.2 参照。500 mg 錠を投与（N=18）。各数値は幾何平均値であり、t_{max} は中央値を示した。
$AUC_{0\text{-}24h}$：0～24 時間後における血漿中濃度-時間曲線下面積、
C_{max}: 最高血漿中濃度、CL_{ss}/f: テポチニブを経口投与したとき、定常状態における見かけの全身クリアランス、
C_{av}: 平均血漿中濃度、t_{max}: 最高血漿中濃度到達時間
a: PK パラメータは 13 例のみを用いて算出
注：テポチニブの遊離塩基の分子量は 492.58 であり、1 μM が遊離塩基 492.58 に相当することを考慮して、ng/ml の単位は μM に変換した。

3.4 反復投与時における薬物動態

動物愛護の観点から、反復投与 PK 試験は実施せず、反復投与毒性試験の TK データを用いて評価した。

ラットに最大 2000 mg/kg のテポチニブを 1 日 1 回 4 週間（T16157 試験、T16193 試験及び [redacted]-DA0061-0 試験参照）及び最大 135 mg/kg のテポチニブを 1 日 1 回 26 週間反復経口投与した毒性試験（T16179 試験参照）において、ラット PK 試験と同じ剤形（溶媒：0.25% Methocel 水溶液）を用いて投与した。テポチニブは t_{max}、3～6 時間で吸収された。曝露量は投与量と共に増加したが、その増加は用量比を下回った。反復投与後の全ての投与群において、テポチニブの蓄積（最大 3 倍）が認められた。曝露量は雄より雌の方が高値であり、AUC の雄／雌比は全ての試験を通して見ると 0.36～0.9 であった。

イヌに最大 40 mg/kg のテポチニブを 1 日 1 回 4 週間（T8421 試験参照）及び最大 30 mg/kg のテポチニブを 1 日 1 回 13 週間反復経口投与した毒性試験（T8427 試験参照）において、テポチニブの[redacted]製剤を硬ゼラチンカプセルに封入して投与した。テポチニブは 2～6 時間（通常は 2 又は 4 時間）の t_{max} で吸収された。曝露量は概ね用量比例的に増加した。概して用量依存的な蓄積が認められ、その蓄積比は投与 25 日目の高用量群において 2.4～6.9 であった。曝露量における性差は認められなかった（CTD 2.6.6 参照）。

テポチニブを経口投与したときの粒子径の違いによる吸収の影響を、ラット及びイヌ TK 試験により評価した結果、粒子径の小さい原薬バッチの曝露量は粒子径の大きい原薬バッチに比べて 1.4～6.5 倍高値であった（表 6：[redacted]-DA0061-0 試験、T16157 試験、T16193 試験、T8421 試験、T8427 試験及び[redacted]-DA009-N0 試験参照）。これに反して、in vivo におけるラット PK 試験（DMPK 106-[redacted] 試験参照）では粒子径のより小さいバッチの方が C_{max} は高値であったものの、TK 試験でみられた曝露量の差を確認できなかった。

臨床試験において、[redacted]製剤を、又は摂食下で経口投与したとき、曝露量及び F は増加することが示された（CTD 2.7.2 参照）。

サルを用いて吸収及び曝露量への食事の影響を評価した結果、絶食下において、総 AUC の増加に伴う曝露量の増加傾向が認められ、わずかに食餌の影響が認められた。しかしながら、個体間変動が大きかったため、解釈が困難であった（DMPK 90-[redacted] 試験参照）。

ヒトを含む動物種間の曝露量の比較については CTD 2.4 に示す。

表 6　雌雄ラット及びイヌに粒子径の異なるテポチニブ原薬を投与したときに得られた曝露量（AUC）及び AUC 比の比較

動物種	試験番号	バッチ番号	用量 (mg/kg)	投与日	AUC（雄） (ng･h/mL)[a]	AUC（雌） (ng･h/mL)[a]	比（雄）[a]	比（雌）[a]
ラット	[redacted]-DA0061-0	EE18000982 ([redacted])	30	1	988	2700	2.08	2.32
				28	2110	3630	2.54	2.38
	T16157	5 （粒子径小）	30	1	987.1	1654	2.08	1.42
				28	1598	3315	1.92	2.17
	T16193	EE103804 （粒子径大）	30	1	475.1	1166.1	-	-
				28	831.4	1527.4	-	-
	[redacted]-DA0061-0	EE18000982 ([redacted])	90	1	1860	4150	2.17	2.16
				28	2460	6570	1.48	1.75
	T16157	5 （粒子径小）	90	1	2132	5965	2.49	3.10
				28	5125	11108	3.08	2.97
	T16193	EE103804 （粒子径大）	90	1	856.3	1923.4	-	-
				28	1661.8	3745.8	-	-
イヌ	T8421	5 （粒子径小）	10	1	413.7	395.8	2.30	5.31
				25	720.2	664	2.02	3.13
	T8427	EE103804 （粒子径大）	10	1	180	74.5	-	-
				25	356	212	-	-
	[redacted]-DA009-N0	EE13001582 ([redacted])	10	1	538	485	2.99	6.51
				25	770	660	2.16	3.11

T16157 試験、T16193 試験、T8421 試験、T8427 試験、[redacted]-DA0061-0 試験及び[redacted]-DA009-N0 試験参照
AUC: 血漿中濃度－時間曲線下面積
a: テポチニブを単回及び反復投与したときの粒子径の大きい原薬に対する粒子径の小さい原薬の AUC 比は CTD 作成者によって算出された

4　分布

4.1　蛋白結合、脳内及び血球移行

テポチニブは、ヒト血漿蛋白及びラット脳組織に高い結合率を示した。in vitro におけるヒトの血漿中濃度に対する血中濃度比はある程度（0.3 μM に比べて 10 μM の方が 2.1 倍高値）濃度依存的であった。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト血漿に 0.3、1 及び 10 μM（遊離塩基として 0.15、0.49 及び 4.9 μg/mL に相当）のテポチニブを添加し、in vitro におけるテポチニブの蛋白結合率を評価した（DMPK 144-[redacted] 試験参照）。全ての動物種において、テポチニブの蛋白結合率は中程度～高

値であり、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトにおける平均非結合型分率（f_u）はそれぞれ 3%、4%、4～5%、6～7%、4～6%、1.6～3.4%であった。サル及びヒト血漿において、f_u は濃度依存性を示した。サル及びヒト血漿において、非結合分率は濃度依存的に増加した。サル f_u は 0.3 μM に比べて、1 μM の方が 1.4 倍高値であった。一方、ヒト f_u は 0.3 μM（1.6%）に比べて、10 μM（3.4%）の方が 2.1 倍高値であった。ヒト f_u は 1 μM、即ち臨床試験で認められた定常状態における平均血漿中濃度である 2.23 μM（表 5）に近似した濃度では 2%であった。他の動物種において、濃度依存性は認められなかった。個々のタンパク画分に対する結合を比較したとき、ヒト血漿において、テポチニブの主結合蛋白はヒト血清アルブミン（HSA）及び α_1-酸性糖蛋白（AAG）であることが示唆された（DMPK 94-[redacted] 試験及び DMPK 55-[redacted] 試験参照）。

MSC2571109A の蛋白結合率は非濃度依存的であり、全ての動物種において高値であった。マウス、ラット、イヌ及びヒトにおける平均 f_u はそれぞれ 1.2%、1.0%、2.5%及び 1.2%であった。MSC2571109A のヒト血漿中主結合蛋白は HSA であった。一方、AAG への結合率は低値であった（[redacted]-GR031-P0 試験参照）。

in vitro において、テポチニブのラット脳組織ホモジネートにおける非結合型分率は高値（$f_{u,\,br}$ は 0.3 及び 3 μM で 0.35%）であり、試験で使用した濃度（0.3、3 及び 30 μM）における $f_{u,\,br}$ は濃度非依存的（0.35～0.39%）であった（[redacted]MERCDP1 試験参照）。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト全血に 0.1 及び 1 μM のテポチニブを添加し、in vitro におけるテポチニブの血球移行性を評価した（DMPK 133-[redacted] 試験参照）。動物における血球／血漿分配係数（$K_{BC/plasma}$）は濃度非依存的であり、その係数は 1.9～2.6 であった。一方、ヒトの 0.1 及び 1 μM における $K_{BC/plasma}$ はそれぞれ 0.6、1 であり、わずかに濃度依存性が認められた。

ヒト循環主代謝物である MSC2571109A のヒト血球移行性を 0.2 及び 2 μM の濃度で評価した（WBD[redacted]/001 試験参照）。血漿に対する血中濃度比（C_B/C_P）は平均 0.77 であったことから、MSC2571109A は血球よりも血漿にわずかに分布しやすい（濃度非依存的）ことが示唆された。

4.2 組織内分布

各動物種において分布容積は高値であり、ラットにおける血漿に対する脳への分配率（KP_{uu}）は 0.25 であった（表 4）。

^{14}C-テポチニブの組織内分布は担癌マウスに 6 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを経口投与することで評価した（DMPK 149-[redacted] 試験参照）。定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）において、薬剤関連放射活性の血漿中濃度に対する腫瘍中濃度比は 1.6（投与 1 時間後）～11.6（投与 6 時間後）であった。全放射活性は投与 24 時間以内に大部分が消失したが、腫瘍組織では投与 24 時間後においても検出された。

有色及び非有色ラットに 4 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを経口投与及び 2 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを静脈内投与したときの組織内分布は QWBA を用いて評価し（DMPK 38-[redacted] 試験参照）、非有色ラットに 4 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを経口投与したときの組織内分布は解剖法によっても評価した（DMPK 65-[redacted] 試験参照）。

^{14}C-テポチニブを静脈内投与したとき、肝臓における組織内濃度は中程度～高値（投与 6 分後）及び小腸における組織内濃度は高値（投与 2 時間後）であったことから、テポチニブは胆汁排泄されることが示唆された。また、胃腸管壁の粘膜層及びその内容物に高濃度の標識体が検出されたこ

とから、標識体は消化管に分泌されることが示唆された。血流量の多い組織においても高濃度の標識体が検出された。^{14}C-テポチニブ投与 2 時間後、高濃度の放射活性が腸管で検出されたことから、テポチニブは速やかに排泄されることが示唆された。脳及び脊髄の組織内濃度は血漿中濃度と同程度であった（DMPK 38-[redacted] 試験参照）。

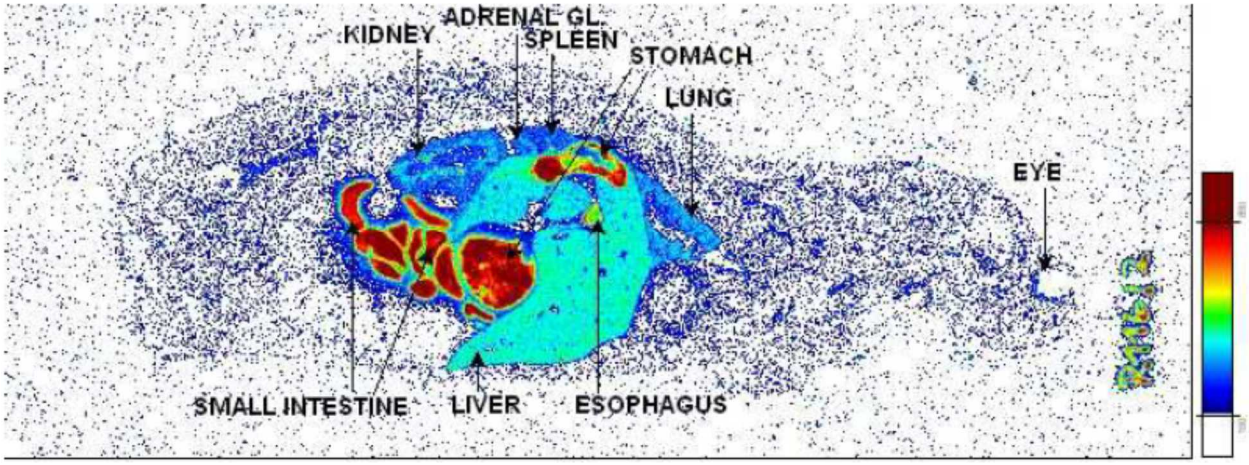
^{14}C-テポチニブを経口投与したとき、薬剤関連放射活性は腸管から吸収された。全身の薬剤関連放射活性濃度は低値であり、薬剤関連放射活性のほとんどは胃腸管内容物及び胃腸管壁から検出された。WBA による評価から、肝臓、肺、腎臓及び膀胱における放射活性濃度は中程度であった。一方、脳及び脊髄の放射活性は図 1 及び図 2 に示すように、血中濃度に類似していた（DMPK 38-[redacted] 試験参照）。解剖法による評価から、最高組織内濃度は投与 6 時間後に到達することが示唆された。この時点における最高組織内濃度及び曝露量（胃腸管を除く）は肝臓、肺、脾臓、腎臓であった。一方、投与 24 時間後において、リンパ節の組織内濃度が最高値を示した。薬剤関連放射活性は主に糞中（95%）より排泄された（DMPK 65-[redacted] 試験参照）。

有色ラットに ^{14}C-テポチニブを投与したとき、眼及び有色皮膚の薬剤関連放射活性は評価期間である 96 時間を通して中程度検出されたことから、^{14}C-テポチニブ及びその代謝物はメラニンに結合することが示唆された。これは非有色ラットの眼において、放射活性が検出されなかったことからも支持された。放射活性の定量分析から、投与後最初の 24 時間以内に眼の組織内濃度が増加し、以降 72 時間、組織内濃度が維持されたことから、テポチニブはメラニン含有組織から、163 時間（本試験の評価期間）よりも長い推定 $t_{1/2}$ で緩やかに消失することが示唆された。しかしながら、しかしながら、有色 Long Evans ラットにテポチニブを単回投与した光毒性試験において、眼の光毒性を示唆する微視的変化は観察されなかった。また、ビーグル犬を用いた反復投与毒性試験で眼毒性の所見は認められなかった（2.6.6 項参照）。ラットに 4 mg/kg のテポチニブを単回経口投与したときの脳内濃度は血漿中濃度の 0.73～0.92 倍であった（DMPK 65-[redacted] 試験参照）。一方、ラットにテポチニブを静脈内投与したときの定常状態における血漿中濃度に対する脳内濃度比 2.87 であった（DMPK 128-[redacted] 試験参照）。

テポチニブを静脈内投与したときの定常状態における血漿中濃度に対する脳内濃度比が 2.87 であったこと（DMPK 128-[redacted] 試験参照）及び定常状態の血漿及び脳における非結合分率は 1 μM で 4%（DMPK 144-[redacted] 試験参照）、0.3 及び 3 μM でそれぞれ 0.35%であったことを考慮すると、KP_{uu} を求める公式（KP_{uu}=血漿中濃度に対する脳内濃度比×$f_{u,\,br}/f_u$）を用いて算出したとき、KP_{uu} は 0.25 と低値であった（[redacted]MERCDP1 試験参照）。

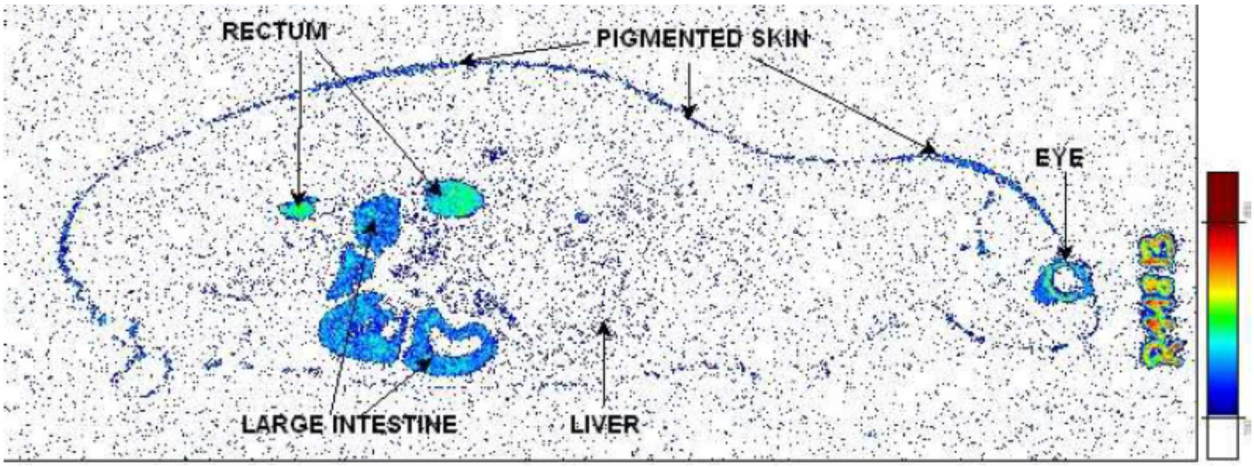
テポチニブは抗癌剤であり、妊娠中の女性患者に対して、避妊を実施しなければならないことから、乳汁排泄及び胎盤移行試験は実施されなかった。また、ウサギの胚-胎児発生に関する試験において、5 mg/kg 以上のテポチニブを投与したとき、骨格奇形が用量依存的に認められた（CTD 2.6.6 参照）。これらのデータから、テポチニブはヒト胎盤を通過することが間接的に示唆された。

図 1　雄 Lister Hooded Rat に 4 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを単回経口投与したときの投与 1 時間後における標識体の組織内分布



DMPK 38-[redacted] 試験参照
Colors represent semi quantitative scoring system to define the concentrations as low 21 to 753 ng eq/g (blue); medium 1543 to 7780 ng eq/g (green to orange) and 15597 to 79173 ng eq/g (red to deep red).

図 2　雄 Lister Hooded Rat に 4 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを単回経口投与したときの投与 24 時間後における標識体の組織内分布



DMPK 38-[redacted] 試験参照
Colors represent semi quantitative scoring system to define the concentrations as low 21 to 753 ng eq/g (blue); medium 1543 to 7780 ng eq/g (green to orange) and 15597 to 79173 ng eq/g (red to deep red).

ヒト組織内分布試験の詳細は CTD 2.7.2 に記載した（EMGR200095-007 試験参照）。

5 代謝

全ての in vivo 代謝試験において、同定された主成分は未変化体（テポチニブ）であった。テポチニブは in vitro 試験において、広範囲に代謝された。テポチニブはケトアルコールのエナンチオマーであるキラル N-オキシド（M506、ヒト循環中主代謝物）酸化物、直接グルクロン酸抱合体及び他の微量代謝物への酸化物へと代謝された。代謝パターンは動物種間で定性的に広く類似しており、異なる代謝物の生成を触媒する酵素は主代謝物において同定された。詳細な代謝経路は CTD 2.6.5、12 項で示す。

代謝物の同定は各動物種及びヒト肝細胞の in vitro データ並びにラット、イヌ及びヒトにテポチニブを経口投与したときの in vivo データを用いて評価した。マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト肝細胞におけるテポチニブの in vitro 代謝では、概して未変化体は少量認められたのみであった。in vitro 代謝物パターン（DMPK 96-[redacted] 試験参照）、ラット（DMPK 35-[redacted] 試験参照）、イヌ（G-A-VIV-[redacted]-023（[redacted]-DA0487-0）試験参照）及びヒト（[redacted]-GR009-C0 試験参照）に ^{14}C-テポチニブを経口投与したときのそれぞれの血漿代謝物パターンの動物種間の比較を表 7 に示す。

表 7　各動物種の in vitro における代謝物パターン及びラット、イヌ並びにヒトに ^{14}C-テポチニブを経口投与したときの代謝物パターンの比較

代謝物	推定代謝変換	肝細胞							血漿（po）			
		マウス	ラット		ウサギ	イヌ	サル	ヒト	ラット 50 (mg/kg) 4 (MBq ^{14}C/kg)		イヌ 10 (mg/kg) 4 (MBq ^{14}C/kg)	ヒト 498 (mg) 2.67 (MBq ^{14}C)[c]
		雄	雄	雌	雌	雄	雄	男性	雄	雌	雌	男性
		試料中の放射活性%							AUC 総放射活性%			
M684	グルクロン酸抱合/酸化代謝物	18.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M668	グルクロン酸抱合	-	-	-	-	-	-	40.2	-	-	-	4.23
M478	脱メチル体	-	9.80	-	-	3.10	9.80	-	-	-	17.1	-
テポチニブ	-	39.5	7.40	46.6	13.6	1.50	3.20	17.0	60	66	45.5	54.5
M508-1 (MSC2489309)	N-オキシドのジアステレオマー1	3.90	74.2	53.4	63.2	73.3	34.6	22.1	38	33	10.8	-
M508-2 (MSC2489308)	N-オキシドのジアステレオマー2	a	a	a	23.2	20.1	35.9	14.7	3	2	-	-
M506[b]	酸化代謝物	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.28	41.2
未知代謝物	-	38.6	8.6	-	-	2.1	16.5	5.83	-	-	-	-

[redacted]-DA0061-0, DMPK 96-[redacted], DMPK 35-[redacted], G-A-VIV-[redacted]-023 ([redacted]-DA0487-0)及び[redacted]-GR004-C0 試験参照
AUC: 血漿中濃度－時間曲線下面積、M: 雄、F: 雌
a: 共溶出ピークのため M508-1 に含まれる（DMPK 96[redacted] 試験参照）
b: イヌ TK サンプルによる評価から、ラセミ代謝物 M506 の曝露量は低値であった。このことから、M506 は不均衡代謝物であり、ヒト特異的でないことが示唆された。ラット TK サンプルによる評価から、ラセミ代謝物 M506 の曝露量は低値であった（[redacted]-DA061-0 試験参照）。
c: 500 mg、2.5 MBq ^{14}C nominal dose

全ての動物種における主代謝物は 2 つの N-オキシドのジアステレオマー、M508-1 及び-2 であった。ヒト肝細胞で認められたグルクロン酸抱合体 M668 はテポチニブの直接グルクロン酸抱合を介して生成され、N-グルクロン酸抱合体である可能性が高かったが、他の動物種では認められなかった。

In vitro CYP フェノタイピング試験において、テポチニブの酸化的代謝は CYP3A4 及び 2C8 が関与することが示唆された（DMPK 87-[redacted] 試験及び XT[redacted]4049 試験参照）。CYP3A4 及び 2C8 の阻害はヒト肝ミクロソームにおいて、テポチニブ代謝を中程度阻害することが示唆されたが、極性代謝物 M1（構造未決定）及び M2（M478）の生成を強力に抑制した。N-オキシド代謝物（M508-1 及び-2）の生成は CYP2C8 の阻害による影響は受けず、わずかに CYP3A4 の阻害による影響を受けたのみであった。以上のことから、他の代謝酵素、例えば FMO が N-オキシド代謝物の生成に関与する可能性が示唆された。培養肝細胞中にテポチニブと特異的 CYP 阻害剤（mibefradil：CYP3A4 及び gemfibrozil のグルクロン酸抱合体 : CYP2C8）存在下及び非存在下でインキュベーションした結果から、どちらの代謝酵素もテポチニブの全体的な酸化的肝代謝に重要な役割を果たさないことが示唆された。現在利用出来るデータ（XT[redacted]4053 試験参照）から、代謝分率（f_m）は算出されなかった。ヒト血漿中 M506 の同定に従って追加で実施した in vitro 試験から、ヒト循環血中における主代謝物であるラセミ体 M506 は 2 段階の代謝変換、1）主代謝酵素である CYP3A4、2C8 及び 1A2 並びに別の代謝酵素である CYP2D6 及び 2C19 による酸化、2）それに続くアルコール脱水素酵素、アルデヒド脱水素酵素、アルデヒド酸化酵素及び CYP3A4 を含む 4 つの異なる経路を経て変換されることが示された（G-A-VIT-[redacted]-006 試験参照）。

ラット in vivo 試験において、テポチニブは主に未変化体として、糞中より排泄された。微量代謝物はキラル N-オキシド体 M508-1 及び-2 として尿中より検出された（投与量の 2～6%）。血漿中における in vivo 代謝プロファイルは検出されなかった脱メチル代謝物 M478 を除いて、in vitro 代謝プロファイルと類似していた（DMPK 35-[redacted] 試験参照）。

代謝物 M506 はラットに最大 50 mg/kg のテポチニブを投与した早期 PK 試験では検出されなかったが、後に実施した最大 2000 mg/kg を投与したラット毒性試験において検出された（[redacted]-DA0061-0 試験参照）。血漿中濃度及び曝露量の比較から、ラットの循環主成分はテポチニブであり、MSC2571109A（R 体）はテポチニブの投与間隔ごとの血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC_τ）の平均 11～37%、及び MSC2571107A（S 体）はテポチニブの平均 AUC_τ の 8～26%であった。両代謝物は反復投与時に顕著な蓄積が認められなかった。投与 1 日目及び 28 日目において、全用量群の代謝物の曝露量変化は親化合物であるテポチニブにおいて認められたものと同様であった。両代謝物の曝露量に明確な性差はなかった。

イヌにテポチニブを経口投与した 39 週間反復投与毒性試験において、M506 のエナンチオマー、MSC2571109A 及び MSC2571107A の非げっ歯類での曝露量を評価するために、血漿、胆汁及び肝組織サンプルを探索的に分析した。両代謝物はイヌ血漿中に認められ、その曝露量は MSC2571109A に比べて MSC2571107A の方が 2～4 倍高値であった。しかしながら、明確な用量、時間及び雌雄依存性は認められなかった。両代謝物の曝露量はテポチニブの用量にほぼ比例して増加し、反復投与 267 日後には顕著な蓄積を示した。MSC2571107A 及び MSC2571109A は胆汁及び肝組織サンプルにおいても認められたが、テポチニブ濃度に比べて顕著に低値であった（[redacted]-GR108-V0 試験、[redacted]-GR019-P0 試験及び CTD 2.6.6 参照）。M506 エナンチオマーの曝露量の観点から同様の結果がイヌ AME 試

験（吸収、代謝及び排泄）から得られ、イヌにテポチニブを経口投与したときの血漿中において、MSC2571107A の曝露量は MSC2571109A に比べて 6.6 倍高値であった。

イヌにおいて、ハミルトンプール法を用いて同定した代謝物プロファイルは未変化体が主成分（^{14}C-AUC$_{0\text{-}24h}$ の 45.5%）であり、次いで順に代謝物である M478［総放射活性（TR）AUC$_{0\text{-}24h}$ の 17.1%）、M508-1（TR AUC$_{0\text{-}24h}$ の 10.8%）及び M506（ケトン体水酸化物及び酸化物、MSC2571109A 及び MSC2571107A の混合物として確認（TR AUC$_{0\text{-}24h}$ の 6.28%）］が同定された。合計すると、循環中代謝物は血漿中総放射活性の 47.9%が同定された。

投与 0～96 時間後における糞中の放射活性は 88.9%であり、未変化体が主成分として検出され、その割合は投与量の 48.5%であった。M478 は糞中主代謝物として検出され、その割合は 19.2%であったことから、脱メチル化はイヌにおける重要な代謝経路であることが示唆された。

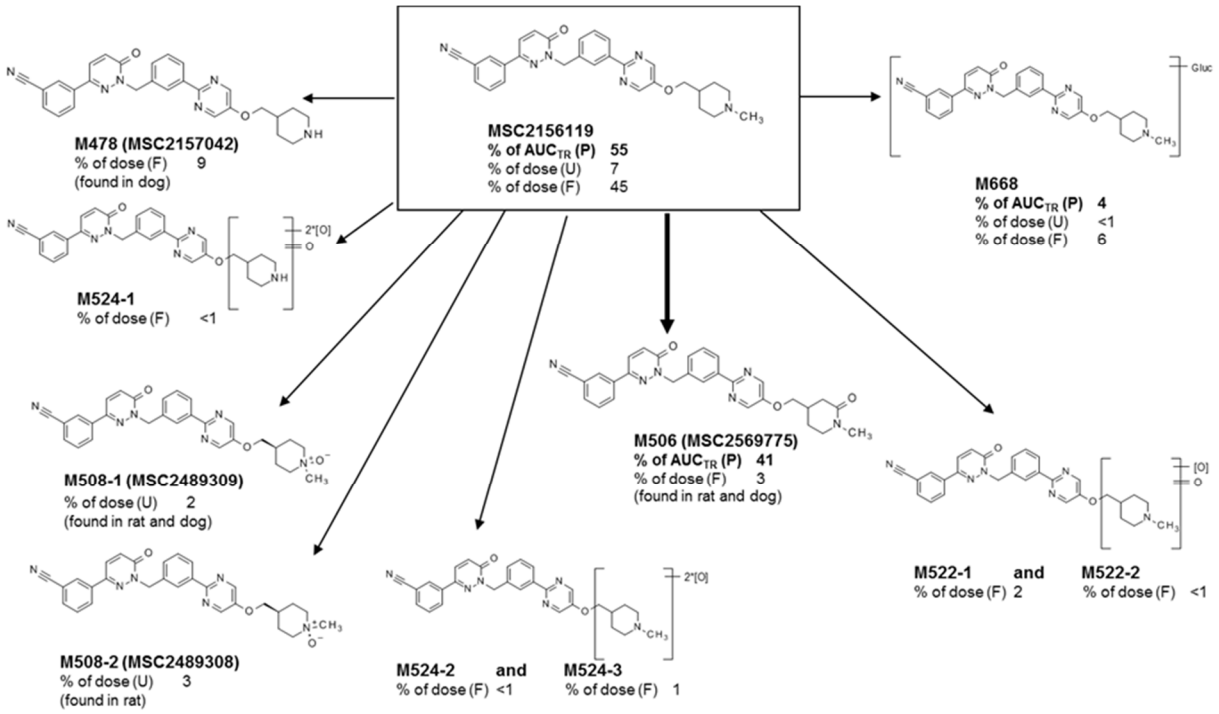
投与 0～96 時間後における尿中の放射活性は 0.461%であり、未変化体が主成分として検出され、その割合は投与量の 0.212%であった。尿中で検出された代謝物は M478（脱メチル体、0.0704%）及び M508-1（N-酸化体、0.0579%）であった（G-A-VIV-[redacted]-023（[redacted]-DA0487-0）試験参照）。

バリデーション試験によって検証された LC-MS/MS 法を用いたヒト探索的試験（DMPK 41-12 試験参照）において、in vitro でヒト肝細胞とテポチニブをインキュベーションしたときに認められた N-オキシドのジアステレオマー、M508-1 及び-2 が FIH 試験の 4 例の被験者で測定された（EMR200095-001 試験参照）。このことから、N-オキシド体はテポチニブの微量代謝物であることが示唆された。さらなる探索的試験（DMPK53-[redacted] 試験参照）において、in vitro で以前検出された全てのヒト主代謝物を定量的に推定した、同じ被験者から得られた血漿サンプルにおいて、グルクロン酸抱合体 M668 が主代謝物として同定されたが、脱メチル体（M478）、N-オキシド体 M508-1 及び-2 は微量代謝物であった。一方、酸化型グルクロン酸抱合体 M684-1 及び-2 は認められなかった。

ヒトマスバランス試験（EMR200095-007 試験参照）において、テポチニブは血漿中、尿中及び糞中で 10 種類の第 I 相及び第 II 相代謝物を生成することが示唆された（CTD 2.7.2 参照）。キラル代謝物 M506 は唯一の主要な血漿中代謝物として同定された。それは酸化代謝物であり（[redacted]-GR004-C0 試験参照）、後に MSC2571109A 及び MSC2571107A の非ラセミ混合物として同定された（[redacted]-GR009-C0 試験参照）。総放射活性及び未変化体に対する M506 の AUC の幾何平均比はそれぞれ 40.4%、74.9%であった。別の LC-MS/MS 法を用いて、血漿中 MSC2571109A 及び MSC2571107A の曝露量はそれぞれ未変化体曝露量の 64.6%、4.5%と算出された。

全体的な代謝物パターンから、ラット及びイヌはヒト安全性評価を行うための毒性試験に用いるに適した動物種であることが示唆された（図 3）。

図 3　　ラット、イヌ及びヒトに ^{14}C-テポチニブを経口投与したときの推定代謝経路



[redacted]-GR004-C0 試験、DMPK 35-[redacted] 試験、[redacted]-DA0061-0 試験、[redacted]-GR108-V0 試験、[redacted]-GR019-P0 試験及び G-A-VIV-[redacted]-023 ([redacted]-DA0487-0))試験参照
(P) 血漿：全放射活性（$AUC_{0\text{-}240h}$）の AUC%として算出、(U) 尿：投与量% として算出。尿中排泄率は投与量の平均 12.8%。(F) 糞：投与量%として算出。糞中排泄率は投与量の平均 71.2%。
注：M522-1、M522-2、M523-1、M523-2、M524-1、M524-2、M524-3 及び M668 は推定構造式であり、NMR 及び化学合成による確認が必要。

6　排泄

テポチニブの主排泄経路は動物種に関係なく糞中であり、大部分は未変化体として排泄された。

雌雄ラットに ^{14}C-テポチニブを単回静脈内投与したとき、糞中から排泄された総放射活性は雄で 91.1%、雌で 86.1%であったことから、テポチニブの主排泄経路は糞中であることが示された。残りの放射活性は尿中より排泄された（雄：10.8%、雌：16.9%）。雌雄ラットに ^{14}C-テポチニブを単回経口投与したとき、糞中及び尿中排泄された放射活性は雄でそれぞれ 96.8%、2.06%、雌でそれぞれ 89.8%、7.33%であった。総放射活性はほぼ完全に回収された（表 8、DMPK 155-[redacted] 試験参照）。

胆管カニュレートラットに 2 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを単回静脈内投与したとき、薬剤関連放射活性は直接胆汁に分泌されることが示唆された（雄：72.9%、雌：58.9%）。全放射活性の 4.66%（雌）～6.86%（雄）は糞中（胃腸管壁に分泌されることを示唆）より回収され、11.1%（雄）～16.8%（雌）は投与 24 時間後に尿中より回収された。^{14}C-テポチニブを経口投与したとき、全放射活性の 23.0%（雄）～32.6%（雌）は胆汁中、36.5%（雌）～58.2%（雄）は糞中及び 1.54%（雄）～5.34%（雌）は尿中よりそれぞれ回収された（DMPK 155-[redacted] 試験参照）。

別の試験において、雌雄ラットに 50 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを単回経口投与したとき、未変化体は糞中［投与量のそれぞれ 85%（雄）、77%（雌）］及び尿中［投与量のそれぞれ 1.7%（雄）、5.5%（雌）］より排泄された。尿中より検出された代謝物は 2 つの N-オキシド代謝物（M508-1、M508-2）であり雌雄両方で投与量のそれぞれ 1.5%、4.3%検出された。糞中において、未変化体以外に構造未決定の代謝物が投与 0～48 時間後、雄で投与量の 2.26%、雌で 2.14%検出された（DMPK 35-[redacted] 試験参照）。

別の試験において、ラットに 50 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを経口投与したとき、未変化体が雌雄両方の糞中（雄で投与量の 85%、雌で 77%）及び尿中（雄で投与量の 1.7%、雌で 5.5%）より排泄された。尿中より同定された放射活性代謝物は 2 つのN-オキシド体（M508-1 及び-2）のみであり、雄及び雌で投与量のそれぞれ約 1.5%、4.3%検出された。糞中より検出された親薬物以外の代謝物は投与後 0～48 時間において雄（2.26%）及び雌（2.14%）でそれぞれ検出されたが、これらは未知の構造式を有していた（DMPK 35-[redacted] 試験参照）。

雌イヌ AME 試験の結果から、10 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを経口投与したとき、投与 0～192 時間後における薬剤関連放射活性の糞中及び尿中排泄率はそれぞれ 91.4%、0.497%であった（G-A-VIV-[redacted]-023（[redacted]-DA0487-0）試験参照）。

表 8　雌雄 Wistar ラットに ^{14}C-テポチニブを経口及び静脈内投与したときの総放射活性の排泄及び分泌量（DMPK 155-[redacted] 試験）

採尿期間（時間）	試料	雄（用量%）		雌（用量%）	
		静脈内	経口	静脈内	経口
0～24	胆汁	72.9	23.0	58.9	32.6
	尿	11.1	1.54	16.8	5.34
	糞	6.86	58.2	4.66	36.5
0～120	尿	10.8	2.06	16.9	7.33
	糞	91.1	96.8	86.1	89.8
	カーカス	0.367	0.123	0.497	0.253
	計	102	99.0	103	97.4

DMPK 155-[redacted] 試験参照

ラット及びイヌ同様、ヒトに ^{14}C-テポチニブを投与したとき、91.9%（幾何平均値）が排泄物より回収された（EMR200095-007 試験参照）。総放射活性の大部分（77.9%）は糞中排泄された。尿中排泄はわずか 13.6%の回収率であったことから、主排泄経路でないことが示唆された。未変化体の総放射活性に対する回収率は糞中で 45%、尿中で約 7%であった。ラセミ代謝物 M506 は糞中よりわずか 3%のみ回収された。M506 はテポチニブに比べて血漿曝露量が高値であり、血漿中における主代謝物であるが、主代謝経路でないと考えられた。排泄物中の単一の代謝経路が投与量の 25%以上を占めず、酸化的代謝物が全身クリアランスの 25%未満であったことは FDA Draft Guidance for Industry on In Vitro Metabolism and Transporter Mediated Drug-Drug Interaction Studies 2017 に合致した（CTD 2.7.2 及び EMR200095-007 試験参照）。

7 薬物動態学的薬物間相互作用

7.1 テポチニブが引き起こす薬物間相互作用

7.1.1 CYP 阻害及び誘導

in vitro 及び臨床データから、テポチニブ及びその主代謝物 MSC2571109A は CYP 酵素に対して薬物間相互作用を誘発するリスクは認められなかった。

酵素活性の定量に基づいてヒト肝細胞初代培養系で評価した場合、テポチニブは臨床上意味のある程度（陽性対照の 40%未満）でヒト CYP1A1/2、2B6 及び 3A4/5 を誘導しなかった（MS-062008-02 試験参照）。しかしながら、mRNA の定量に基づいた別試験において、テポチニブは CYP3A4 mRNA を最大 7 倍増加させ、一方、MSC2571109A は CYP3A4 mRNA 及び CYP2B6 mRNA をそれぞれ最大 23 倍、7 倍増加させたことから、CYP 誘導が認められた（表 9 及び XT[redacted]3099 試験参照）。

表 9 テポチニブ及び MSC2571109A による CYP mRNA 誘導

化合物	酵素	関数	EC_{50} (μM)		E_{max} (変化倍率)[a]		陽性対照物の最大反応率 [b]	
			H1249	H1252	H1249	H1252	H1249	H1252
テポチニブ	CYP3A4	シグモイド	1.64	NR	7.35	NR	8.93	13.2
MSC2571109A	CYP2B6	シグモイド [c]	1.86	NR	6.98	NR	56.9	14.1
	CYP3A4	シグモイド [c]	1.10	2.50	22.7	6.05	33.7	40.1

XT[redacted]3099 試験参照。
H1249 及び H1252 はドナーから採取したヒト初代培養肝細胞
NR: シグモイド曲線に合致せず、標準誤差が大きかったため報告せず、CYP: チトクロム P450、EC_{50}: 50%有効濃度、E_{max}: 最大効果
a: E_{max} は陰性対照（例：DMSO）が 1 に等しい変化倍率として報告
b: 750 μM フェノバルビタール（CYP2B6）及び 20 μM リファンピシン（CYP3A4）を用いて算出
c: ヒルの式から類似データが得られた

テポチニブ及び MSC2571109A のヒト CYP1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1 及び 3A4/5 の阻害薬としての評価をおこなった。ヒト肝ミクロソームを用いた in vitro 試験において、テポチニブは CYP2C8、2C9、2C19 及び 3A4/5 を阻害した（XT085043（DMPK 68-[redacted]）試験参照）。一方、MSC2571109A は CYP2C9 を直接阻害した。テポチニブ及び MSC2571109A の CYP 阻害の結果を表 10 に示す。また、MSC2571109A はプレインキュベーション後、最高濃度 15 μM で得られた阻害率の増加から、CYP3A4/5 の mechanism-based inhibitor であった（XT[redacted]5037 試験参照）。

表 10 in vitro におけるテポチニブ及び MSC2571109A による CYP 直接阻害

化合物	CYP 酵素	直接阻害 Ki[a] (μM)
テポチニブ	2C8	11.0
	2C9	13.5
	2C19	15.0
	3A4	12.5
MSC2571109A	2C9	4.4

XT[redacted]5037 及び XT[redacted]5043 試験参照.
CYP: チトクロム P450、 K_i: 阻害定数
a: 試験データ又は Cheng & Prusoff (K_i=IC_{50}/2) に従って IC_{50} から算出（Cheng & Prusoff 1973 参照）

CYP を介して臨床上有意に薬物間相互作用を誘発するリスクは RP2D（500 mg）におけるテポチニブ及び MSC2571109A を用いて in vitro で評価した。in vitro 試験の静的薬物速度論モデルに基づいた結果から、RP2D におけるテポチニブ及び MSC2571109A は CYP3A4 を誘導する可能性が示唆された（表 11）。ヒト DDI 試験において、CYP3A4 誘導及び阻害の相対的な影響を評価した（EMR200095-0030 試験参照）。テポチニブは CYP3A の基質であるミダゾラムに対して薬物間相互作用を示さず、テポチニブを反復投与したとき、ミダゾラム及びその主活性代謝物である 1-hydroxymidazolam の PK プロファイルに影響を与えなかった（CTD 2.7.2 参照）。

表 11 in silico におけるテポチニブ及び MSC2571109A による CYP 阻害及び誘導並びにその臨床関連性のリスク評価

化合物	CYP 酵素	静的薬物速度論モデル[a]／生理学的薬物速度論モデル[b]（閾値：R<0.8、R>1.25）R_{AUC} 値	評価（臨床的 DDI リスク）
テポチニブ	2C8（阻害）	1.01[a]	なし
	2C9（阻害）	1.02[b]	なし
	2C19（阻害）	1.01[a]	なし
	3A4（阻害：胃腸管）	326[c]（>11 閾値）	あり
	3A4（阻害：肝臓）	1.01[c]（<1.02 閾値）	なし
	3A4（誘導）	0.25[a]	あり
MSC2571109A	2C9（阻害）	1.02[b]	なし
	2B6（誘導）	0.96[b]	なし
	3A4[c]（誘導：肝臓）	0.07[a]	あり

[redacted]-DA0624-0,[redacted]-QPD211-P0 及び[redacted]-QPD200-P0 試験参照。
この表は 500 mg の RP2D（TF1 錠剤製剤）でのテポチニブ（$C_{max, ss}$=7.17 μM：EMR200095-001 試験参照）及び MSC2571109A（$C_{max, ss}$=2.05 μM：EMR200095-006 試験参照）の定常状態における最高血漿中濃度の実測値を用いて計算された R_{AUC} 値（AUC の変化）を表している。
$C_{max, ss}$：定常状態における最高血漿中濃度、AUC：血漿中濃度－時間曲線下面積、CYP：チトクロム P450、DDI：薬物間相互作用、PBPK：生理学的薬物速度論、R：比率

a: 静的薬物速度論モデル（[redacted]-DA0624-0 試験参照）に基づいて、標的基質は R 値の計算（CYP 補酵素：f_m）のために用いられた。Repaglinide（CYP2C8：f_m=0.61）、S-ワルファリン（CYP2C9：f_m=0.91）、オメプラゾール（CYP2C19：f_m=0.87）及びミダゾラム（CYP3A4：肝 f_m=0.96、小腸 f_m=0.57）。
b: PBPK に基づいて、標的基質は R 値の計算（CYP 補酵素）のために用いられた。S-ワルファリン（CYP2C9、テポチニブ及び MSC2571109A 両方を阻害：[redacted]-QPD211-P0 試験参照）及び bupropion（CYP2B6）の R 値を用いて算出（[redacted]-QPD200-P0 試験参照）。
c: 標準モデル

7.1.2 UGT 阻害

テポチニブは数種の UGT を阻害した。臨床曝露量を考慮すると、テポチニブ及びその代謝物 MSC2571109A は UGT1A1/9 及び 2B17 に対して薬物間相互作用を誘発するリスクは低く、他の UGT 酵素については認められなかった。

テポチニブはヒト肝ミクロソームにおいて、UGT1A9 及び 2B17 活性を IC_{50}=3.8、6.1 μM でそれぞれ直接阻害した。対照的に、UGT1A1、1A3、1A4、1A6、2B7 及び 2B15 は試験で用いた最高濃度 15 μM において、それぞれ最大 27%、22%、23%、0%、4.8%、23%と、50%以下の阻害が認められた。

ヒト循環中主代謝物（MSC2571109A）はヒト肝ミクロソームにおいて、UGT1A1、1A3、1A4、1A9、2B15 及び UGT2B17 活性を IC_{50}=1.1、5.8、6.2、3.6、9.6、2.2 μM でそれぞれ直接阻害した。対照的に、UGT1A6 及び 2B7 は試験で用いた最高濃度 15 μM において、それぞれ最大 0%、16%であったことから、直接阻害率は 50%以下であった（XT[redacted]5024 試験参照）。

in vitro 試験で算出した 8 種類の UGT の IC_{50} 値及びテポチニブによる UGT 阻害の標準モデルを用いた臨床 DDI リスクから、 UGT1A9 及び 2B17 の臨床上意味のある DDI リスクはほとんどないことが示唆され、その R_{AUC} はそれぞれ 1.08、1.05 であった。その他の 6 種類の UGT の R_{AUC} は 1.02 以下であった。また、MSC2571109A による UGT1A1 及び 2B17 の臨床上意味のある DDI リスクはほとんどないことが示唆され、その R_{AUC} はそれぞれ 1.04、1.02 であった。その他の 6 種類の UGT の R_{AUC} は 1.02 以下であった（表 12 及び[redacted]-DA0624-0 試験参照）。

表 12 テポチニブ及び MSC2571109A による UGT 阻害

化合物	UGT 補酵素	直接阻害 K_i [a] (μM)	標準モデルにおける R_{AUC} 値（規制上の閾値：R>1.02）	評価（臨床 DDI におけるリスク）
テポチニブ	UGT1A1	> 7.5	< 1.02	なし
	UGT1A3	> 7.5	< 1.02	なし
	UGT1A4	> 7.5	< 1.02	なし
	UGT1A6	> 7.5	< 1.02	なし
	UGT1A9	1.9	1.08	ほとんどなし
	UGT2B7	> 7.5	< 1.02	なし
	UGT2B15	> 7.5	< 1.02	なし
	UGT2B17	3.05	1.05	ほとんどなし
MSC2571109A	UGT1A1	0.55	1.04	ほとんどなし
	UGT1A3	2.9	1.008	なし
	UGT1A4	3.1	1.008	なし
	UGT1A6	> 7.5	< 1.003	なし
	UGT1A9	1.8	1.01	なし
	UGT2B7	> 7.5	< 1.003	なし
	UGT2B15	4.8	1.005	なし
	UGT2B17	1.1	1.02	なし

[redacted]-DA0624-0 試験参照
この表は 500 mg の RP2D（TF1 錠剤製剤）でのテポチニブ（$C_{max, ss}$=7.17 μM：EMR200095-001 試験参照）及び MSC2571109A（$C_{max, ss}$=2.05 μM：EMR200095-006 試験参照）の定常状態における最高血漿中濃度の実測値を用いて計算された R_{AUC} 値（AUC の変化）を表している。
$C_{max, ss}$：定常状態における最高血漿中濃度、AUC: 血漿中濃度-時間曲線下面積、DDI: 薬物間相互作用、UGT: UDP-グルクロン酸転移酵素、R: 比
注：テポチニブ遊離塩基の分子量は 492.58 g/mol であるため、1 μM は 492.58 ng/ml に相当する。
a: テポチニブ及び MSC2571109A の非結合型最高血漿中濃度、R = 1+I/ K_i を用い、Cheng & Prusoff (K_i=IC_{50}/2) に従って IC_{50} から算出

7.1.3 トランスポーター阻害

in vitro 試験データでは、テポチニブは P-gp、BCRP、OCT1、MATE1 及び 2K に対して DDI の潜在的なリスク及び BSEP に対してわずかなリスクを示した。しかしながら、OATP1B1 及び 1B3、OAT1 及び 3 並びに OCT2 に対してリスクはなかった。また、循環中主代謝物 MSC2571109A は OCT1 及び 2 並びに MATE2 に対して DDI リスクを示し、OAT1 及び 3、MATE1 並びに OATP1B3 に対してリスクを示さなかった。PMDA 及び FDA ガイドラインの基準では、OATP1B1 の潜在的なリスクは除外されるが、より厳しい EMA ガイドラインの基準からはリスクは除外できなかった。

テポチニブはトランスポーターである OATP1B1 及び 3 を IC_{50}=177、35 μM で、OAT1 を IC_{50}=271 μM でそれぞれ阻害した。しかしながら、OAT3 は阻害せず（最大 300 μM）、BSEP は最大 12.8 μM まで阻害作用が認められなかった。また、テポチニブは P-gp、BCRP、OCT1、MATE1 及び 2K を IC_{50}=0.41、1.9、2.3、3.6、1.1 μM でそれぞれ阻害した［PCT114-[redacted] 試験、DMPK 57-[redacted] 試験、DMPK 55-[redacted] 試験、

DMPK 77-[redacted] 試験、XS-0165（DMPK 32-[redacted]）試験、DMPK 24-[redacted]、PCT 063-[redacted] 試験及び PCT 064-[redacted] 試験参照］。MSC2571109A は、OAT1、OATP1B3（最大 5 μM）及び MATE1（最大 4.1 μM）を阻害しなかった。しかしながら、MSC2571109A は、OATP1B1、OCT1、OCT2、OAT3 及び MATE2K を見かけの IC_{50}=0.79、0.60、0.04、3.3、0.36 μM でそれぞれ阻害した［PCT 064-[redacted] 試験、9626-03（[redacted]-GR045-P0）試験、PCT 008-[redacted]（DMPK 76-[redacted]）試験及び 9626-03（[redacted]-GR046-P0）試験参照］。テポチニブ及び MSC2571109A の主要なヒト薬物トランスポーター阻害能、及び RP2D である 500 mg 用量での臨床的に有意な薬物間相互作用を誘発するリスクを表 13 及び表 14 に示す。ヒト DDI 試験において、テポチニブの P-gp 阻害能を評価した結果は 9 項で概説し（MS200095-032 試験参照）、詳細を CTD 2.7.2 に示す。

表 13　　in vitro におけるテポチニブのトランスポーター阻害及びその臨床関連性

トランスポーター（試験番号）	平均 IC_{50} (μM)	[I]/IC_{50}	EMA criteria	PMDA/FDA criteria[g]	評価（臨床的 DDI リスク）
			in vivo DDI 試験が不要な [I]/IC_{50}	in vivo DDI 試験が不要な [I]/IC_{50}	
P-gp (DMPK 57-[redacted])	0.41	9902 (int.)	< 5 (int.)	< 10 (int.)	あり
		0.39 (syst.)	< 0.01 (syst.)	NA	あり
BCRP (DMPK 55-[redacted])	1.9	2137 (int.)	< 5 (int.)	< 10 (int.)	あり
		0.084 (syst.)	< 0.01 (syst.)	NA	あり
OCT1 (DMPK 24-[redacted])	2.3	0.085	< 0.02	NA	あり
OATP1B1 (PCT-114-[redacted])	177	0.001	< 0.02	< 0.05	なし
OATP1B3 (PCT-114-[redacted])	35	0.006	< 0.02	< 0.05	なし
OAT1 (PCT-114-[redacted])	271	0.001	< 0.01	< 0.05	なし
OAT3 (PCT-114-[redacted])	> 300	< 0.001	< 0.01	< 0.05	なし
BSEP (XS-0165)	> 12.8	< 0.013	< 0.01	NA	ほとんどなし[a]
OCT2 (PCT-063-[redacted])	67	0.002	< 0.01	< 0.05	なし
MATE1 (PCT-064-[redacted])	3.6	0.044	< 0.01	< 0.01	あり
MATE2 (PCT-064-[redacted])	1.1	0.15	< 0.01	< 0.01	あり

[redacted]-DA0624-0 試験、XS-0165 試験、DMPK 57-[redacted] 試験、DMPK 55-[redacted] 試験、DMPK 24-[redacted] 試験、PCT-114-[redacted] 試験及び PCT-063-[redacted] 試験及び PCT064-[redacted] 試験参照

BCRP: 乳癌耐性蛋白、BSEP: 胆汁酸塩排出ポンプ、DDI: 薬物間相互作用、[I]: 薬物濃度、IC_{50}: 50%阻害濃度、int: 消化管、syst: 全身、MATE: 多剤排出輸送体、NA: 該当なし、OAT; 有機アニオントランスポーター、OCT: 有機カチオントランスポーター、P-gp: P-糖蛋白
a: $[I]/IC_{50} < 0.013$ は正式に$[I]/IC_{50} < 0.01$ であることを証明した。しかしながら、12.8 μM のテポチニブにおいて、影響が認められなかった（XS-0165 試験参照）ことから、IC_{50}>16 μM（わずか 3.2 μM 以上）と推定され、$[I]/IC_{50}$ <0.01 である可能性が高い（[redacted]-DA0624-0 試験参照）。
DDI ガイドラインは EMA（Final Guideline on Investigation of Drug Interactions (2013)）、FDA（Draft Guidance for Industry on In Vitro Metabolism and Transporter Mediated Drug-Drug Interaction Studies (2017)）及び PMDA（医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン(最終案) (2018)）を参照した。
注：テポチニブ遊離塩基の分子量は 492.58 g/mol であるため、1 μM は 492.58 ng/ml に相当する。

表 14 in vitro における MSC2571109A のトランスポーター阻害及びその臨床関連性

トランスポーター（試験番号）	平均 IC_{50} (μM)	$[I]/IC_{50}$	EMA criteria	FDA criteria	評価（臨床的 DDI リスク）
			in vivo DDI 試験が不要な $[I]/IC_{50}$	in vivo DDI 試験が不要な $[I]/IC_{50}$ 及び R 値	
OATP1B1 (9626-03)	0.79	0.03	< 0.02	< 0.05	あり／なし [a]
OATP1B3 (9626-03)	> 5.0	< 0.005	< 0.02	< 0.05	なし
OCT1 ([redacted] GR046-P0)	0.60	0.041	< 0.02	NA	あり
OCT2 ([redacted] GR046-P0)	0.04	0.6	< 0.01	< 0.05	あり
OAT1 (9626-03)	> 5.0	< 0.005	< 0.01	< 0.05	なし
OAT3 (9626-03)	3.3	0.007	< 0.01	< 0.05	なし
MATE1 (PCT-064-[redacted])	≥ 4.1	< 0.006	< 0.01	< 0.01	なし
MATE2 (PCT-064-[redacted])	0.36	0.068	< 0.01	< 0.01	あり

[redacted]-DA0624-0 試験、[redacted]-GR045-P0 試験、[redacted] GR046-P0 試験及び PCT-064-[redacted] 試験参照
[I]: 薬物濃度、IC_{50}: 50%阻害濃度、MATE: 多剤・毒性化合物排出、OAT: 有機アニオントランスポーター、OATP: 有機カチオントランスポーターペプチド、OCT: 有機カチオントランスポーター、P-gp: P-糖蛋白（[redacted]-DA0624-0 試験参照）
a: PMDA 及び FDA ガイドラインの基準からは臨床 DDI リスクは回避できたが、より厳しい EMA ガイドラインの基準からは回避できなかった。
DDI ガイドラインは EMA（Final Guideline on Investigation of Drug Interactions (2013)）、FDA（Draft Guidance for Industry on In Vitro Metabolism and Transporter Mediated Drug-Drug Interaction Studies (2017)）及び PMDA（医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン(最終案) (2018)）を参照した。
注：テポチニブ遊離塩基の分子量は 492.58 g/mol であるため、1 μM は 492.58 ng/ml に相当する。

7.2 テポチニブが受ける薬物間相互作用

in vitro データから、テポチニブの消失は CYP 及び P-gp を除くトランスポーターの阻害による影響を受けにくいことが示唆された。

選択された in vitro 系（遺伝子組換え hCYP 及び肝ミクロソーム：DMPK 87-[redacted] 試験参照）の CYP フェノタイピング試験において、テポチニブの酸化的代謝には CYP3A4 及び 2C8 が関与することが示された。一方、CYP1A2、2A6、2B6、2C9、2C19、2D6、2E1 及び 3A5 はテポチニブの代謝に関与しなかった。しかしながら、特異的 CYP 阻害剤（CYP3A4：mibefradil、CYP2C8：gemfibrozil のグルクロン酸抱合体）存在下及び非存在下でヒト培養肝細胞とインキュベーションした結果から、CYP3A4 及び 2C8 のどちらもテポチニブの酸化的肝代謝に重要な役割を果たさないことが示された（XT[redacted]4053 試験参照）。したがって、既存のデータに基づいて f_m を算出することはできなかった。テポチニブは他の未同定代謝酵素、例えば FMO の基質である可能性が高いと考えられている。そのため、テポチニブ代謝は CYP 阻害又は誘導どちらの影響も受けないことが予想される。テポチニブの第 II 相代謝の妨害も、臨床上、影響を与えないことが予想される（CTD 2.7.2 参照）。

テポチニブは P-gp の基質として同定されたが（DMPK 52-[redacted] 試験及び DMPK 140-[redacted] 試験参照）、BCRP（TNO 9518 試験参照）、MRP2（9626-02 試験参照）MATE1（PCT-065-[redacted] 試験参照）、MATE2K、OCT1 及び OCT2（PCT-121-[redacted] 試験参照）の臨床上関連する基質ではなかった。

肝細胞から得られた予備データから、テポチニブは能動輸送されることが示され、能動的取り込みは、689 μL/min/10^6 cells（総取り込み）に対し、282 μL/min/10^6 cells（能動的取り込み）であったことから、全取り込みの 40.9%と算出された。受動的取り込みは 407 μL/min/10^6 cells であった。in vitro において、トランスポーター阻害剤を用いた場合、OATP 及び OCT はテポチニブの肝取り込みに一部関与し（OATP は約 21%及び OCT は約 30%）、残りの関与（肝取り込みの約 50%）は他の能動輸送系が関与すると考えられた。しかしながら、OATP1B1 及び 1B3 並びに OCT1 及び 2 を過剰発現した HEK 細胞を用いた試験において、テポチニブ及び主代謝物はこれらトランスポーターによって能動輸送を受けなかった（PCT-121-[redacted] 試験参照）。また、肝取り込みは肝血流速度（in vivo における受動拡散：73.8 L/h v.s. 5724 L/h）によって制限される可能性があることから（DMPK 171-[redacted] 試験参照）、肝は臨床上意味のある薬物間相互作用に関連する部位ではないと考えるべきである。

代謝物 MSC2571109A はトランスポーターOATP1B1 及び 1B3、OCT1 及び 2、並びに MATE1 及び 2K の基質ではないことが示唆された（PCT-122-[redacted] 試験参照）。

8 その他の薬物動態試験

8.1 PK/PD 及び腫瘍増殖モデル

第 II 相臨床試験でのテポチニブの用量及びレジメンの選択の一助として、血漿中テポチニブ濃度及び腫瘍増殖を阻害するために要するバイオマーカー（MET のリン酸化）の阻害の程度を評価する目的で、KP4 担癌マウスを用いた PK/PD 及び腫瘍増殖モデリングを実施した。非臨床 PK/PD 及び腫瘍増殖モデルから、持続的かつほぼ完全な標的阻害（95%超）が腫瘍の安定又は退縮に必要であることが示唆された（RF6770 試験及び CTD 2.6.2 参照）。

種々の患者集団における IC_{50} で標準化した遊離体の曝露量を考慮した評価において、ヒトにおけるテポチニブの全体的な薬理活性に対する MSC2571109A の寄与は低値（最大 16%）であることが示唆された（[redacted]-DA0624-0 試験参照）。MSC2571109A を投与したとき（最大 50 mg/kg）、200 mg/kg

のテポチニブを投与したときと同等の曝露量（C_{max} はさらに高値）が得られたが、MSC2571109A は in vivo において、抗腫瘍活性は認められなかった（CTD 2.6.2 参照）。

9 考察及び結論

吸収

FDA の BCS ガイダンスに基づくと、テポチニブはクラス IV 化合物（高透過性、低溶解性）に分類される（CTD 3.2.P.2.1 参照）。

マウスにテポチニブを単回経口投与（液体製剤）したとき、テポチニブは速やかに吸収され、t_{max} は約 1 時間であったが、ラット、イヌ及びサルはマウスに比べて緩やかに吸収された（t_{max}：4～12 時間）。臨床試験において、RP2D のテポチニブの錠剤製剤（TF1）を経口投与したときの t_{max} は 2～24 時間であった。

全動物種において、F は中程度であり（21～55%）、男性被験者に RP2D のテポチニブ（TF1 製剤）を経口投与したときの F は高値（72%）であった。マウス、ラット、イヌ及びサルにテポチニブを静脈内投与したときの推定血中 CL はマウスで中程度、ラット及びイヌで高値、サルで低値であった。一般的に動物の in vivo データから、吸収される割合はテポチニブ原薬の[redacted]により増加することが示唆された。

ラットにテポチニブを経口投与したときの曝露量は用量依存的に増加したが、用量比を下回る増加であった。ラットにテポチニブを反復経口投与したとき、全投与量群でわずかな蓄積が認められた。曝露量は雄よりも雌の方が高値であり、全ての試験を通してみると AUC の雄/雌比は 0.36～0.59 であった。イヌにテポチニブを経口投与したときの曝露量は用量依存的に増加し、ほぼ用量比例性を示した。用量依存的蓄積は全ての試験を通して認められた。毒性試験での動物種における曝露量は、治療用量を投与した癌患者での曝露量まで達しなかった。

分布

ラットにテポチニブを投与したときの V_{ss} は高値（8.2～25.8 L/kg）であり、広範な組織への分布が示唆された。ヒトに ^{14}C-テポチニブを単回静脈内投与したときの V_z は高値（574 L）であった。

in vitro 血漿蛋白結合試験において、テポチニブの蛋白結合率は全試験を通して中程度～高値であり、ラット（96%）及びイヌ（94%）に比べてヒトで高値（血漿蛋白結合率：96.6～98.4%、f_u：1.6～3.4%）であった。ヒトマスバランス試験データから、テポチニブの非蛋白結合率は 1.8～2.5%であり、これは in vitro データと一致した。ヒト血漿中において、HSA 及び AAG が主結合蛋白質として同定された。ヒト及びサル血漿において、非結合分画は濃度依存的に増加したが、他の動物種は濃度依存性が認められなかった。ヒト循環血漿中における主代謝物である MSC2571109A の蛋白結合率は全動物種において高値であり、濃度非依存的であった。

ラットに ^{14}C-テポチニブを静脈内投与した分布試験において、^{14}C-テポチニブは主に腸管及び胃腸管壁の粘膜層（及びその内容物）に存在したことから、放射活性は胆汁排泄及び消化管に沿って分泌されることが示唆された。血流量の多い臓器の放射活性濃度が最も高かった。放射活性はメラニンに高い親和性を示し、メラニン含有組織からの消失は遅かった（推定 $t_{1/2}$：163 時間）。脳及び脊髄の放射活性濃度は低値であった。担癌マウスに ^{14}C-テポチニブを経口投与したとき、放射活性は

消化管から吸収され、放射活性濃度は最高値を示したが、腫瘍組織においても放射活性は認められた。

代謝

in vitro において、テポチニブは第 I 相（N-酸化及び脱メチル）及び第 II 相（おそらくヒト特異的な直接グルクロン酸抱合（M668））反応によって代謝された。テポチニブの酸化的代謝は CYP3A4 及び CYP2C8 が関与し、他の薬物代謝酵素（FMO など）は N-オキシドのジアステレオマーの生成に関与した。

被験者にテポチニブを投与したとき、10 種類の異なる第 I 相及び第 II 相反応代謝物が検出された。酸化代謝物である M506 は循環血漿中で同定された唯一の代謝物であり、R 体（MSC2571109A）が主に認められた。in vitro 試験において、M506 は 2 段階の生体内変換を介して生成した。ラットにおいて、N-オキシドのジアステレオマー及び M506 が血漿中で同定された。イヌ毒性試験において、M506 の曝露量が低値であったことから、M506 は不均衡代謝物であるが、ヒト特異的代謝物でないことが示された。これはイヌ AME 試験においても確認された。このことから、ラット及びイヌはヒトの安全性評価に適切な動物種であることが示された。

in vitro 試験で同定されたヒト特異的直接グルクロン酸抱合体（M668）は、臨床において低濃度（全放射活性の 4.23%、テポチニブの 10%未満）認められた。

排泄

ラットにおいて、胆汁排泄がテポチニブ未変化体の主排泄経路であり、尿中においては微量検出されたのみであった。イヌにおいて、ほとんどの薬剤関連放射活性は糞中より排泄され、尿中からも微量排泄された。同様に、ヒトにおいてもテポチニブは主に糞中より排泄され、尿中排泄は主排泄経路ではなかった。糞中及び尿中の総放射活性に対する未変化体の割合はそれぞれ 45%、7%であった。糞中より検出された M506 は総放射活性のわずか 3%であったことから、M506 は循環血中における主代謝物と考えられていたにも関わらず、M506 への代謝は主代謝経路でないことが示唆された。

テポチニブが引き起こす薬物間相互作用

in vitro 試験の静的薬物速度論モデルから、RP2D（500 mg）において、テポチニブ及び MSC2571109A は主代謝酵素である CYP3A4 を誘導する可能性があり、MSC2571109A は RP2D（500 mg）において、CYP3A4/5 によって代謝される薬物の CL を低下させる可能性がある。しかしながら、テポチニブには CYP3A に対する強力な阻害作用はないと考えられる（CTD 2.7.2 参照）。また、その他の CYP に対して、薬物間相互作用を引き起こすリスクはなかった。

テポチニブ及びその代謝物である MSC2571109A は数種類の UGT 補酵素を阻害する可能性が示唆された。しかしながら、臨床曝露量を考慮すると、UGT1A1/9 及び 2B17 に対するリスクはほとんどなく、その他の UGT 補酵素を阻害することはなかった。

in vitro において、テポチニブは臨床上関連ある濃度で P-gp、BCRP、OCT1、MATE1 及び MATE2 を阻害する。MSC2571109A は OATP1B1、OCT1、OCT2 及び MATE2 の基質である薬物と併用したとき、DDI を引き起こす可能性がある。計算された[I]/IC_{50} 比から、テポチニブ及び MSC2571109A

は各国の規制ガイダンスで定義されたそれぞれの閾値を超えているため、臨床的追跡調査が推奨される可能性がある。

DDI に特化した臨床試験（MS200095-032 試験参照）において、テポチニブの P-gp 阻害能はダビドカランの PK パラメータに軽度の影響を与えることが示唆された（CTD 2.7.2 参照）

テポチニブが受ける薬物間相互作用

定量的 in vitro 評価は既存のデータに基づいて f_m を算出することが出来なかったため実施していない。しかしながら、強力な CYP 阻害剤又は誘導剤との併用によるテポチニブが臨床上関連する薬物間相互作用の標的となるリスクは低いと考えられた。ヒトマスバランス試験の結果、すなわち代謝物の尿及び糞中排泄は単一の代謝経路がテポチニブ排泄全体の 25%を超えないことから、この評価を支持した。

in vitro 及び in vivo データから、テポチニブが P-gp を介した排出の基質であることが示唆された。テポチニブの見かけの受動透過性が中程度であったため、P-gp による腸管排出は F を制限する可能性は低く、これは 30～500 mg の用量範囲で臨床上確認された。しかしながら、P-gp のようなトランスポーターを強力に阻害することが知られている薬物との併用により、テポチニブの PK が影響を受ける可能性は否定できない。ヒトにおいて、相互作用の大きさはテポチニブの CL 全体に対するトランスポーターの重要性に依存する。また、テポチニブは BCRP、MRP2、OATP1B1 及び 1B3、OCT1 及び 2 並びに MATE1 及び 2K の基質ではなかった。

PK/PD モデル

500 mg のテポチニブを 1 日 1 回経口投与する RP2D は前臨床 PK、PD（MET 経路の阻害）データ、前臨床有効性データ（腫瘍増殖の阻害）、臨床 PK 及び PD データを利用したトランスレーショナルモデリング&シミュレーションアプローチに基づいて決定した（CTD 2.7.1 及び 2.7.2 参照）。

種々の患者集団における IC_{50} で標準化した遊離体の曝露量を考慮した予備的評価から、MSC2571109A はテポチニブ全体の薬理活性に、わずかに寄与（おそらく 16%以下）するのみであることが示唆された。MSC2571109A を投与したとき（最大 50 mg/kg）、200 mg/kg のテポチニブを投与したときと同等の曝露量（C_{max} はさらに高値）が得られたが、MSC2571109A は in vivo において、抗腫瘍活性は認められなかった（CTD 2.6.2 参照）。

結論として、得られた非臨床 PK データから、進行癌患者におけるテポチニブの 1 日 1 回経口投与スケジュールでの臨床使用は支持された。

10 図表

図表は本文中に記載した。

11 引用文献

引用文献は CTD 2.4 に記載した。

2.6.5　薬物動態試験の概要表

目次

目次 1
1　薬物動態試験：一覧表 2
2　分析方法及びバリデーション試験 7
3　薬物動態試験：吸収：in vitro 19
4　薬物動態試験：吸収：単回投与 21
5　薬物動態試験：吸収：反復投与 25
6　薬物動態試験：分布 26
7　薬物動態試験：蛋白結合 36
8　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 41
9　薬物動態試験：その他の分布試験 42
10　薬物動態試験：代謝：in vivo 47
11　薬物動態試験：代謝：in vitro 59
12　薬物動態試験：推定代謝経路 69
13　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 73
14　薬物動態試験：排泄 88
15　薬物動態試験：排泄：胆汁中 89
16　薬物動態試験：薬物相互作用 90
17　薬物動態試験：その他 114
18　付録：テポチニブ及びその代謝物の命名法 116

1 薬物動態試験：一覧表

Type of study	Test system	Method of administration	Dose or concentration	GLP compliance	Testing facility	Study number	CTD section number
Absorption in vitro	MDR1-LLC-PK1 cells	in vitro	0.3, 1 and 15 µM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 52-[redacted]	4.2.2.2.1
	Caco-2/TC7 cells	in vitro	1.8, 56, 100 µM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 140-[redacted]	4.2.2.2.2
Absorption after single dose	Mouse	Single, iv and po	2 and 5 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 74-[redacted]	4.2.2.2.3
	Rat	Single, iv and po	3 and 6 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 75-[redacted]	4.2.2.2.4
	Rat	Single, po	30 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 106-[redacted]	4.2.2.2.5
	Dog	Single, iv and po	2 and 5 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 72-[redacted]	4.2.2.2.6
	Monkey	Single, iv and po	2 and 5 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 73-[redacted]	4.2.2.2.7
	Monkey	Single, po	15 mg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 90-[redacted]	4.2.2.2.8
Absorption after repeated dose	Not applicable (no dedicated study conducted, (see Sections 2.6.6. and 2.6.7) toxicokinetics)						
Organ distribution	Mouse (tumor bearing)	Single, po	6 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 149-[redacted]	4.2.2.3.7
	Rat	Single, iv and po	2 and 4 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 38-[redacted]	4.2.2.3.8
	Rat	Single, po	4 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 65-[redacted]	4.2.2.3.9
	Rat	Single, iv (infusion)	3.66 mg/kg/h	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 128-[redacted]	4.2.2.3.10
Plasma protein binding	Mouse, rat, rabbit, dog, monkey, human (plasma)	in vitro	0.3, 1, 10 µM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 144-[redacted]	4.2.2.3.1
	Human (plasma)	in vitro	0.1～10 µM	No	Louisville Bioscience Inc. (LBIdxTM) Louisville, USA	DMPK 94-[redacted]	4.2.2.3.4
	Human (plasma, protein solutions)	in vitro	1 µM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 55-[redacted]	4.2.2.3.5
	mouse, rat, dog, human (plasma)	in vitro	0.2, 2, 10 µM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	[redacted]-GR031-P0	4.2.2.3.11
Study in pregnant or nursing animals	Not applicable						

Type of study	Test system	Method of administration	Dose or concentration	GLP compliance	Testing facility	Study number	CTD section number
Other distribution	Mouse, rat, rabbit, dog, monkey, human (whole blood)	in vitro	0.1, 1 μM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 133-[redacted]	4.2.2.3.2
	Rat (brain tissue)	in vitro	0.3～30 μM	No	Absorption Systems Exton, USA	[redacted]MERCDP1 (DMPK 35-[redacted])	4.2.2.3.3
	Human (hepatocytes)	in vitro	0.1, 0.24, 1 μM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 171-[redacted]	4.2.2.3.6
	Human (whole blood)	in vitro	0.2, 2 μM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	WBD[redacted]-001	4.2.2.3.12
Metabolism in vivo	Rat	Single, po	50 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 35-[redacted]	4.2.2.4.5
	Dog	Single, po	10 mg/kg	No	Nuvisan GmgH, Grafing, Germany	G-A-VIV-[redacted]-023 ([redacted]-DA0487-0)	4.2.2.4.11
	Human	Single, Repeated, po	100, 145 mg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 41-[redacted]	4.2.2.4.6
	Human	Repeated, po	100, 145 mg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 53-[redacted]	4.2.2.4.7
	Human	Single, po	500 mg/2.5 MBq	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	[redacted]-GR004-C0	4.2.2.4.8
	Human	Single, po	500 mg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	[redacted]-GR009-C0	4.2.2.4.9
Metabolism in vitro	Mouse, rat, rabbit, dog, monkey, human (hepatocytes)	in vitro	0.8～1.5 μM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 96-[redacted]	4.2.2.4.1
	Human (HLM, rCYPs)	in vitro	0.5～100 μM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 87-[redacted]	4.2.2.4.2
	Human (rCYPs)	in vitro	1.5～150 μM, 10～200 μM	No	XenoTech, LLC, Kansas City, USA	XT[redacted]4049 (DMPK 49-[redacted])	4.2.2.4.3
	Human (hepatocytes)	in vitro	1 μM	No	XenoTech, LLC, Kansas City, USA	XT[redacted]4053 (DMPK 65-[redacted])	4.2.2.4.4
	Human (hepatocytes, microsomes, rCYPs)	in vitro	10 μM	No	Nuvisan GmbH, Grafing, Germany	G-A-VIT-[redacted]-006 ([redacted]-GR086-P0)	4.2.2.4.10
Induction/inhibition	Human	in vitro	0.03～49.5 μM	No	XenoTech, LLC, Kansas City, USA	XT[redacted]5043	4.2.2.6.1

Type of study	Test system	Method of administration	Dose or concentration	GLP compliance	Testing facility	Study number	CTD section number
of drug-metabolizing enzymes	(HLM)					(DMPK 68-[redacted])	
	Human (hepatocytes)	in vitro	0.1, 1 and 5 µM	No	KALY-CELL ESBS, IIIkirch, France Merck KGaA Darmstadt, Germany	MS-062008-02 (DMPK 51-[redacted])	4.2.2.6.2
	Human (HLM)	in vitro	0.02～15 µM	No	XenoTech, LLC, Kansas City, USA	XT[redacted]5037 ([redacted]-GR030-P0)	4.2.2.6.3
	Human (hepatocytes)	in vitro	0.003～5 µM	No	Sekisui XenoTech, LLC, Kansas City, USA	XT[redacted]3099 ([redacted]-QPD045-P0)	4.2.2.6.4
	Not applicable	in silico	Not applicable	No	Merck KGaA Darmstadt, Germany	[redacted]-QPD200-P0	4.2.2.6.5
	Not applicable	in silico	Not applicable	No	Merck KGaA Darmstadt, Germany	[redacted]-QPD211-P0	4.2.2.6.6
	Human (rUGT)	in vitro	0.015～15 µM	No	Sekisui XenoTech, LLC, Kansas City, USA	XT[redacted]5024 ([redacted]-DA0272-0)	4.2.2.6.7
Excretion	Rat	Single iv and po	2 and 4 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 155-[redacted]	4.2.2.5.1
Excretion into bile	See Section 1						
Drug-drug interactions	Caco-2 cells	in vitro	0.1～10 µM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 57-[redacted]	4.2.2.6.8
	Caco-2 cells	in vitro	0.03～30 µM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 55-[redacted]	4.2.2.6.9
	Transfected HEK 293 cells	in vitro	0.36 and 3.6 µM	No	PortaCellTec biosciences GmbH, Göttingen, Germany	PCT-008-[redacted] (DMPK 76-[redacted])	4.2.2.6.10
	Transfected HEK 293 cells	in vitro	0.42 and 4.2 µM	No	Institute of Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology, Erlangen, Germany	DMPK 77-[redacted]	4.2.2.6.11
	Membrane vesicles expressing hBSEP	in vitro	2.6 and 12.8 µM	No	Sekisui Medical Co., Ltd., Ibaraki, Japan	XS-0165 (DMPK 32-[redacted])	4.2.2.6.13
	MDCKII-BCRP cells	in vitro	0.3, 1, 15 µM	No	TNO, Zeist, The Netherlands	TNO 9518 (DMPK 44-[redacted])	4.2.2.6.14
	Transfected HEK 293 cells	in vitro	0.2～20 µM	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 24-[redacted]	4.2.2.6.15
	Transfected HEK 293 cells	in vitro	1～500 µM	No	PortaCellTec biosciences GmbH, Göttingen, Germany	PCT-063-15 ([redacted]-GR034-P0)	4.2.2.6.16

Type of study	Test system	Method of administration	Dose or concentration	GLP compliance	Testing facility	Study number	CTD section number
	Transfected HEK 293 cells	in vitro	0.47～32 µM	No	PortaCellTec biosciences GmbH, Göttingen, Germany	PCT-065-[redacted] ([redacted]-GR036-P0)	4.2.2.6.17
	MDCKII-MRP2 cells	in vitro	0.1～15 µM	No	TNO, Zeist, The Netherlands	9626-02 ([redacted]-GR115-P0)	4.2.2.6.18
	Transfected HEK 293 cells	in vitro	0.005～150 µM; 0.033～5 µM	No	PortaCellTec biosciences GmbH, Germany	PCT-064-[redacted] ([redacted]-GR035-P0)	4.2.2.6.19
	Transfected HEK 293 cells	in vitro	0.05～5 µM	No	TNO, Zeist, The Netherlands	9626-03 ([redacted]-GR045-P0)	4.2.2.6.20
	Transfected HEK 293 cells	in vitro	0.05～5 µM	No	TNO, Zeist, The Netherlands	9626-03 ([redacted]-GR046-P0)	4.2.2.6.21
	Transfected HEK 293 cells	In vitro	0.03～300 µM	No	PortaCellTec biosciences GmbH, Göttingen, Germany	PCT-114-[redacted] ([redacted]-DA0273-0)	4.2.2.6.12
	Transfected HEK 293 cells	In vitro	0.2～10 µM	No	PortaCellTec biosciences GmbH, Göttingen, Germany	PCT-121-[redacted] ([redacted]-DA0484-0)	4.2.2.6.22
	Transfected HEK 293 cells	In vitro	0.03～3 µM	No	PortaCellTec biosciences GmbH, Göttingen, Germany	PCT-122-[redacted] ([redacted]-DA0485-0)	4.2.2.6.23
	Not Applicable	In slilico	Not Applicable	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	[redacted]-DA0624-0	4.2.2.6.24
Other: TK	Rat	Repeated, po (4 weeks)	3,10, 30 and 90 mg/kg	Yes	Merck KGaA, Grafing, Germany	T16157	4.2.3.2.1
	Rat	Repeated, po (4 weeks)	30, 90 and 270 mg/kg	Yes	Merck KGaA, Grafing, Germany	T16193	4.2.3.2.2
	Rat	Repeated, po (26 weeks)	15, 45 and 135 mg/kg	Yes	Merck KGaA, Grafing, Germany	T16179	4.2.3.2.4
	Rat	Repeated, po (4 weeks)	30, 90, 450 and 2000 mg/kg	Yes	Nuvisan GmbH, Grafing, Germany	[redacted]-DA0061-0	4.2.3.2.3
	Rabbit	Repeated, po	50, 150, 450 mg/kg	Yes	RBM, Istituto di Ricerche Biomediche, Italy	RF0480	4.2.3.5.2.2
	Rabbit	Repeated, po	0.5, 5, 25 mg/kg	Yes	RBM, Istituto di Ricerche Biomediche, Italy	RF5400	4.2.3.5.2.3

Type of study	Test system	Method of administration	Dose or concentration	GLP compliance	Testing facility	Study number	CTD section number
	Dog	Repeated, po (4 weeks)	2.5, 10 and 40 mg/kg	Yes	Merck KGaA, Grafing, Germany	T 8421	4.2.3.2.6
	Dog	Repeated, po (13 weeks)	3, 10 and 30 mg/kg	Yes	Merck KGaA, Grafing, Germany	T 8427	4.2.3.2.7
	Dog	Repeated, po (2 weeks)	10, 40, 160 (120) mg/kg	Yes	Merck KGaA, Grafing, Germany	T 8453	4.2.3.2.8
	Dog	Repeated, po (39 weeks)	3, 10 and 30 mg/kg	Yes	Merck KGaA, Grafing, Germany	[redacted]-DA009-N0	4.2.3.2.9
	Dog	Repeated, po (39 weeks)	3, 10 and 30 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	[redacted]-GR108-V0	4.2.2.7.2
	Dog	Repeated, po (39 weeks)	3, 10 and 30 mg/kg	No	Merck KGaA, Grafing, Germany	[redacted]-GR019-P0	4.2.2.7.3
Other: PK/PD	Mouse, (data from studies ONC367-1-65MFH and ONC207-1-35MFH)	In silico	5～200 mg/kg	No	Merck Serono, Istituto di Ricerche Biomediche, Italy	RF 6770	4.2.2.7.1

2　分析方法及びバリデーション試験

2-A　分析方法及びバリデーション試験の概要

Test Article: tepotinib (MSC2156119J), MSC2571107A, MSC2571109A

Species	Analyte(s)	Matrix	Calibration range (ng/mL)	Method Validation status	Testing	Validation study	Method used in study No.	CTD section number
Rat	MSC2156119J MSC2571107A MSC2571109A	Plasma	5.00～2500 0.200～100 0.500～500	Non-GLP	Nuvisan GmbH, Grafing, Germany	G-A-LAB-[redacted]-005	[redacted]-DA0061-0	4.2.2.1.4
Rat	tepotinib (MSC2156119J)	Plasma	0.200～100	Non-GLP	RBM, Istituto di Ricerche Biomediche, Colleretto Giacosa, Italy	IMP29058	T16157, T16179, T16193	4.2.2.1.1
Rabbit	MSC2156119J	Plasma	0.200～100	Non-GLP	RBM, Istituto di Ricerche Biomediche, Colleretto Giacosa, Italy	RF0270	RF0480, RF5400	4.2.2.1.3
Dog	MSC2156119J	Plasma	0.200～100	Non-GLP	RBM, Istituto di Ricerche Biomediche, Colleretto Giacosa, Italy	IMP29058	T8421	4.2.2.1.1
Dog	tepotinib (MSC2156119J)	Plasma	0.207～103	Non-GLP	Merck KGaA, Grafing, Germany	DMPK 103-[redacted]	T8427, T8453, [redacted]-DA009-N0	4.2.2.1.2

2-B ラット血漿における分析方法及びバリデーション試験

Batch: EE15002624 (tepotinib), 2 (MSC2571107A, MSC2571109A)

Test Article: tepotinib（MSC2156119J）, MSC2571107A and MSC2571109A（metabolites）

Location in CTD: Section: 4.2.2.1.4

Study No.: G-A-LAB-[redacted]-005

Type of study	Bioanalytical Method Validation				
Method	UPLC-MS/MS				
Species and strain	Rat, Crl: WI (Han)				
Matrix	Plasma				
Anticoagulant	K_2-EDTA				
Tabulated result					
Test	**Test details**	**Results**			**Acceptability**
Sample properties	Matrix	Plasma			N/A
	Anticoagulant	K_2-EDTA			
	Stabilization/modification	Native/ no modification			
	Am z ount of plasma used	20 µL per sample			
		tepotinib	**MSC2571107A**	**MSC2571109A**	
Selectivity	Interference on analyte in pooled matrix	2.85%	0.743%	1.34%	Met acceptance
	Interference on analyte in zero standards	2.86%	3.78%	3.35%	Met acceptance
	Interference on IS in pooled blank matrix	50.2%[1)]	33.3%[1)]	34.1%[1)]	Met acceptance[1)]
	Interference on IS in pooled matrix spiked with analyte at ULOQ	1.55%	0.00562%	0.00730%	Met acceptance
Calibration curve	Calibration range	5.00 – 2500 ng/mL	0.200 – 100 ng/mL	0.500 – 500 ng/mL	Met acceptance
		established with linear regression and $1/x^2$ weighting			
	Calibration samples	Back-calculated concentrations within ±15.0/±20.0% of nominal.			Met acceptance
	Correlation coefficient (r)	≥0.9965	≥0.9971	≥0.9973	Met acceptance

Type of study	Bioanalytical Method Validation					
Method	UPLC-MS/MS					
Species and strain	Rat, Crl: WI (Han)					
Matrix	Plasma					
Anticoagulant	K_2-EDTA					
Tabulated result						
Test	**Test details**		**Results**			**Acceptability**
			tepotinib	**MSC2571107A**	**MSC2571109A**	
Intra-run accuracy (%)	Dilution	25000 / 1000 ng/mL	95.4	97.1	-	Met acceptance at all levels
	High	2000/80.0/400 ng/mL	89.6	103	99.7	
	Medium	250/10.0/50.0 ng/mL	94.0	95.8	91.5	
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	101	92.0	91.5	
	LLOQ	5.00/0.200/0.500 ng/mL	97.6	90.0	94.1	
Intra-run precision (%)	Dilution	25000 / 1000 ng/mL	2.71	2.38	-	Met acceptance at all levels
	High	2000/80.0/400 ng/mL	2.10	2.03	2.03	
	Medium	250/10.0/50.0 ng/mL	3.36	2.53	2.06	
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	3.45	4.92	2.60	
	LLOQ	5.00/0.200/0.500 ng/mL	4.41	7.30	3.63	
Inter-run accuracy (%)	High	2000/80.0/400 ng/mL	90.3	103	99.9	Met acceptance at all levels
	Medium	250/10.0/50.0 ng/mL	94.3	95.3	92.8	
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	101	90.5	89.7	
	LLOQ	5.00/0.200/0.500 ng/mL	97.6	84.4	91.1	
Inter-run precision (%)	High	2000/80.0/400 ng/mL	2.55	2.79	1.57	Met acceptance at all levels
	Medium	250/10.0/50.0 ng/mL	2.53	2.31	2.77	
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	3.30	6.59	3.51	
	LLOQ	5.00/0.200/0.500 ng/mL	4.56	14.5	5.63	
Carry Over	Blank samples injected following ULOQ in all A&P runs		Third sample < 20.0 % of LLOQ response	Second sample < 20.0 % of LLOQ response	Second sample < 20.0 % of LLOQ response	Met acceptance with the third blank

Type of study	Bioanalytical Method Validation					
Method	UPLC-MS/MS					
Species and strain	Rat, Crl: WI (Han)					
Matrix	Plasma					
Anticoagulant	K_2-EDTA					
Tabulated result						
Test	**Test details**		**Results**			**Acceptability**
			tepotinib	**MSC2571107A**	**MSC2571109A**	
Normalized matrix factor	High	2000/80.0/400 ng/mL	1.03	0.999	1.00	Met acceptance
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	1.04	0.987	0.981	
Normalized recovery	High	2000/80.0/400 ng/mL	1.05	0.910	0.945	Met acceptance
	Mid	250/10.0/50.0 ng/mL	1.01	0.971	0.970	
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	1.08	0.915	0.946	
Matrix factor	High	2000/80.0/400 ng/mL	1.01	0.906	0.981	Met acceptance
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	0.938	0.860	0.896	
Recovery	High	2000/80.0/400 ng/mL	0.768	0.842	0.984	Met acceptance
	Mid	250/10.0/50.0 ng/mL	0.719	0.892	0.922	
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	0.815	0.885	0.942	
QC samples	QC samples in runs outside intra-run accuracy & precision		Run acceptance was met			Met acceptance
Benchtop stability (27 h, ambient) (%)[b]	High	2000/80.0/400 ng/mL	93.2	101	101	Met acceptance
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	103	92.9	92.3	
Whole blood stability (2 h, ambient) (%)[c]	High	2000/80.0/400 ng/mL	100	104	107	Met acceptance
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	92.9	104	106	
Freeze/thaw stability, 4 cycle (%)[b]	High	2000/80.0/400 ng/mL	92.8	102	101	Met acceptance
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	102	89.2	89.2	
Freeze/thaw stability, 5 cycle (%)[b]	High	2000/80.0/400 ng/mL	95.3	94.1	95.0	Met acceptance
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	105	92.4	89.6	

Type of study	Bioanalytical Method Validation					
Method	UPLC-MS/MS					
Species and strain	Rat, Crl: WI (Han)					
Matrix	Plasma					
Anticoagulant	K_2-EDTA					
Tabulated result						
Test	**Test details**		**Results**			**Acceptability**
			tepotinib	**MSC2571107A**	**MSC2571109A**	
Re-injection feasibility (93 h, 10°C) (%)[b]	High	2000/80.0/400 ng/mL	94.2	103	101	Met acceptance
	Medium	250/10.0/50.0 ng/mL	91.8	93.9	92.3	
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	99.7	93.3	89.6	
	LLOQ	5.00/0.200/0.500 ng/mL	91.1	94.1	85.9	
Long term stability (48 days, -20°C) (%)[b]	High	2000/80.0/400 ng/mL	100	101	101	Met acceptance
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	98.3	87.7	84.0[d]	
Long term stability (106 days, -20°C) (%)[b]	High	2000/80.0/400 ng/mL	94.2	93.3	94.2	Met acceptance
	Low	15.0/0.600/1.50 ng/mL	93.5	89.8	92.1	
Working solution stability (23 h, ambient) (%)[b]		500000/20000/100000 ng/mL	98.3	97.2	96.0	Met acceptance
		250/10.0/25.0 ng/mL	98.0	90.9	92.9	
Working solution stability (7 days, 6°C) (%)[b]		500000/20000/100000 ng/mL	98.9	98.0	101	Met acceptance
		250/10.0/25.0 ng/mL	100	91.5	91.7	
Working solution stability (48 days, 6°C) (%)[b]		500000/20000/100000 ng/mL	96.3	96.2	99.3	Met acceptance
		250/10.0/25.0 ng/mL	100	89.6[d]	93.6	
Working solution stability (106 days, ambient) (%)[b]		500000/20000/100000 ng/mL	101	97.8	101	Met acceptance
		250/10.0/25.0 ng/mL	96.3	83.5[d]	86.8[d]	
Working solution stability (183 days, 6°C) (%)[b]		500000/20000/100000 ng/mL	99.7	100	102	Met acceptance
		250/10.0/25.0 ng/mL	97.3	92.2	90.4	

Source Report (G-A-LAB-[redacted]-005)

a: failed acceptance criteria, but interference was observed only in one blank sample (probably contaminated), accepted by the responsible bioanalyst

b: Reflects accuracy versus nominal concentration
c: Relative %; reflects percentage deviation of results obtained from measurements at initial time (T0) and after (Tx).
d: failed acceptance criteria, but was accepted, because further long-term storage results were acceptable.
LLOQ: Lower limit of quantification; N/A: not applicable; ULOQ: Upper limit of quantification; UPLC-MS/MS: Ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection.

2-C ラット及びイヌ血漿における分析方法及びバリデーション試験

Batch: 1 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section: 4.2.2.1.1 **Study No.:** IMP29058

Tabulated results:			**Rat**	**Dog**
Study no.			**IMP29058 (RE8920)**	**IMP29058 (RE8920)**
Matrix			**Plasma**	**Plasma**
Linearity	Calibration range		0.20～100 ng/mL	0.20～100 ng/mL
	Determination coefficient, R^2			
	Weighting factor		$1/x^2$	$1/x^2$
Sensitivity	Lower limit of quantification		0.20 ng/mL	0.20 ng/mL
	Intra batch precision (CV) at LLOQ (n=6)		-	-
	Intra batch accuracy (% deviation) at LLOQ (n=6)		12.5%	12.5%
Precision	Intra run (CV) (n=3)	0.600 ng/mL	1.7～5.2%	-
		7.50 ng/mL	1.1～4.2%	-
		75.0 ng/mL	3.2～7.3%	-
Accuracy	Intra run (% deviation) (n=3)	0.600 ng/mL	1.1～11.7%	-
		7.50 ng/mL	0.3～8.5%	-
		75.0 ng/mL	2.1～2.6%	-
Carry over			16.2%	33.8%
Dilution (50 µg/mL)	Intra-batch precision (CV) (n=6)		5.4%	3.5%
	Intra-batch accuracy (% deviation) (n=6) (deviation from nominal value)		1.5%	8.2%
Autosampler stability	Up to 24 h at 5 ± 1°C	0.60 ng/mL	Stable	Stable
		75.0 ng/mL	Stable	Stable
Freeze / thaw stability	1-3 cycles at -20 ± 5°C	0.60 ng/mL	Stable	Stable

Tabulated results:			**Rat**	**Dog**
Study no.			**IMP29058 (RE8920)**	**IMP29058 (RE8920)**
Matrix			**Plasma**	**Plasma**
		75.0 ng/mL	Stable	Stable
	1-3 cycles at -80 ± 5°C	0.60 ng/mL	Stable	Stable
		75.0 ng/mL	Stable	Stable
Short term stability	Up to 4 h at RT (storage at -20 ± 5°C)	0.60 ng/mL	Stable	Stable
		75.0 ng/mL	Stable	Stable
	Up to 4 h at RT (storage at -80 ± 5°C)	0.60 ng/mL	Stable	Stable
		75.0 ng/mL	Stable	Stable
Long term stability	Up to 6 months at -20 ± 5°C	0.60 ng/mL	Stable	Stable
		75.0 ng/mL	Stable	Stable
	Up to 6 months at -80 ± 5°C	0.60 ng/mL	Stable	Stable
		75.0 ng/mL	Stable	Stable

Source Study Report: (Study Report IMP29058). CV: Coefficient of variation, LLOQ: Lower limit of quantification, RT: Room Temperature

2-D ウサギ血漿における分析方法及びバリデーション試験

Batch: 13, EE103804 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section: 4.2.2.1.3 **Study No.:** RF0270

Tabulated results:				**Rabbit**
Study no.				**RF0270**
Matrix				**Plasma**
Linearity	Calibration range			0.20 – 100 ng/mL
	Determination coefficient, R^2			0.9977
	Weighting factor			$1/x^2$
Sensitivity	Lower limit of quantification			0.2 ng/mL
	Intra-batch precision (CV) at LLOQ (n=6)			6.5%
	Intra-batch accuracy (% deviation) at LLOQ (n=6)			6.7%
Precision	Intra-run (CV)	n=12	0.600 ng/mL	9.2%
		n=13	7.50 ng/mL	4.7%
		n=13	75.0 ng/mL	8.0%
Accuracy	Intra-run (% deviation)	n=12	0.600 ng/mL	1.9%
		n=13	7.50 ng/mL	3.3%
		n=13	75.0 ng/mL	0.0%
Carry over				15.5%
Dilution (50 µg/mL)	Intra-batch precision (CV) (n=6)			5.6%
	Intra-batch accuracy (% deviation) (n=6) (deviation from nominal value)			10.1%
Autosampler stability	Up to 24 h at 5 ± 1°C		0.60 ng/mL	Stable
			75.0 ng/mL	Stable
Freeze / thaw stability	1-3 cycles at –20 ± 5°C		0.60 ng/mL	Stable
			75.0 ng/mL	Stable

Tabulated results:			**Rabbit**
Study no.			**RF0270**
Matrix			**Plasma**
	1-3 cycles at –80 ± 10°C	0.60 ng/mL	Stable
		75.0 ng/mL	Stable
Short term stability	Up to 4 h at RT (storage at –20±5°C)	0.60 ng/mL	Stable
		75.0 ng/mL	Stable
	Up to 4 h at RT (storage at –80±10°C)	0.60 ng/mL	Stable
		75.0 ng/mL	Stable
Long term stability	Up to 6 months at –20 ± 5°C	0.60 ng/mL	Stable
		75.0 ng/mL	Stable
	Up to 3 months at –80 ± 10°C	0.60 ng/mL	Stable
		75.0 ng/mL	Stable
Stock solution stability	Up to 6 h at RT		Stable
	Up to 3 months at 5 ± 3°C		Stable
Working solution stability	Up to 6 h at RT		Stable
	Up to 3 months at 5 ± 3°C		Stable

Source Study Report: (Study Report RF0270). CV: Coefficient of variation, LLOQ: Lower limit of quantification, RT: Room Temperature

2-E イヌ血漿における分析方法及びバリデーション試験

Batch: 13 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section: 4.2.2.1.2 **Study No.:** DMPK 103-[redacted]

Matrix			Dog plasma
Anticoagulant			Heparin
Stabilization / modification			Native, no modification
Amount of plasma			20 µL per sample
Calibration curve	Calibration range		0.207 – 103 ng/mL
	Calibration model		Linear regression
	Weighting factor established		$1/x^2$
	Correlation coefficient (r)		1.00
Intra-batch accuracy (%)	High	82.8 ng/mL	101
	Medium	5.18 ng/mL	100
	Low	0.619 ng/mL	97.1
	LLOQ	0.207 ng/mL	105
Intra-batch precision (%)	High	82.8 ng/mL	1.52
	Medium	5.18 ng/mL	1.29
	Low	0.619 ng/mL	4.18
	LLOQ	0.207 ng/mL	3.03
Samples exceeding ULOQ	Maximum dilution level		776 ng/mL
	Maximum dilution factor		10
Carryover	Blank plasma injected		3rd blank <20% LLOQ response
IS normalized recovery	High		1.22
	Medium		0.965
	Low		0.958
IS normalized matrix effect	High	82.8 ng/mL	0.984

Matrix			Dog plasma
Anticoagulant			Heparin
Stabilization / modification			Native, no modification
Amount of plasma			20 µL per sample
	Medium	5.18 ng/mL	1.00
	Low	0.619 ng/mL	1.00
Re-injection feasibility	Re-injection of whole batch		72 h at ambient temperature
	Continue measurement of aborted batch		72 h at ambient temperature
Batch size tested	No of injections		163

Source Study Report: (Study Report DMPK 103 [redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; LLOQ: Lower limit of quantification, ULOQ: UpperLower limit of quantification.

3 薬物動態試験：吸収：in vitro

3-A in vitro における吸収

Batch: 5, EE10003524 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.2.1 **Study No.:** DMPK 52-[redacted]

Study no. / GLP-status	DMPK 52-[redacted] / non-GLP						
Test system/species	MDR1- and vector-LLC-PK1 cells, porcine kidney cell line						
Analytical method	Measurement of ^{14}C-MSC2156119J permeation from donor to acceptor chamber in A-B and B-A directions by liquid scintillation counting						
Experimental results							
Test item concentration	**Inhibitor**	**$P_{app,\ plasma,\ 0\sim2h}$ in MDR1-LLC-PK1 cells (nm/s)**					
		BA	**SD**	**AB**	**SD**	**R_E**	**Reduction (%)**
MSC2156119J 0.3 μM[1)]	-	482	16	54	2	8.9	-
	+PSC833 3 μM	237	9	145	14	1.6	92
MSC2156119J 1 μM[1)]	-	488	11	53	2	9.3	-
	+PSC833 3 μM	243	5	118	7	2.1	87

Test item concentration	**P_{app} (nm/s) in vector-LLC-PK1 cells**		
	BA	**AB**	**R_E**
MSC2156119J 15 μM[1) and 3)]	170	66	2.6
Metoprolol 10 μM[2)]	310	280	1.1

Source. (Study Report DMPK 52-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; Papp: apparent permeability; BA: Basal to apical, AB. Apical to basal; SD: Standard deviation. BCRP: Breast Cancer Resistance Protein.

1) 3% human plasma and 1 μM Ko143 were added to avoid stickiness of MSC2156119J to Transwell and to abolish inherent porcine bcrp function.

2) Solution did not include human plasma.

3) Inherent porcine mdr1 would be affecting the obtained Papp values.

P_{app}: apparent permeation value calculated by slope of transport from 3 time points in absence of human plasma or in presence of human plasma but corrected by unbound fraction.

$P_{app,plasma}$,0～2h: apparent permeation values calculated by only 1 time point at 2 h in absence and presence of human plasma, respectively.

Reduction (%) = $(1 - (R_{ei} - 1)/(R_{ea} - 1)) \times 100$, R_{ei}: efflux ratio of substrate in the presence of inhibitors, R_{ea}: efflux ratio of substrate in the absence of any inhibitors

3-B in vitro における吸収

Batch: EE10003524, ZAK011/008 (Labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.2.2 **Study No.:** DMPK 140[redacted]

Study no. / GLP-status	DMPK 140[redacted] / non-GLP		
Test system/species	Caco-2/TC7, human intestinal cell line		
Analytical method	Measurement of ^{14}C-MSC2156119J permeation from donor to acceptor chamber in AB and BA direction by liquid scintillation counting		
Experimental results			
Incubation	**P_{app} (nm/s)**		
	BA direction	**AB direction**	**Efflux ratio (R_E)**
100 µM MSC2156119J + non-specific transporter inhibitor mix[a]	166 ± 11	157 ± 10	1.1
1.8 µM MSC2156119J	-	261～275	2.4～2.8
10 µM Metoprolol	-	321～378[b]	

a: Non-specific transporter inhibitor mix consists of 1 µM PSC833, 1 µM Ko143 and 20 µM CsA
b: Range of P_{app} values in all permeation experimental sets

Additional information:

Sufficient recovery during incubation was obtained by adding 10% human plasma in Transwell plate.

P_{app} values of MSC2156119J were corrected for unbound fraction in 10% human plasma.

The Caco-2 monolayer was intact as shown by control experiments using lucifer yellow.

The test item was soluble in assay buffer up to the investigated concentration.

Test item application solution concentrations in DMSO were within ± 15% of the nominal concentrations.

Previous report (DMPK 57-09 and DMPK 80-09) supports that the test item was stable during incubation in this study.

Source: (Study Report DMPK 140[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; BA: Basal to apical, AB. Apical to basal; P_{app}: apparent permeability.
a: Non-specific transporter inhibitor mix consists of 1 µM PSC833, 1 µM Ko143 and 20 µM CsA
b: Range of P_{app} values in all permeation experimental sets
R_E: efflux ratio of substrate.

4 薬物動態試験：吸収：単回投与

4-A 単回投与時における吸収

Batch: Batch 5 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.2.3, 4.2.2.2.4, 4.2.2.2.6, 4.2.2.2.7 **Study No.:** DMPK 74-[redacted], 75-[redacted], 72-[redacted], 73-[redacted]

Study no.	**DMPK 74-[redacted]**	**DMPK 75-[redacted]**	**DMPK 72-[redacted]**	**DMPK 73-[redacted]**
Batch	Batch 5	Batch 5	Batch 5	Batch 5
Species/strain	Mouse HsdWin: NMRI	Rat Wistar, Hsd/Cpb:WU	Dog Marshall Beagle	Monkey Cynomolgus
Gender (m/f)/number of animals	m/f / 3/3	m/f / 3/3	f / 3	f / 3
Feeding condition	Feed diet SDS RM1 (E)	Feed diet SDS RM1 (E)	Feed diet SDS RM1 (E)	Feed diet SDS RM1 (E) and SD OWM (E)
Vehicle/formulation (iv)	Solutol HS15/ ethanol/water (20:10:70, V:V:V)	Solutol HS15/ ethanol/water (20:10:70, V:V:V)	Solutol HS15/ ethanol/water (20:10:70, V:V:V)	Solutol HS15/ ethanol/water (20:10:70, V:V:V)
Vehicle/formulation (po)	0.25% aqueous hydroxypropylmethyl-cellulose (Methocel® K4M)	0.25% aqueous hydroxypropylmethyl-cellulose (Methocel® K4M)	0.25% aqueous hydroxypropylmethyl-cellulose (Methocel® K4M)	0.25% aqueous hydroxypropylmethyl-cellulose (Methocel® K4M)
Sample (whole blood, plasma, serum)	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	MSC2156119J	MSC2156119J	MSC2156119J	MSC2156119J

Source: (Study Reports DMPK 74-[redacted], 75-[redacted] 72-[redacted] and 73-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics. C_{max}: maximum concentration, t_{max}: time to reach maximum concentration; AUC. Area under the concentration vs time curve; $AUC_{0\text{-}last}$: AUC zero to last measurable concentration; $AUC_{0\text{-}\infty}$: AUC zero to infinity; $t_{1/2}$: Half-life; F: Oral bioavailability; f: female; m:male; V_{ss}: Volume of distribution at steady state; CL: Clearance.

a: Time interval for half-life estimation: 2 to 8 h

b: Time interval for half-life estimation: 4 to 24 h

c: Time interval for half-life estimation: 4 to 48 h

d: Time interval for half-life estimation: 6 to 72 h

4-B 単回投与時における吸収

Batch: EE 102904, 5, EE 103804-20 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.2.5 **Study No.:** DMPK 106-[redacted]

Study-no. / GLP-status:	DMPK 106-[redacted] / non-GLP		
Type of study:	Pharmacokinetics After Single Oral Administration of different batches of MSC2156119J differing in particle size distribution		
Species / strain:	Wistar (Crl: WI (Han) rats		
Gender (m / f) / number of animals:	f / 18		
Test item:	MSC2156119J		
Vehicle / formulation:	0.25% Methocel in water		
Method of administration:	Single oral		
Dose (mg/kg/d):	30		
Sample matrix:	Plasma		
Analyte:	MSC2156119		
Assay:	UPLC-MS/MS		
PK parameters of MSC2156119 after single oral administration of 30 mg/kg to female rats			
Batch	**EE 102904**	**5**	**EE 103804-20**
Actual dose (mg/kg)	26.7	26.4	27.0
t_{max} (h)	2.00[a]	2.00[a]	2.00[a]
C_{max} (ng/mL)	344	435	466
(μM)	0.698	0.882	0.945
AUC_{0-t} (h*ng/mL)	2980	3030	3140
(h*μM)	6.04	6.15	6.37
AUC_{0-t}/Dose (h*ng/mL)/(mg/kg)	112	115	116
$AUC_{0-\infty}$ (h*ng/mL)	3150	3090	3200
(h*μM)	6.39	6.27	6.49
$AUC_{0-\infty}$/Dose (h*ng/mL)/(mg/kg)	118	117	118

AUC_{extra} (%)	2.37	1.98	1.90
$t_{1/2}$ (h)	3.99	4.04	3.97
λ_{start} (h)	6.00	5.00	5.00
λ_{end} (h)	24.0	24.0	24.0

Source: (Study Report DMPK 106 [redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; UPLC-MS/MS: Ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection; C_{max}: maximum concentration; $t_{1/2}$: Half-life; AUC: Area under the concentration vs time curve; $AUC_{(0-t)}$: AUC zero to last measurable concentration; $AUC_{0-\infty}$: AUC zero to infinity; t_{max}: time to reach maximum concentration
a: Median

4-C 単回投与時における吸収

Batch: Y13B8209 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.2.8 **Study No.:** DMPK 90-[redacted]

Study-no. / GLP-status:	DMPK 90-[redacted] / non-GLP
Type of study:	Pharmacokinetics After Single Oral Administration of MSC2156119J to Fasted and Fed Female Cynomolgus Monkeys
Species / strain:	Cynomolgus Monkey / Macaca fascicularis
Gender (m / f) / number of animals:	f / 6
Test item:	MSC2156119J
Vehicle / formulation:	The test item was administered in a capsule
Method of administration:	Single oral
Dose (mg/kg/d):	15 mg per animal
Sample matrix:	Plasma
Analytes:	MSC2156119
Assay:	UPLC MS MS

Tabulated mean results:

	N	**C_{max} (ng/mL)**	**C_{max}/Dose (ng/mL)/ (mg/kg)**	**t_{max}[a] (h)**	**AUC_{0-t} (ng*h/mL)**	**AUC_{0-t}/Dose (ng*h/mL)/ (mg/kg)**	**$AUC_{0-\infty}$ (ng*h/mL)**	**$AUC_{0-\infty}$/Dose (ng*h/mL)/ (mg/kg)**	**$t_{1/2}$ (h)**
Fed	6	13.3	3.99	24.0	478	145	543	167	22.3
Fasted	6	13.5	4.11	24.0	523	159	614	186	21.7

Additional information: NA

Source: (Study Report DMPK 90-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; UPLC-MS/MS: Ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection; C_{max}: maximum concentration; $t_{1/2}$: Half-life; AUC: Area under the plasma concentration vs time curve; AUC_{0-t}: AUC zero to last measurable concentration; $AUC_{0-\infty}$: AUC zero to infinity; t_{max}: time to reach maximum concentration; C_{max}/Dose: dose normalized.
a: Median value

5　薬物動態試験：吸収：反復投与

Test Article: tepotinib（MSC2156119J）

反復投与 PK 試験を実施する代わりに、TK 試験のデータを引用した（CTD モジュール 2.6.7 参照）

6 薬物動態試験：分布

6-A 組織内分布

Batch: ZAK008/034 (labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.7 **Study No.:** DMPK 149-[redacted]

Type of study: Distribution and Metabolism After Single po Administration of [14C]-MSC2156119J in Tumor-Bearing Female nude CD-1 mice

Method: The objective of this study was to investigate the distribution of 14C-MSC2156119J after single oral administration to tumor-bearing female nude CD-1 mice. The study aimed to determine the tumor-to-plasma ratios of parent drug as well as its major metabolites, to visualize the distribution of drug-related radioactivity to organs and tissues by whole body autoradiography and to elucidate the major metabolites.

Tabulated results:

Gender and Number of animals / strain:	13F / CD-1 nu/nu mice with the human gastric carcinoma cell line Hs746T
Vehicle / formulation:	water / solution
Route of administration / chemical dose:	Oral / 6 mg/kg MSC2156119J
Radionucleide / radioactive dose:	^{14}C / 5 MBq/kg

Animal no.	**Time points (h)**	**Conc. in tumor (ng eq/g)**	**Conc. in plasma (ng eq/mL)**	**Tumor-to-plasma-ratio (K_p).**	**Conc. in tumor (ng/g)**	**Conc. in plasma (ng eq/mL)**	**Tumor-to-plasma-ratio (K_p)**
		Total radioactivity			**MSC2156119J (calculated on free base)**		
792	1	289	126	2.29	-[a]	-[a]	nc
793		240	497	0.483	240	150	1.60
794	6	909	141	6.45	872	75	11.6
795		835	120	6.96			
796	24	464	< LLOQ	nc	468	< LLOQ	nc
797		472	< LLOQ	nc			
798	48	68.9	< LLOQ	nc	Nd	< LLOQ	nc

Additional information: In plasma of the CD-1 nude mice, besides the parent compound MSC2156119J only the two co-eluting, diastereomeric N oxides M508-1 and -2 were found. In tumor tissue, only the parent compound MSC2156119J was found. A three-fold accumulation of MSC2156119J from 240 to 872 ng eg/mL at time point 1 to 6 hours is observed, after 24 hours 468 ng g MSC2156119J was measured in the tumor tissue.

Source: (Study Report DMPK 149[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; LLOQ: Lower limit of quantification; nc: not calculated. nd: not determined

a: no pool made due to low radioactivity of animal no. 792

6-B 組織内分布

Batch: 13, (HHB009/016 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.8 **Study No.:** DMPK 38-[redacted]

Species:	non-pigmented Wistar (Crl:WI(Han)) rats	pigmented Lister Hooded (Crl:Lis) rats
Gender (m/f)/number of animals:	m (2)	m (7)
Feeding condition:	special standard diet (SDS RM1 (E)	special standard diet (SDS RM1 (E)
Vehicle/formulation:	Solutol HS15/ethanol/water	aqueous solution with water
Method of administration:	Iv	Po
Dose (mg/kg):	2	4
Radionuclide:	^{14}C	^{14}C
Specific activity:	4 MBq/kg	4 MBq/kg
Sampling time:	0.1 and 2 hours	1, 6, 24, 48, 72, 96 hours

Methods: The distribution of ^{14}C-MSC2156119J after single oral and intravenous administration was studied by whole body autoradiography (WBA).

Male Wistar (Crl:WI(Han)) rats received single intravenous doses of 2 mg/kg body weight and male Lister Hooded rats (Crl:Lis) received single oral doses of 4 mg/kg body weight (related to the salt). The test item was given as an aqueous solution with water (po) and with Solutol HS15/ethanol/water (iv), respectively. The rats (one per time point) were sacrificed by CO_2 at 0.1 and 2 hours after intravenous injection and at 1, 6, 24, 48, 72, 96 hours after oral dosing. The carcasses were frozen and sections were prepared for whole body autoradiography procedures. Autoradiographs were produced from sections of the whole body using a phosphor storage image analysis system. Images of the autoradiographs and blood standards were produced in pseudo colors. The assessment of tissue concentrations was performed by visual comparison of areas of interest in the autoradiographs with the blood standards, using a semi quantitative scoring system (low, medium, high).

After oral administration, total radioactivity in the eyes of the rats was determined by liquid scintillation counting (LSC).

Results: Detectable concentrations of radioactivity throughout the body indicated systemic availability of drug-related radioactivity after oral administration, i.e. absorption from the intestine occurred. High concentrations were only found in the gastrointestinal tract, however. No radioactivity was detected in the brain and spinal cord. After 24 hours, radioactivity was only visible in the rectum and in proximity to melanin-containing sites, i.e. the pigmented skin and the eyes. The same was true for later time points: only areas of pigmented skin and the eyes showed detectable amounts of radioactivity. Concentrations in the eyes increased over a period of 24 hours and remained more or less constant throughout the study period.

Following intravenous injection, medium to high concentrations in the hepatic tissue (6 minutes after injection) and high concentrations of drug-related radioactivity in the intestine (2 hours after administration) indicated biliary secretion. Moreover, the gastrointestinal mucosal walls appeared to contain high concentrations of radioactivity which is indicative of mucosal secretion throughout the alimentary tract.

At the first sampling time after intravenous injection, highest concentrations of radioactivity were found in the lungs, kidneys and adrenals which is most likely due to the high perfusion of these organs.

Source: (Study Report DMPK 38-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics

6-C 組織内分布

Batch: 13, (HHB009/016 labeled) **Test Article:** tepotinib（EMD1214063*）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.9 **Study No.:** DMPK 65-[redacted]

Species:	Wistar; Crl:WI(WU) rats
Gender (m/f)/number of animals:	m (12) / f (3)
Feeding condition:	standard diet (standard diet SDS RM1 (E))
Vehicle/formulation:	solution in water
Method of administration:	Po
Dose (mg/kg):	4
Radionuclide:	^{14}C
Specific activity:	2 MBq/kg
Sampling time:	m: 1, 6, 24, 48 hours / f: 1, 6, 24 hours
Results	
Additional information: Platelets is only found in animal (male no 179)	

Exposure of organs and tissues to drug-related ^{14}C-radioactivity after single oral administration of 4 mg/kg ^{14}C-EMD1214063 to male Wistar rats (n=3/time point)

Tissue	1 hour	6 hours	24 hours	48 hours	C_{max} (ng eq/g)	t_{max} (h)	$AUC_{0\text{-}last}$ (ng eq/g*h)	$t_{1/2}$ (h)
Total Blood	10.0	35.4	4.28	6.84	35.4	6	517	Nc
Plasma	6.42	24.3	< LLOQ	< LLOQ	24.3	6	80.0	Nc
Heart	131	388	16.0	3.51	388	6	3660	6.34
Spleen	353	1270	76.1	20.7	1270	6	12900	7.25
Lymph node	136	1190	361	141	1190	6	21500	13.8
Lung	710	2640	96.0	22.5	2640	6	23800	6.27
Stomach (Tissue)	14400	2650	41.0	10.6	14400	1	53700	5.44
Small Intestine (Tissue)	10600	12400	139	28.8	12400	6	114000	4.95
Large Intestine (Tissue)	145	2720	260	20.5	2720	6	28400	5.99
Liver	2070	4690	263	61.2	4690	6	48900	6.86

Kidneys	587	2330	275	66.7	2330	6	28400	8.33
Testes + Epididy	7.45	69.7	26.1	11.8	69.7	6	1430	16.6
Gl. vesicularis	19.1	151	14.4	3.77	151	6	1670	8.05
Pancreas	388	1210	86.7	16.2	1210	6	12900	6.87
Adrenals	468	1480	90.9	17.9	1480	6	15100	6.72
Brain	5.89	17.7	< LLOQ	< LLOQ	17.7	6	61.9	Nc
Skin pelvic limb	33.5	245	69.2	46.5	245	6	4590	18.1
Skin back area	34.8	236	83.3	38.0	236	6	4720	16.2
Eyes	10.8	54.3	6.39	< LLOQ	54.3	6	571	Nc
Carcass	49.3	193	49.4	8.28	193	6	3080	9.25

Source Report (Study Report DMPK 65-[redacted]).
nc: not calculated; AUC: Area under the concentration vs time curve; $AUC_{0\text{-last}}$: AUC zero to last measurable concentration; DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics.
*EMD1214063: former nomenclature for MSC2156119J.

Exposure of organs and tissues to drug-related ^{14}C-radioactivity after single oral administration of 4 mg/kg ^{14}C- EMD1214063 to female Wistar rats (n=1/time point)						
Tissue	**1 hour**	**6 hours**	**24 hours**	**C_{max} (ng eq/g)**	**t_{max} (h)**	**$AUC_{0\text{-}last}$ (ng eq/g*h)**
Adrenals	2500	5150	359	5150	6.00	52800
Brain	21.9	41.9	7.74	41.9	6.00	535
Eyes	60.5	142	22.1	142	6.00	1700
Heart	766	1350	79.7	1350	6.00	13800
Kidneys	2120	5440	641	5440	6.00	60400
Large Intestine (Tissue)	437	2790	1200	2790	6.00	42200
Liver	6680	7590	799	7590	6.00	93300
Lung	3830	10600	401	10600	6.00	94100
Lymph node	684	3610	1120	3610	6.00	49400
Ovaries	664	1060	242	1060	6.00	14600
Pancreas	1820	3760	310	3760	6.00	39700
Plasma	33.5	74.4	5.72	74.4	6.00	768
Skin (back area)	69.3	446	78.5	446	6.00	5130
Skin (pelvic limb)	104	394	73.1	394	6.00	4730
Small Intestine (Tissue)	18800	18900	369	18900	6.00	188000
Spleen	2670	9710	957	9710	6.00	100000
Stomach (Tissue)	23200	2840	118	23200	1.00	75500
Uterus	282	526	133	526	6.00	7310

Source Report (Study Report DMPK 65-[redacted]).
nc: not calculated; AUC: Area under the concentration vs time curve; $AUC_{0\text{-}last}$: AUC zero to last measurable concentration; DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics.
*EMD1214063: former nomenclature for MSC2156119J.

Amounts [% of dose] of ^{14}C-radioactivity in organs and tissues after single oral administration of 4 mg/kg ^{14}C- EMD1214063 to male and female Wistar rats							
Tissue	**m (n=3/time point)**				**f (n=1/time point)**		
	1 hour	**6 hours**	**24 hours**	**48 hours**	**1 hour**	**6 hours**	**24 hours**
Total Blood	0.0195	0.0688	0.084	0.0133	0.104	0.175	0.0133
Plasma	0.0062	0.0236	nc	nc	0.0326	0.0724	0.0056
Heart	0.0123	0.0325	0.0014	0.0003	0.0649	0.119	0.0064
Spleen	0.0190	0.0680	0.0040	0.0012	0.119	0.485	0.0499
Lymph node	0.0009	0.0187	0.0038	0.0012	0.0092	0.0431	0.0120
Lung	0.0812	0.314	0.0102	0.0024	0.400	1.17	0.0427
Stomach (Tissue)	2.76	0.385	0.0077	0.0019	2.94	0.374	0.0142
Stomach (Content)	55.5	7.30	0.0645	0.0509	60.7	11.6	0.0138
Small Intestine (Tissue)	5.25	5.55	0.0627	0.0140	6.32	5.99	0.117
Small Intestine (Content)	35.0	28.9	0.371	0.0799	26.5	26.0	0.701
Large Intestine (Tissue)	0.0359	0.623	0.0648	0.0056	0.0756	0.481	0.219
Large Intestine (Content)	0.0427	54.1	4.98	0.249	0.0422	33.8	13.6
Liver	2.29	4.60	0.267	0.0631	5.63	6.06	0.666
Kidneys	0.107	0.405	0.0471	0.0120	0.327	0.792	0.0930
Testes + Epididy.	0.0029	0.0272	0.0107	0.0048	-	-	-
Gl. vesicularis	0.0016	0.0108	0.0013	0.0003	-	-	-
Uterus	-	-	-	-	0.0133	0.0716	0.0056
Ovaries	-	-	-	-	0.0068	0.0126	0.0025
Pancreas	0.0319	0.126	0.0063	0.0013	0.180	0.335	0.0277
Adrenals	0.0018	0.0059	0.0004	nc	0.0139	0.0281	0.0019
Brain	0.0013	0.0039	nc	nc	0.0046	0.0080	0.0016
Skin pelvic limb	0.205	1.50	0.423	0.284	0.636	2.41	0.447
Skin back area	0.213	1.44	0.508	0.233	-	-	-

Eyes	0.0003	0.0015	0.0002	nc	0.0020	0.0043	0.0007
Urine	0.0280	1.22	2.39	2.57	0.248	4.67	5.34
Feces	-	-	95.1	102	-	-	75.9
Carcass	1.03	4.12	1.06	0.180	3.91	11.2	1.14
Total recovery	102	108	105	105	108	103	98.0

Tissue-plasma ratios of the concentrations [C_{tissue}/C_{plasma}] of ^{14}C-radioactivity after single oral administration of 4 mg/kg ^{14}C- EMD1214063 to male and female Wistar rats							
Tissue	**m (n=3/time point)**				**f (n=1/time point)**		
	1 hour	**6 hours**	**24 hours**	**48 hours**	**1 hour**	**6 hours**	**24 hours**
Total Blood	1.56	1.46	not calculated as plasma concentrations were below the limit of quantification		1.60	1.21	1.20
Plasma	1.00	1.00			1.00	1.00	1.00
Heart	20.4	16.0			22.9	18.1	13.9
Spleen	55.0	52.3			79.7	131	167
Lymph node	21.2	49.0			20.4	48.5	196
Lung	111	109			114	142	70.1
Stomach (Tissue)	2240	109			693	38.2	20.6
Small Intestine (Tissue)	1650	510			561	254	64.5
Large Intestine (Tissue)	22.6	112			13.0	37.5	210
Liver	322	193			199	102	140
Kidneys	91.4	95.9			63.3	73.1	112
Testes + Epididy	1.16	2.87			-	-	-
Gl. vesicularis	2.98	6.21			-	-	-
Uterus	-	-			8.42	7.07	23.3
Ovaries	-	-			19.8	14.2	42.3
Pancreas	60.4	49.8			54.3	50.5	54.2
Adrenals	72.9	60.9			74.6	69.2	62.8
Brain	0.917	0.728			0.654	0.563	1.35
Skin pelvic limb	5.22	10.1			3.10	5.30	12.8
Skin back area	5.42	9.71			2.07	5.99	13.7
Eyes	1.68	2.23			1.81	1.91	3.86
Carcass	7.68	7.94			5.13	6.60	8.74

Source Study Report (Study Report DMPK 65-[redacted]). EMD1214063 is a former nomenclature for MSC2156119J. AUC. Area under the concentration vs time curve; $AUC_{0\text{-last}}$: AUC zero to last measured time point; DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics.

6-D 組織内分布

Batch: EE10003524 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.10 **Study No.:** DMPK 128-[redacted]

Species:		Wistar; Crl:WI(Han))			
Gender (m/f)/number of animals:		m (3)			
Feeding condition:		standard diet (standard diet SDS RM1 (E)			
Vehicle/formulation:		10% Kleptose® in water			
Method of administration:		i.v. (infusion)			
Dose (mg/kg/h):		3.66			
Test item:		MSC2156119J			
Sampling time:		24 hours			
Results					
Animal no.	Brain concentration (ng/g)	Plasma concentration (ng/mL)	Brain-to-plasma ratio	Actual dose (mg/kg/h)	CL (L/h/kg)
162	519	200	2.60	3.10	15.5
163	480	162	2.96	3.07	19.0
164	516	169	3.05	3.30	19.5
Mean	505	177	2.87	3.18	18.0
Additional information: NA					

Source Report: (Study Report DMPK 128-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; CL: Clearance.

7 薬物動態試験：蛋白結合

7-A 血漿蛋白結合

Batch: 13, (ZAK008/034 Labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.1 **Study No.:** DMPK 144-[redacted]

Study no./GLP-status	DMPK 144-[redacted] QMS																	
Study system	Plasma from mouse, rat, rabbit, dog, monkey and human had been predialyzed against 70 mM phosphate buffer pH 7.4 to maintain the physiological pH throughout the experiment. The increase in volume, which appears during equilibrium dialysis in the plasma-containing cells was considered during data evaluation.																	
Methods	Equilibrium dialysis followed by LSC and LC-MS/MS Stability determination by radio – HPLC																	
Target entity	^{14}C-MSC2156119J																	
Concentration of ^{14}C- MSC2156119J	0.30, 1.0 and 10 µM 0.15, 0.49 and 4.9 µg/mL (free base)																	
Number of replicates	n=3 per concentration																	
Number of measurements	1 per replicate																	
Dialysis time	1 h																	
Study results:																		
Species	**Mouse**			**Rat**			**Rabbit**			**Dog**			**Monkey**			**Human**		
Strain	**HsdWin:NMRI**			**HsdCpb:WU**			**New Zealand White Rabbit**			**Beagle**			**Cynomolgus**			**Caucasian**		
conc. (µM)	0.30	1.0	10	0.30	1.0	10	0.30	1.0	10	0.30	1.0	10	0.30	1.0	10	0.30	1.0	10
Fraction unbound (%)	2.9	2.7	2.8	4.0	4.0	4.2	4.2	4.5	4.4	6.4	6.5	6.3	4.4	4.9	6.2	1.6	2.0	3.4
Fraction bound (%)	97	97	97	96	96	96	96	96	96	94	94	94	96	95	94	98	98	97
SD free fraction	0.2	0.4	0.2	0.4	0.4	0.1	0.4	0.5	0.8	0.4	0.3	0.4	0.4	0.5	0.3	0.1	0.4	0.1
SD bound fraction	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Additional information: No metabolism or instability of MSC2156119J occurred during the equilibrium dialysis or during sample storage. The results given are those determined by LC-MS/MS. Results from LSC were very similar.																		

Source: (Study Report DMPK 144).

7-B 血漿蛋白結合

Batch: EE10003524 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.4 **Study No.:** DMPK 94-[redacted]

Study no./GLP-status	DMPK 94-[redacted]/non-GLP
Objective	Calorimetric measurements were performed to systematically determine whether MSC2156119J binds significantly to one of the most abundant plasma proteins
Test item	MSC2156119J
Test systems	Pooled human whole plasma HSA-depleted human plasma Solutions of purified proteins in 10 mM phosphate buffer, pH 7.5, 150 mM NaCl, 14.7 mM sodium citrate: Human serum albumin (HSA), ceruloplasmin, transferrin, complement C3 and complement C4
Methods	Plasma Thermogram™ technology: The proprietary Plasma Thermogram™ technology using Differential Scanning Calorimetry (DSC) is a thermoanalytical technique in which the difference in the amount of heat required to increase the temperature of a sample and reference is measured as a function of temperature.
Concentration of MSC2156119J	Thermograms were prepared for the different test system in absence and presence of different test item concentrations
Result	· MSC2156119J was found to bind predominantly to HSA but also to other plasma proteins. · For transferrin the results suggest relatively weak binding of MSC2156119J to this protein. · The increase in the thermogram observed in HSA-depleted plasma with increasing concentrations of the ligand MSC2156119J was consistent with similar increases observed in thermograms for complement C3, C4, and ceruloplasmin. This behavior suggests that the thermograms of HSA-depleted plasma are most likely due to interactions with several of the protein species present.

Source: (Study Report DMPK 94-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; DSC: Differential scanning calorimetry; HPLC: High performance liquid chromatography; HSA: Human serum albumin; LSC: Liquid scintillation counting.

7-C 血漿蛋白結合

Batch: EE10003524_2, (ZAKO11/008 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.5 **Study No.:** DMPK 55-[redacted]

Study no./GLP-status	DMPK 55-[redacted]/QMS
Test systems	In vitro Human plasma (mix of male & female 1:1, n=2, pre-dialyzed against 70 mM phosphate buffer pH 7.4 to maintain the physiological pH throughout the experiment). Solutions of purified proteins at their physiological concentrations in 70 mM phosphate buffer, pH 7.4: Human serum albumin (HSA, 600µM), α1 acid glycoprotein (AAG, 20 µM), ceruloplasmin (3 µM), transferrin (38 µM), complement C4 (2 µM) complement C3-depleted human serum and total human serum as control
Methods	Equilibrium dialysis followed by LSC of plasma and dialyzed buffer compartment In experiments with high protein concentrations (plasma, HSA) the increase of the volume due to the Donnan effect was considered during data evaluation.
Test item	^{14}C-MSC2156119J
Concentration of MSC2156119J	1 µM (0.49 µg/mL free base)
Dialysis time	1 h (equilibrium proven)

Results of experiment

Test system	**Human plasma**			**HSA**		**AAG**		**HSA + AAG**	**Human serum**	**Compl. C3-depl. serum**	**Cerulo-plasmin**	**Trans-ferrin**	**Compl. C4**
Fraction unbound f_u (%)	2.0	1.8	1.4	8.2	6.5	25	17	3.4	2.0	1.9	84	74	75
SD of f_u (%)	0.1	0.1	0.1	1.0	0.5	7	3	0.1	0.3	0.1	5	3	n.d.

Conclusion: The observed binding of MSC2156119J in human plasma seems to be the result of mainly binding to HSA and AAG. It could be possible that MSC2156119J binds to additional, yet unidentified, plasma protein(s).

Source: (Study Report DMPK 55-[redacted]). HSA: Human serum albumin; AAG: α1 acid glycoprotein; Compl.: Complement, f_u: fraction unbound; SD: Standard deviation; Depl.: Depleted. n.d. not determined.

7-D 蛋白結合

Batch: 2 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.11 **Study No.:** [redacted]-GR031-P0

Study no. / GLP-status	[redacted]-GR031-P0 / QMS					
Test system / species	Plasma from human, dog, rat and mouse; pre-dialyzed against 70 mM phosphate buffer pH 7.4 to maintain the physiological pH throughout the experiment 750 µM HSA and 18.2 µM AAG dissolved in 70 mM phosphate buffer (pH 7.4)					
Method	Equilibrium dialysis against 70 mM phosphate buffer pH 7.4					
Analytical method	UPLC-MS/MS for MSC2571109 and LSC for ^{14}C-testosterone					
Concentration of test item	0.2, 2 and 10 µM (as nominal concentrations) for MSC2571109; 1 µM for ^{14}C-testosterone (positive control)					
Dialysis time	3 h					
Replicates	3					
Experimental results						
MSC2571109A concentration	**Test System**					
	Human plasma	**Dog Plasma**	**Rat Plasma**	**Mouse Plasma**	**HSA**	**AAG**
(µM)	$f_{u,p}$ (%)	$f_{u,p}$ (%)	$f_{u,p}$ (%)	$f_{u,p}$ (%)	f_u (%)	f_u (%)
0.2	1.1 ± 0.1	2.4 ± 0.1	1.3 ± 0.3	1.3 ± 0.1	2.3 ± 0.3	13 ± 2
2.0	1.1 ± 0.1	2.5 ± 0.3	0.88 ± 0.0	1.2 ± 0.1	2.8 ± 0.1	13 ± 1
10	1.2 ± 0.1	2.5 ± 0.3	0.88 ± 0.0	1.3 ± 0.1	2.8 ± 0.1	-
Mean	1.2 ± 0.2	2.5 ± 0.4	1.0 ± 0.3	1.2 ± 0.1	2.6 ± 0.3	13 ± 2
Additional information: The recovery values of all the tested plasma, HSA and AAG incubations were 83 - 103% for MSC2571109 and 86 -100% for ^{14}C-testosterone. Results of the positive control ^{14}C-testosterone in human plasma and HSA were within or close to the range of historical data.						

Source: (Study Report [redacted]-GR031-P0). HSA: Human serum albumin; AAG: α_1-acid glycoprotein; f_u: fraction unbound; $f_{u,p}$: fraction unbound in plasma SD: Standard deviation. MSC2571109 is the free base of MSC2571109J.

8　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

胎盤移行：胎盤移行に関する試験は実施していない。
乳汁排泄：乳汁排泄に関する試験は実施していない。

9 薬物動態試験：その他の分布試験

9-A その他の分布試験

Batch: ZAK008/034 Labeled **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.2 **Study No.:** DMPK 133-[redacted]

Study no./GLP-status	DMPK 133-[redacted] QMS											
Study system	Whole blood of different species, in vitro. To maintain physiological conditions, the pH was stabilized by addition of 7% (v/v) phosphate buffer pH 7.4 (70 mM) and 110 mM glucose. The change in hematocrit was considered during data evaluation.											
Target entity	^{14}C-MSC2156119J											
Concentration of ^{14}C- MSC2156119J	0.1 and 1 µM 0.049 and 0.49 µg/mL (free base)											
Number of replicates	n=3 per concentration											
Number of measurements	n=3 per replicate											
Dialysis time	10 min											
Distribution of ^{14}C-MSC2156119J in whole blood samples:												
Species	**Mouse**		**Rat**		**Rabbit**		**Dog**		**Monkey**		**Human**	
Strain	**HsdWin:NMRI**		**HsdCpb:WU**		**New Zealand White Rabbit**		**Beagle**		**Cynomolgus**		**Caucasian**	
MSC2156119J (µM)	0.1	1	0.1	1	0.1	1	0.1	1	0.1	1	0.1	1
Fraction in plasma (%)	41	44	39	38	38	39	30	30	41	37	66	56
Fraction in BC(%)	59	56	61	62	62	61	70	70	59	63	34	44
Hematocrit (%)	41		42		39		48		43		45	
K (BC/Plasma)[a]	2.1	1.9	2.1	2.2	2.6	2.5	2.5	2.5	1.9	2.2	0.6	1.0
max. uncertainty of K	0.07	0.11	0.05	0.09	0.10	0.06	0.08	0.09	0.14	0.07	0.14	0.05
Additional information: Only minimal and not relevant instability (metabolism or degradation) of MSC2156119J occurred during the incubation in whole blood.												

Source: (Study Report DMPK 133[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics.
a: Distribution coefficient K of ^{14}C-MSC2156119J was calculated as the ratio of the radioactive concentrations measured in BC (Blood cells); (dpm/µL) and plasma (dpm/µL); dpm: Disintegration per minute.

9-B その他の分布試験

Batch: EE10003524, (SAB011/001 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.2 **Study No.:** [redacted]MERCDP1 (DMPK 133-[redacted])

Study no. / GLP-status	[redacted]MERCDP1 / non-GLP
Test system/species	Pooled rat (Wistar, male) brain tissue
Test compound	MSC2156119J (0.3, 3, and 30 µM)
Analytical method	Equilibrium dialysis followed by LC-MS/MS

Experimental results

Distribution kinetics of MSC2156119J (3 µM) between rat brain and assay buffer

Test item	Incubation Time (h)	$f_{u,br}$		Recovery (%)
		Average	SD	
MSC2156119J (3 µM)	0.5	0.0003	0.0001	104
	1	0.0006	0.0001	116
	2	0.0014	0.0002	108
	4	0.0031	0.0003	97
	6	0.0040	0.0005	95
	8	0.0041	0.0004	98
Fluoxetine (5 µM)	0.5	0.0004	0.0001	86
	1	0.0006	0.0003	101
	2	0.0010	0.0005	86
	4	0.0015	0.0008	79
	6	0.0030	0.0007	79
	8	0.0031	0.0005	82

Unbound fraction of MSC2156119J (0.3, 3, and 30 µM) in rat brain tissue after incubation for 6 h

Concentration of MSC2156119J	Incubation Time (h)	$f_{u,br}$		Recovery (%)
		Average	SD	
0.3 µM	6	0.0035	0.0006	94
3 µM	6	0.0035	0.0010	105
30 µM	6	0.0039	0.0009	91

Source: (Study Report DMPK 35-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; LC-MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection; fu,br: fraction unbound brain. SD: standard deviation.

9-C その他の分布試験

Batch: EE10003524, (ZAK011-008 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.6 **Study No.:** DMPK 171-[redacted]

Study No. / GLP-status	DMPK 171-[redacted] / non-GLP	
Test system/species	Cryopreserved suspension hepatocytes/human	
Analytical method	Measurement of ^{14}C-MSC2156119J uptake into human hepatocytes at 37°C with and without transporter inhibitors, 60 µM repaglinide, 10 µM decynium 22, and the inhibitor cocktail (100 µM quinidine, 20 µM cyclosporin A and 20 µM rifampicin) by liquid scintillation counting (positive controls: 1 µM ^{3}H-E17βG for OATPs and 1 µM ^{3}H-MPP+ for OCTs at 37°C and 4°C with and without transporter inhibitors).	
Experimental results		
Hepatic uptake clearance of MSC2156119J	In vitro total hepatic intrinsic uptake clearance ($uCL_{int,total}$)[1)]	689 µL/min/10^6 cells
	In vitro hepatic intrinsic passive uptake clearance ($uCL_{int,passive}$)[2)]	407 µL/min/10^6 cells
	In vitro hepatic intrinsic active uptake clearance ($uCL_{int,active}$)[3)]	282 µL/min/10^6 cells
Contribution of related transporters in hepatic active uptake of MSC2156119J[4)]	OATPs	21%
	OCTs	30%
	Unknown active transport function(s)	49%
Estimated in vivo parameter[6)]	Estimated in vivo hepatic intrinsic passive uptake clearance[5)]	5724 L/h
	Liver blood flow rate in human	73.8 L/h
Additional information: The membrane transporter integrity of hepatocytes (OATPs and/or OCTs) was confirmed at each experiment by control experiments using ^{3}H-E17βG for OATPs and ^{3}H-MPP+ for OCTs with and without respective specific inhibitors. Considering in vivo situation, the hepatic uptake of MSC2156119J is expected to be largely limited by liver blood flow rate. Any inhibition of active uptake contribution is expected to be without clinical relevance because the in vivo passive uptake clearance is still largely higher than liver blood flow rate. Therefore, although MSC2156119J is considered a substrate for hepatic transporters, the hepatic uptake process should not be a clinically relevant DDI site and the identification of any active uptake transporter in vitro is considered not necessary.		

Source: (Study Report DMPK 171[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; OATP: Organic anion-transporting polypeptide; OCT: Organic cation transporter; MPP: N-Methyl-4-phenyl pyridinium acetate; E17βG: Estradiol-17ß-D-glucuronide.

1): $uCL_{int,total}$ (µL/min/106 cells) = slope of uptake volume during linear condition at 37°C in absence of inhibitors

2): $uCL_{int,passive}$ (µL/min/106 cells) = slope of uptake volume during linear condition at 37°C in presence of the inhibitor cocktail

3): $uCL_{int,active}$ (µL/min/106 cells) = $uCL_{int,total} - uCL_{int,passive}$

4): Contribution (%) = Inhibition (%) = $(V_{-inh.} - V_{+inh.})/(V_{-inh.} - V_{+cocktail}) \times 100$

$V_{-inh.}$ (µL/10^6 cells): uptake volume at 37°C in absence of inhibitor

$V_{+inh.}$ (µL/10^6 cells): uptake volume at 37°C in presence of the respective inhibitor

$V_{+cocktail.}$ (µL/10^6 cells): uptake volume at 37°C in presence of the inhibitor cocktail

5): In vivo hepatic intrinsic passive uptake clearance (L/h) = $uCL_{int,passive}$ × 117.5 × 10^6 cells/g liver × 28.85 g liver/kg body weight × 70 kg body weight / 10^6
6): Physiological parameters are given by SimCYP software (V11)

9-D その他の分布試験

Batch: 2 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.3.12 **Study No.:** WBD[redacted]-001

Study no. / GLP-status:	WBD[redacted]-001 / non-GLP
Study system:	Human whole blood, in vitro (to maintain physiological conditions, the pH was stabilized by addition of 5% (v/v) phosphate buffer pH 7.4 (70 mM))
Test item:	MSC2571109A-2
Concentration:	0.2 µM and 2 µM
Number of replicates:	n=2 per concentration
Equilibration time in whole blood:	15 min

Distribution of MSC2571109A in whole blood samples:

Species	Concentration (µM)	Hematocrit	$Fraction_{plasma}$ (%)	C_{BC}/C_P	C_B/C_P	$1/(C_B/C_P)$
Human (Caucasian, female)	0.2	0.42	81	0.37	0.75	1.3
	2	0.42	78	0.44	0.78	1.3

Additional information: The measured hematocrit was considered for data evaluation.

Source: (Study Report WBD[redacted]-001). C: Concentration. C_{BC}: Concentration blood cell; C_B: Concentration blood; C_P: concentration plasma.

10 薬物動態試験：代謝：in vivo

10-A in vivo 代謝試験

Batch: EE103804, (HHB009/016 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.4.5 **Study No.:** DMPK 35-[redacted]

Type of study: In vivo metabolism of MSC2156119 in rats after single oral administration of ^{14}C-MSC2156119J (hydrochloride monohydrate salt).

Method: The study was designed to investigate the metabolism of MSC2156119 and the PK and excretion of total radioactivity in rats after single oral administration of ^{14}C-MSC2156119J. The disposition of ^{14}C-MSC2156119 in plasma, urine and feces was investigated using LSC, HPLC with radio-detection and LC-MS/MS techniques.

Tabulated results:

Number and gender of animals / species: 6M and 6F / Rat, Wistar (Crl: WI(Han))

Vehicle / formulation: 0.25% hydroxypropyl cellulose (Methocel®)

Route of administration / chemical dose: Single oral / 50 mg/kg body weight

Radionuclide / radioactive dose: ^{14}C / 4 MBq/kg body weight

Number of animals	Matrix	Sampling time points or interval	% of Radioactive Dose		Disposition of MSC2156119* and its major metabolites (for plasma: $AUC_{0\text{-}10h}$ in ng eq*h/mL, for excreta: % of administered dose)							
					Males				Females			
			Males	Females	MSC2156119 (parent drug)	M508-1 + M508-2[b)]	M508-1[c)]	M508-2[c,d)]	MSC2156119 (parent drug)	M508-1 + M508-2[b)]	M508-1[c)]	M508-2[c,d)]
n=3/ sex	Plasma[a)]	0.25, 1, 4, 8, 10, 24 h	-	-	2450 [60]	1640 [40]	1530 [38]	107 [3]	4180 [66]	2210 [35]	2110 [33]	108 [2]
n=3/ sex	Urine	0～24 h	3.2	9.8	1.7	1.5	na	na	5.5	4.3	na	na
	Feces	0～48 h	86.9	79.2	84.6	nd	na	na	77.1	nd	na	na

Additional information: Parent drug was the predominant radioactive constituent in plasma. The diastereomeric N-oxide M508-1 was the major circulating metabolite whereas the other diastereomeric N-oxide M508-2 was found to a minor extent only. The exact optical configuration of the diastereomeric N-oxides are yet unknown. The recovery of ^{14}C-radioactivity was higher than 91% of the administered dose. The majority of the radioactivity was recovered in feces, providing indirect evidence of excretion via bile. Renal clearance was of minor importance. There was no relevant gender related qualitative differences in the metabolite pattern, the only minor species-difference was quantitative.

Source Report: (Study Report DMPK 35-[redacted]). *: MSC2156119 is the free base of MSC2156119J. DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics. LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection.

a): The plasma concentrations of total radioactivity were calculated in ng eq/mL taking the molecular weight of MSC2156119 into account. The plasma concentrations of the metabolites were calculated in nmol eq/mL and afterwards converted in ng eq/mL based on the molecular weights of the metabolites. All concentrations given are related to the free base of MSC2156119.

b): Sum of both co-eluting diastereomeric metabolites M508-1 and M508-2

c): Since the HPLC method was not able to radio-chromatographically separate the diastereomeric N-oxides M508-1 and M508-2, a calculation of their individual contribution (%ROI) was performed by comparison of their mass spectrometric peak (MRM) area ratio and applying a calibration factor to counterbalance the different MS ionization and fragmentation potentials of the metabolites.
d):MSC2191634A corresponds to metabolite M508
na: not applicable; nd: not detected; [ ]: % of AUC0-10h of total radioactivity (AUC_{TR}).

10-B in vivo 代謝試験

Batch: 2 **Test Article:** ^{14}C-tepotinib

Location in CTD: Section 4.2.2.4.11 **Study No.:** G-A-VIV-[redacted]-023

Study no. / GLP-status	G-A-VIV-[redacted]-023 / non-GLP		
Title	tepotinib (MSC2156119J) - Absorption, metabolism, and excretion in female dogs after single oral administration of ^{14}C-tepotinib at 10 mg/kg		
Test system / species	Marshall Beagle® female dogs, 3 × po		
Experimental method	The study was designed to investigate the metabolism of tepotinib after single po administration of ^{14}C-tepotinib. The disposition of ^{14}C-tepotinib in plasma, urine, and feces was investigated.		
Dosage of test item // in-life duration	10 mg/kg of body weight, 4 MBq/kg, specific radioactivity: approximately 0.4 MBq/mg ^{14}C-tepotinib/0 - 192 h		
Vehicle information	0.25% aqueous methocel		
Bioanalytical method	Liquid-liquid extraction, UPLC-fractionation with off-line microplate scintillation counting (TopCount™), LSC, and UPLC-HR-MS techniques		
Experimental results I	**Pharmacokinetics and excretion of ^{14}C-tepotinib in dogs**		
Pharmacokinetics	**Dog, po (n=3)**		
Parameter	**Plasma**		
Actual dose (mg/kg BW; free base)	10 mg/kg		
TR	**Mean**	**SD**	**CV%**
t_{max} (h)*	4	n.a.	n.a
C_{max} (ng-eq/mL)	140	34.0	24.3
AUC_{0-t} (ng-eq/mL × h)	2,290	907	39.6
AUC_{0-inf} (ng-eq/mL × h)	2,450	984	40.2
$t_{1/2}$ (h)	14.9	6.03	40.5
tepotinib			
t_{max} (h)*	4	n.a.	n.a.
C_{max} (ng-eq/mL)	65.7	19.1	29.1
AUC_{0-t} (ng-eq/mL × h)	638	121	18.9

$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng-eq/mL × h)	744	153	20.6
$t_{1/2}$ (h)	8.08	1.37	17.0
MSC2571107A			
t_{max} (h)*	4	n.a.	n.a.
C_{max} (ng-eq/mL)	5.09	2.54	49.8
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng-eq/mL × h)	69.1	43.2	62.5
MSC2571109A			
t_{max} (h)*	4	n.a.	n.a.
C_{max} (ng-eq/mL)	1.89	0.736	39.0
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng-eq/mL × h)	10.5	11.4	108
Excretion			
% of dose	**Dog, po**		
Urine, TR	0.497		
	0.461 (0 – 96 h)		
Urine, tepotinib	0.212 (0 – 96 h)		
Feces, TR	91.4		
	88.9 (0 – 96 h)		
Feces, tepotinib	48.5 (0 – 96 h)		
TR excreted	91.9		
Cage wash	0.672		
Total recovery of radioactivity	92.6		

Experimental results II	**Disposition of tepotinib and its main characterized metabolites[a] (for plasma: % of TR AUC_{0-t}; for excreta: % of dose administered)**					
	Dog, po					
Matrix	**Plasma**				**Urine**	**Feces**
Sampling interval	**0 – 24 h**				**0 – 96 h**	**0 – 96 h**
Animal number	**1**	**2**	**3**	**Mean**		
% of dose	n.a.					
tepotinib (parent)	41.8	46.4	48.2	45.5	0.212	48.5
M506[b]	7.25	6.75	4.83	6.28	-	-
M508-1	9.10	11.6	11.6	10.8	0.0579	-
M478	14.6	18.7	18.0	17.1	0.0704	19.2
P1	2.23	1.57	1.42	1.74	-	-
P2	-	-	-	-	0.0601	-
P3	-	-	0.945	0.315	-	-
P4	1.85	-	0.945	0.932	-	-
P5		1.02		0.340	-	-
P6	2.23	-	-	0.743	-	-
P7	-	-	-	-	-	1.41
P8	1.85	2.04	1.42	1.77	-	-
P9	2.50	-	1.42	1.31	-	-
P10	2.50	1.57	1.99	2.02	-	-
P11	3.61	3.16	2.94	3.24	0.0148	-
P12	3.24	-	0.945	1.40	-	-

Source Report (Study Report G-A-VIV-[redacted]-023).

*: Median value.

a: Nomenclature of known metabolites was identical as in the preceding metabolism study (Study Report DMPK 96-08). Unknown peaks were named P followed by a sequential number.

b: Metabolite M506 was confirmed by an enantioselective quantitative bioanalytical method to be a mixture of both enantiomers MSC2571109A and MSC2571107A.

AUC: Area under the concentration time curve; BW: Body weight.; Cmax: Maximal observed concentration; CV: Coefficient of variance; HR-MS: High resolution mass spectrometry; LSC: Liquid scintillation counting.; n.a.: Not applicable; SD: Standard deviation; t_{max}: Time of observed maximum concentration; $t_{1/2}$: Elimination half-life; TR: Total radioactivity; UPLC: Ultra performance liquid chromatography.

10-C in vivo 代謝試験

Batch: EE103804, (HHB009/016 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.4.6 **Study No.:** DMPK 41-[redacted]

Type of study:	Bioanalysis and Pharmacokinetic Assessment of MSC2489308 and MSC2489309 in Plasma Samples From Clinical Study EMR200095-001
Method:.	Blood was collected in tubes containing EDTA as anticoagulant. Plasma was generated by centrifugation at approximately 1500 g under cooled conditions and split into two aliquots of about 1.4 mL per aliquot. Samples were immediately stored frozen at approximately –20°C until shipment. All sample analysis was performed using a qualified UPLC-MS/MS method.
Route of administration/chemical dose:	oral, 100 and 145 mg

Tabulated results:

Dose (mg)	**Day**	**t_{max} (h)**	**C_{max} (nM)**	**C_{max}/ dose**	**AUC_{0-24} (nM･h)**	**AUC_{0-24}/dose**
		PK Parameters of MSC2489308				
100[a]	1	19.3	12.2	0.122	218	2.18
	14	4.67	26.3	0.263	546	5.46
145[b]	1	24.0	9.95	0.0686	175	1.21
	14	10.0	32.1	0.221	247[c]	1.70[c]
		PK Parameters of MSC2489309				
100[a]	1	14.0	17.8	0.178	293	2.93
	14	4.00	30.7	0.307	616	6.16
145[b]	1	8.00	11.5	0.0793	179	1.24
	14	10.0	28.1	0.194	232[c]	1.60[c]

Additional information: Both metabolites were measured in plasma using a qualified analytical assay. Limited stability data generated over the course of the study revealed that both compounds were stable in plasma for at least one freeze/thaw cycle and 24 hours at ambient temperature. No relevant analytical issues were identified. Plasma concentration from subjects dosed with 100 or 145 mg MSC2156619J revealed that all subjects were exposed to MSC2489308 and MSC2489309 throughout the treatment period in the 14 day treatment cycle. The kinetic profiles of both metabolites were qualitatively similar to parent drug. Both metabolites were formed at an approximate equimolar ratio. A quantitative evaluation based on the preliminary plasma concentration data available from the unchanged drug MSC2156119 revealed that both metabolites are considered minor metabolites of MSC2156119.

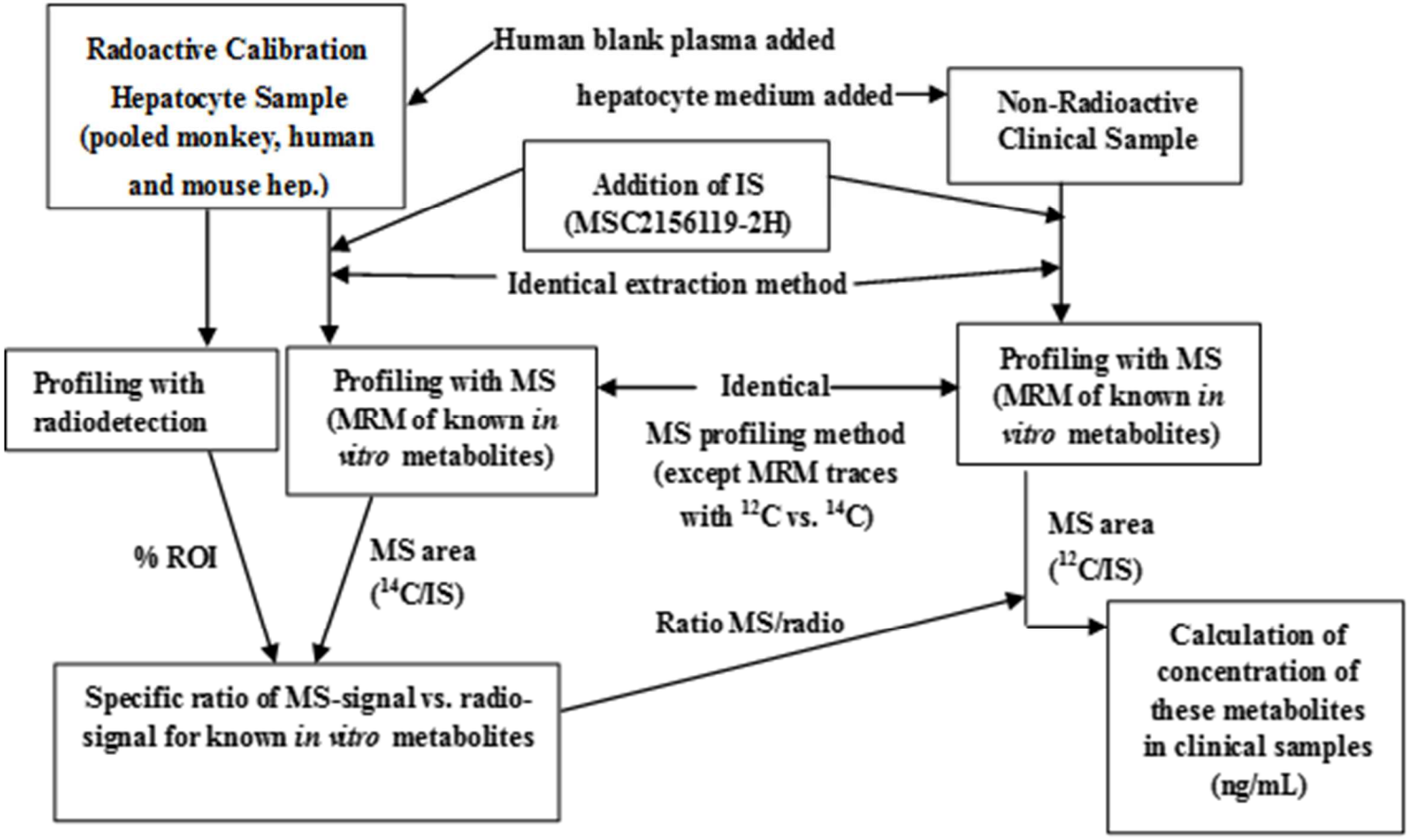
Source Report: (Study Report DMPK 41-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; UPLC-MS/MS: Ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection; AUC: Area under the plasma concentration vs. time curve; C_{max}: maximum concentration; t_{max}: time to reach maximum concentration.
MSC2489308: metabolite alias M508-2; MSC2489309: metabolite alias M508-1.
a: Mean value (n=3 samples)
b: Single sample

c: No sample provided for 24 h value; Reflects $AUC_{(0-10)}$.

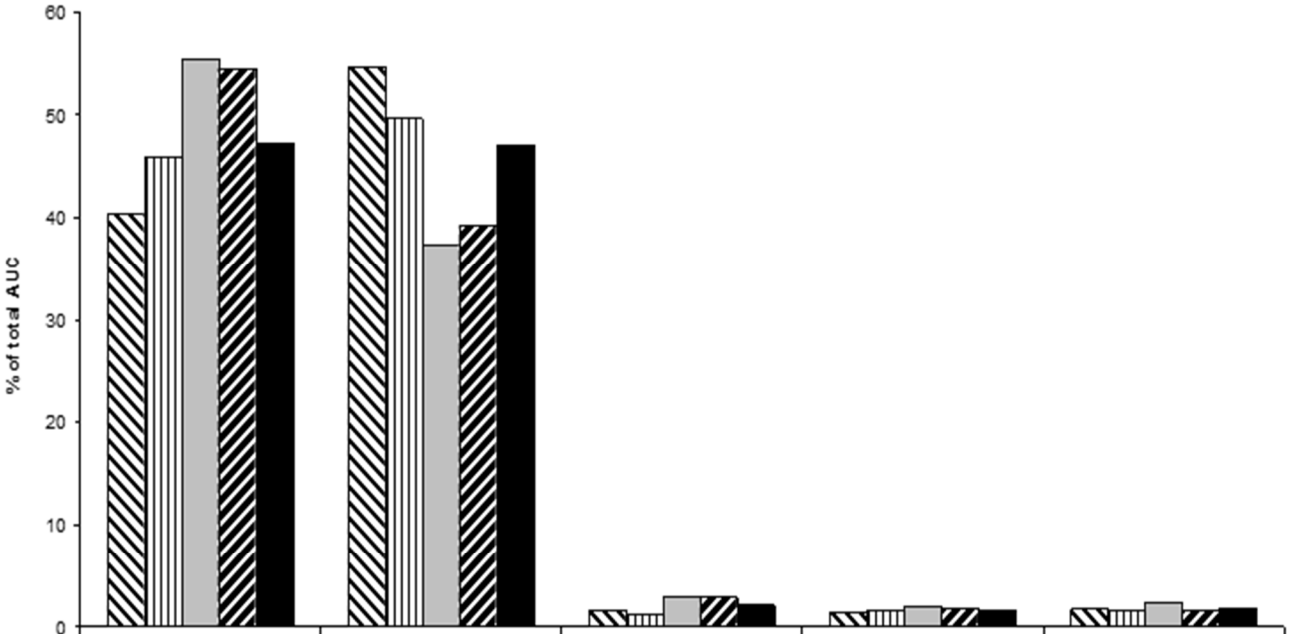
10-D in vivo 代謝試験

Batch: ZAK011/008 labeled
Test Article: tepotinib（MSC2156119J）
Location in CTD: Section 4.2.2.4.7
Study No.: DMPK 53-[redacted]

Method:



Tabulated results:



	MSC2156119	M668	M478	MSC2489308	MSC2489309
71	40.4	54.7	1.69	1.51	1.72
72	45.8	49.6	1.24	1.63	1.66
73	55.4	37.3	3.00	1.92	2.39
83	54.5	39.2	2.87	1.76	1.66
Mean	47.3	47.1	2.10	1.67	1.83

Clinical Sample Selection: Phase I clinical study No. EMR200095-001; 3 patients of 100 mg dose; 1 patient of 145 mg dose, time points: 0, 1, 4, 8 and 24 hours of day 14
Hepatocyte Sample Selection: mouse, male rat, dog, monkey, human S1 and human S2 hepatocyte pool incubated with ^{14}C-MSC2156119 from study DMPK 96-08
Internal Standard: MSC2156119-2H

Source Report: (Study Report DMPK 53-[redacted]): DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; LC-MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection; CV: Variation of coefficient; AUC: Area under the concentration vs time curve.

10-E in vivo 代謝試験

Batch: EE103804, RUS3276 (labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.4.8 **Study No.:** [redacted]-GR004-C0

Type of study:	Metabolite Pattern of [14C]-MSC2156119 in Human Plasma, Urine and Feces in Healthy Male Subjects
Method:	The objective is to elucidate the metabolite pattern of MSC2156119 in plasma, urine and feces of healthy subjects following an oral administration of ^{14}C-MSC2156119J. The disposition of ^{14}C-MSC2156119 in plasma and excreta was investigated using UPLC with radio-detection and LC-MS/MS techniques.
Tabulated results:	
Clinical trial number:	EMR200095-007
Number and gender:	6 healthy subjects, male
Route of administration / chemical dose:	oral / 500 mg of MSC2156119J (MSC2156119J (corresponding to 448.4 mg of free form MSC2156119)
Radionuclide / radioactive dose:	^{14}C / 2.5 MBq
Validation experiments:	All validation parameters were acceptable, with overall process recovery (combined extraction recovery and take-up efficiency) values of more than 86% for plasma. Extraction recovery out of feces was more than 78% and take-up efficiency values of more than 76%. The 'non-extractable' radioactivity was acceptable low in plasma (< 7%) and acceptable in feces (< 25%) and did not show any significant absolute increase over the time. Therefore no indications of covalent binding were observed in humans.

Metabolite profiling and identification:

	Subject	Mean	101	102	103	104	105	106
Total Radioactivity)[a]	$AUC_{0\text{-}240h}$ [h*ng eq/mL]	59600	26700	72700	81000	55200	58900	63200
	% of AUC_{TR}	100	100	100	100	100	100	100
	% of AUC_{Parent}	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
MSC2156119*	$AUC_{0\text{-}240h}$ [h*ng eq/mL]	31500	17200	40000	35900	35700	30000	30200
	% of AUC_{TR}	54.5	64.4	55.0	44.3	64.7	50.8	47.8
	% of AUC_{Parent}	100	100	100	100	100	100	100
M506 (MSC2569775)	$AUC_{0\text{-}240h}$ [h*ng eq/mL]	25400	8560	27200	40500	18400	24400	33400
	% of AUC_{TR}	41.2	32.0	37.5	50.0	33.3	41.4	52.9
	% of AUC_{Parent}	79	49.7	68.1	113	53.1	79.9	111
M668	$AUC_{0\text{-}240h}$ [h*ng eq/mL]	2670	876	5630	4050	960	3870	649

	% of AUC_{TR}	4.23	3.28	7.74	5.00	1.74	6.57	1.03
	% of AUC_{Parent}	7.97	5.08	14.1	11.3	2.56	12.7	2.15
Mean (N=6) total radioactivity was excreted to about 13% of dose via urine and about 71% of dose via feces. Parent compound MSC2156119 was the main renally excreted constituent with 7% of administered dose. Metabolites M508-1 (MSC2489309) and M508-2 (MSC2489308) accounted to 2% and 3% of administered dose, respectively. In feces, parent compound MSC2156119J accounted to 45% of administered dose. M478 (MSC2157042) accounted to 9% and M668 to 6% of administered dose. Metabolite M506 accounted to about 3% all further oxidized metabolite M524-1, -2 and -3 and M522-1 and -2 to less than 2% of the administered dose each. No metabolic pathway in excreta comprised more than 25% of the administered dose.								

Source Reports: (Study Reports[redacted]-GR004-C0, MSI156EC-131763-A, MSC2156119J - EMR200095-007 (MSI156EC-131763-A[redacted]-GR002-P0). AUC: Area under the concentration vs time curve. AUC_{TR}: AUC total radioactivity.

a: Total radioactivity data taken from PRA study MSI156EC-131763-A [MSC2156119J - EMR200095-007 (MSI156EC-131763-A[redacted]-GR002-P0) - Bioanalytical Study Reports. MSC2156119 is the free base of MSC2156119J.

Mean = arithmetic mean.

10-F in vivo 代謝試験

Batch: 2 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）, MSC2571107A and MSC2571109A

Location in CTD: Section 4.2.2.4.9 **Study No.:** [redacted]-GR009-C0

Tabulated results:								
Type of study:	Bioanalysis and pharmacokinetic assessment of MSC2156119J (M506) metabolites in human plasma							
GLP status:	Non-GLP, QMS							
Method:	Quantification of MSC2571107 and MSC2571109 in human plasma samples following oral administration of MSC2156119J. All sample analyses were performed using a qualified enantioselective LC-MS/MS method.							
Clinical trial number:	EMR200095-007							
Number of subjects, gender:	6 healthy volunteers, male							
Route of administration, chemical dose:	Oral, 500 mg of MSC2156119J (corresponding to 448.4 mg of free form MSC2156119)							
Matrix	**Compound**	**SUBJID**	**C_{max} (ng/mL)**	**t_{max}[a] (h)**	**AUC_{0-t} (h*ng/mL)**	**AUC_{0-240h} (h*ng/mL)**	**AUC_{0-240h} (% of parent drug)**	**$t_{1/2}$ (h)**
Plasma	MSC2156119*	All	461.6	12.00	21477.6	22686.8	100	31.185
Plasma	MSC2571107*	All	14.99	24.00	937.5	1028.9	4.54	37.816
Plasma	MSC2571109*	All	170.5	24.00	14649.2	14649.1	64.6	39.564
Additional information: Limited stability information has to be taken into account when concentration data of the metabolites MSC2571107 and MSC2571109 are interpreted. Of note, data generated over the course of the study revealed that both compounds were stable in plasma for at least one freeze/thaw cycle and for 24 hours at ambient temperature. Present data indicate that MSC2571107 likely represents a minor metabolite of MSC2156119J, whereas the (geometric mean) $AUC_{0-240\,h}$ of MSC2571109 accounted for ~65% of the $AUC_{0-240\,h}$ of the parent drug. According to regulatory guidance, the latter M506 enantiomer can, thus, be considered as major circulating human metabolite.								

Source Report: (Study Report [redacted]-GR009-C0). LC-MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection; C_{max}: maximum concentration; AUC: Area under the concentration vs time curve; AUC_{0-t}: zero to last measurable concentration; t_{max}: time to reach maximum concentration.
Values represent geometric means (with exception of t_{max})
*: MSC2156119, MSC2571107 and MSC2571109 are the free forms of MSC2156119J, MSC2571107A and MSC2571109A, respectively.
a: median value.

11 薬物動態試験：代謝：in vitro

11-A in vitro 代謝試験

Batch: 5, (ZAK008/034 Labeled) **Test Article:** tepotinib（EMD1214063*）

Location in CTD: Section 4.2.2.4.1 **Study No.:** DMPK 96-[redacted]

Type of study: Interspecies comparison of the in vitro metabolism of human, monkey, dog, rabbit, rat and mouse using hepatocyte cultures

Test system / species: Monolayer cultures of freshly isolated hepatocytes from humans (three male), male Cynomolgus monkey, male Beagle dog, female New Zealand white rabbit, male and female Wistar rat, male B6C3F1 mouse (one batch per species)

Test Item / ^{14}C-MSC2156119J conc.: 1.5 µM (human), 1.2 µM (monkey, dog), 0.9 µM (rabbit), 0.8 µM (rat and mouse)

Incubation period: 24 h

Results (expressed as % of sample radioactivity):

Metabolite	Postulated biotransformation	Male human	Male monkey	Male dog	Female rabbit	Male rat	Female rat	Male mouse
MSC2156119J	-	17.0	3.20	1.50	13.6	7.40	46.6	39.5
M684	+Gluc/ +[O]	-	-	-	-	-	-	18.0
M668	+ Gluc	40.2	-	-	-	-	-	-
M478 (MSC2157042)	Demethyl	-	9.80	3.10	-	9.80	-	-
M508-1 (MSC2489309	N-oxide, diastereomer 1	22.1	34.6	73.3	63.2	74.2	53.4	3.90
M508-2 (MSC2489308)	N-oxide, diastereomer 2	14.7	35.9	20.1	23.2	**	**	**
Unknowns	-	5.83	16.5	2.1	-	8.6	-	38.6

Additional information: Main metabolites present in all species including man are the two diastereomeric N-oxides M508-1 and -2. A major human metabolite M668, i.e. glucuronide conjugate of parent compound, was not observed in animals. Inter-individual variability in the three human donors was low. Mouse is the only species, which revealed at least 3 metabolites (M684 and two structural unknowns) not found in all other species including human. Metabolic profiles in human hepatocytes are closer to rat as compared to mouse. The metabolic profiles in dog, monkey and human hepatocytes revealed only slight species differences. Human appeared to be marginally closer to monkey than to dog.

Source Report: (Study Report DMPK 96-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics.

*: EMD1214063 is a former nomenclature for MSC2156119J.

**: Included in M508-1 due co-eluting peaks.

11-B in vitro 代謝試験

Batch: 13 (ZAK008/034 and HHB009/16 labeled) **Test Article:** tepotinib (MSC2156119J)

Location in CTD: Section 4.2.2.4.2 **Study No.:** DMPK 87-[redacted]

Study No. / GLP-status:	DMPK 87-[redacted] / non-GLP
Type of study:	In vitro CYP phenotyping of 14C-MSC2156119J
Test systems and methods:	In vitro incubation of 14C- MSC2156119J with human liver microsomes (HLM) and recombinant human (rh)CYPs (CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 2E1, 3A4 and 3A5)
Experiments	Optimization of incubation conditions in HLM
CYP inhibitors (CYP, concentration)	Determination of overall enzyme kinetic parameters ($K_{m,app}$ and $V_{max,app}$) in HLM
Bioanalysis	Effect of non-specific CYP450 inhibition by ABT and of CYP-specific inhibitors on metabolism of MSC2156119J

Results:

Incubations with HLM

MSC2156119J (µM)	**Incubation time (min)**	**Test system concentration**	**MSC2156119J**		
			% remaining	**$K_{m,app}$-HLM**	**$V_{max,app}$-HLM**
0.5-100	30	0.5 mg/mL	-	37 ± 23 µM	357 ± 98 pmol/mg protein/min
5	60	0.5 mg/mL	72.7	-	-

In HLM three metabolites were observed, named M1, M2 and M3(a/b). All three metabolites were found in previous investigations in human hepatocytes. No structure could be assigned to the polar metabolite M1. M2 was identified as a de-methylated metabolite also named M478. M3a/M3b are two N-oxide diastereoisomers (MSC2489308 and MSC2489309) also named M508-1 and -2

CYP inhibition in HLM:

A relatively high solvent induced background inhibition effect was observed and only a qualitative assessment of CYP contribution could be performed.

Inhibition of CYP in HLM	Effect on turn-Over of MSC2156119J	Effect on formation of		
		M1	M2	M3
1A2, 2A6, 2C9, 2C19,	-	-	-	-
2B6[a]	(+)	+++	+	(+)
2C8[a]	(+)	+++	++	-
2D6	-	-	+	-
2E1[a]	(+)	-	(+)	(+)
3A4/5	+	+++	+++	(+)
ABT	++(+)	+++	+++	M3a: +, M3b: +++

-: no inhibition (+): borderline inhibition (equivocal); +: moderate inhibition; ++ prominent inhibition; +++: complete inhibition; a): possibly unspecific effect

Recombinant human CYPs (rhCYPs, 50 pmol/mL)

Test system (incubation time: 60 min)	MSC2156119J (µM)	Test system	MSC2156119J (% remaining)	% Formation of metabolites		
				M1	M2 (M478)	M3a/b (M508-1/-2)
CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2D6, 2E1, 3A5	1 and/or 10	Supersomes™	100	---	---	---
CYP3A4	1		77.3	3.8	13.6	5.3
	10		70.2	4.5	18.4	6.8
CYP2C9	1 and 10	Bactosomes™	100	---	---	---
CYP3A4	1		82.3	1.8	12.1	3.8
	10		86.1	1.9	8.3	3.7
CYP2C8	1		84.0	---	9.9	6.0
	10		87.1	---	7.6	5.2

In conclusion, in vitro experiments demonstrated that CYP3A4 and possibly CYP2C8 contribute to CYP mediated oxidative metabolism of MSC2156119J. Additional investigations will be necessary to elucidate the contribution of non-CYP metabolizing enzymes of MSC2156119J and their relevance in vivo.

Source Report: (Study Report DMPK 87-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; CYP: Cytochrome P450; HPLC TOF/MS: High performance liquid chromatography-time of flight with mass spectrometric detection. HLM: Human liver microsomes; V_{max}: maximum reaction rate; K_m. Michaelis constant.

11-C in vitro 代謝試験

Batch: EE10003524-2 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.4.3 **Study No.:** XT[redacted]4049 (DMPK 49-[redacted])

Type of study: MSC2156119J: Investigation of Michaelis-Menten Kinetic Parameters for CYP3A4 and CYP2C8 with Recombinant Human CYP Enzymes

Method: Loss of MSC2156119J by LC/MS/MS.

Tabulated results:

Effect of protein concentration and incubation time on the disappearance of MSC2156119J (0.1, 1 and 10 µM) in incubations with control bactosomes, recombinant human CYP2C8 and recombinant human CYP3A4

MSC2156119J (µM)	pmol P450/mL (mg protein/mL)*	Incubation time (min)	Cofactor (+/−)	Rate of substrate loss (pmol/min/pmol P450) or (pmol/min/mg protein)*		
				Control bactosomes*	CYP2C8	CYP3A4
0	50 (0.5)*	45	+	NA	NA	NA
0.1	0	0	+	NA	NA	NA
		45		NA	NA	NA
	25 (0.25)*	0		NA	NA	NA
		45		NC	0.0123	0.0310
	50 (0.5)*	0		NA	NA	NA
		5		NC	0.0270	0.0472
		20		0.420	0.0109	0.0300
		45		0.462	0.00429	0.0219
		90		0.203	0.00280	0.0115
	100 (1)*	0		NA	NA	NA
		45		0.171	0.00337	0.0126
	50 (0.5)*	45	-	0.024	NC	0.0000667

MSC2156119J (μM)	pmol P450/mL (mg protein/mL)*	Incubation time (min)	Cofactor (+/−)	Rate of substrate loss (pmol/min/pmol P450) or (pmol/min/mg protein)*		
				Control bactosomes*	CYP2C8	CYP3A4
1	0	0	+	NA	NA	NA
		45		NA	NA	NA
	25 (0.25)*	0		NA	NA	NA
		45		1.43	0.118	0.278
	50 (0.5)*	0		NA	NA	NA
		5		NC	0.420	0.590
		20		NC	0.170	0.339
		45		NC	0.101	0.217
		90		NC	0.0504	0.113
	100 (1)*	0		NA	NA	NA
		45		NC	0.0333	0.111
	50 (0.5)*	45	-	NC	NC	0.0218
				Control bactosomes	CYP2C8	CYP3A4
10	0	0	+	NA	NA	NA
		45		NA	NA	NA
	25 (0.25)*	0		NA	NA	NA
		45		NC	0.763	2.29
	50 (0.5)*	0		NA	NA	NA
		5		NC	2.72	7.32
		20		42.6	1.09	3.14
		45		1.81	0.669	1.82
		90		17.8	0.454	0.938
	100 (1)*	0		NA	NA	NA
		45		NC	0.366	1.04
	50 (0.5)*	45	-	5.76	0.144	0.520

Source Report: (Study Report XT[redacted]4049 (DMPK 49-[redacted])). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; LC-MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection; CYP: Cytochrome P450;
*Control bactosomes measured in mg protein/mL
+/-: Present/Absent
NA: Not applicable/; NC: Not calculated
Values are the average of duplicate determinations and are rounded to three significant figures
Percentages are rounded to one decimal place except values ≥100 which are rounded to the nearest whole number.

Estimated enzyme kinetics for the disappearance of MSC2156119J with recombinant human CYP2C8 and CYP3A4			
Model: Michaelis-Menten			
Parameter	**Value**		
	Bactosome control	**rCYP2C8**	**rCYP3A4**
$f_{u, mic}$ (calculated according Hallifax equation)		78% (C_{mic}= 1 mg/mL)	88% (C_{mic}= 0.5 mg/mL)
V_{max} (pmol/min/pmol P450)	Not determined	3.7±0.4	18±5
K_m (µM) {$K_{m, u}$}		93±17 {73±13}	89±34 {78±30}
CL_{int} (µL/min/pmol P450) {$CL_{int,u}$}		0.039 {0.050}	0.20 {0.22}
Calculations were done using unrounded values			
Additional information: Overall, the data obtained in this study show that CYP2C8 and CYP3A4 metabolize MSC2156119J and CYP3A4 has higher contribution to the metabolism of MSC2156119J than CYP2C8.			

Source Report: (Study Report XT[redacted]4049 (DMPK 49-[redacted])).

$CL_{int,u}$, Intrinsic clearance unbound; C_{mic}: Concentration of microsomes; K_m: Michaelis constant; V_{max}: maximum reaction rate, f_u: Fraction unbound. CYP: Cytochrome P450;

11-D in vitro 代謝試験

Batch: EE10003524-2 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.4.4 **Study No.:** XT[redacted]4053 (DMPK 65-[redacted])

Study No. / GLP-status:	XT[redacted]4053 / non-GLP			
Type of study:	Investigation of Metabolism by CYP3A4 and CYP2C8 in Human Hepatocyte Culture			
Test article:	MSC2156119J			
Objective:	In a previous study consumption of MSC2156119J was detected in presence of recombinant human CYP3A4 and CYP2C8. The objective of this study was to determine the fractional contribution of selected CYP isoforms (CYP3A4, CYP2C8) on the biotransformation of MSC2156119J in human hepatocytes culture.			
Assay methods:	In vitro incubation of MSC2156119J in the absence and presence of the CYP-specific inhibitors			
Test system:	Plateable cryopreserved human hepatocytes from a pool of three (mixed gender) individual donors (~1.3 × 106 cells/ 0.85 × 106 cells per well)			
Inhibitors	Specific metabolism-dependent inhibitors: CYP3A4: mibefradil (10 µM); CYP2C8: gemfibrozil glucuronide (100 µM); pre-incubation time 60 minutes			
Bioanalysis	UPLC-MS/MS			
Readout	Metabolic clearance (µL/min/106 cells) of MSC2156119J in absence and presence of inhibitors; Half-life estimated from single exponential decay (min)			
Positive controls:	Inhibition of reference substrate metabolism: Formation of 1′ -hydroxymidazolam (CYP3A4) and N-desethylamodiaquine (CYP2C8)			
Results				
	MSC2156119J (1 µM)			
Inhibitor	Water	Mibefradil	0.1% v/v Formic acid in acetonitrile	Gemfibrozil glucuronide
Enzyme	Solvent control	CYP3A4	Solvent control	CYP2C8
$C_{Lint, hep}$ (µL/min/106 cells)	0.800	0.900	0.800	0.800
Half-life (min)	866	770	866	866
Degree of inhibition	**NA**	**No inhibition**	**NA**	**No inhibition**
	Positive control substrates			
Investigated CYP	**CYP3A4 (Midazolam)**		**CYP2C8 (Amodiaquine)**	
Inhibitor	**Mibefradil**		**Gemfibrozil glucuronide**	
Incubation time (h)	0.25	24	0.25	24

Degree of inhibition (%)	77	82	97	97
Additional information: In summary, it appears that neither CYP3A4 nor CYP2C8 plays a predominant role in the metabolism (based on substrate disappearance) of MSC2156119J in cultured human hepatocytes.				

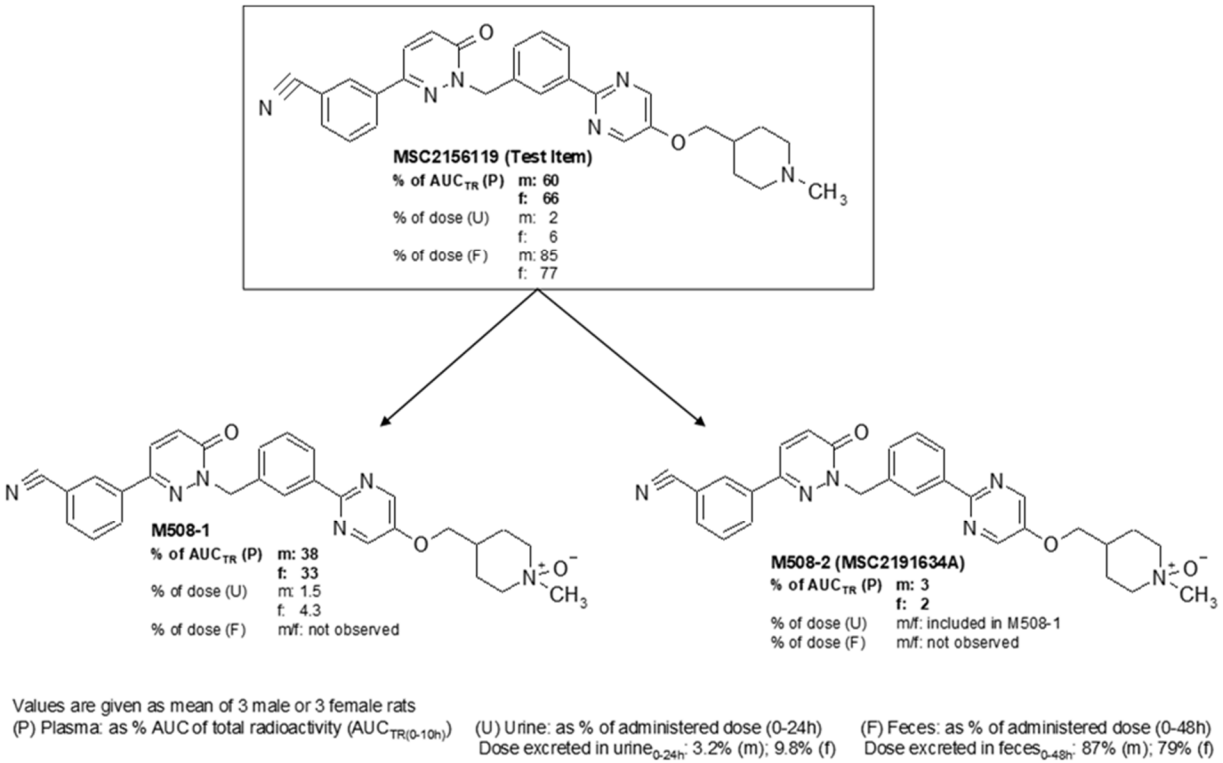
Source Report: (Study Report XT[redacted]4053 (DMPK 65-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; UPLC-MS/MS: Ultra high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection; CYP: Cytochrome P450; CL: clearance; NA: Not applicable; no inhibition indicates that percent inhibition was zero or negative.

12 薬物動態試験：推定代謝経路

12-A 雌雄 Wistar Rats に ^{14}C-tepotinib を投与したときの主代謝経路

Batch: EE103804 (HHB009/016 labeled) **Test Article：** tepotinib

Location in CTD: Section 4.2.2.4.5 **Study No.:** DMPK 35-[redacted]

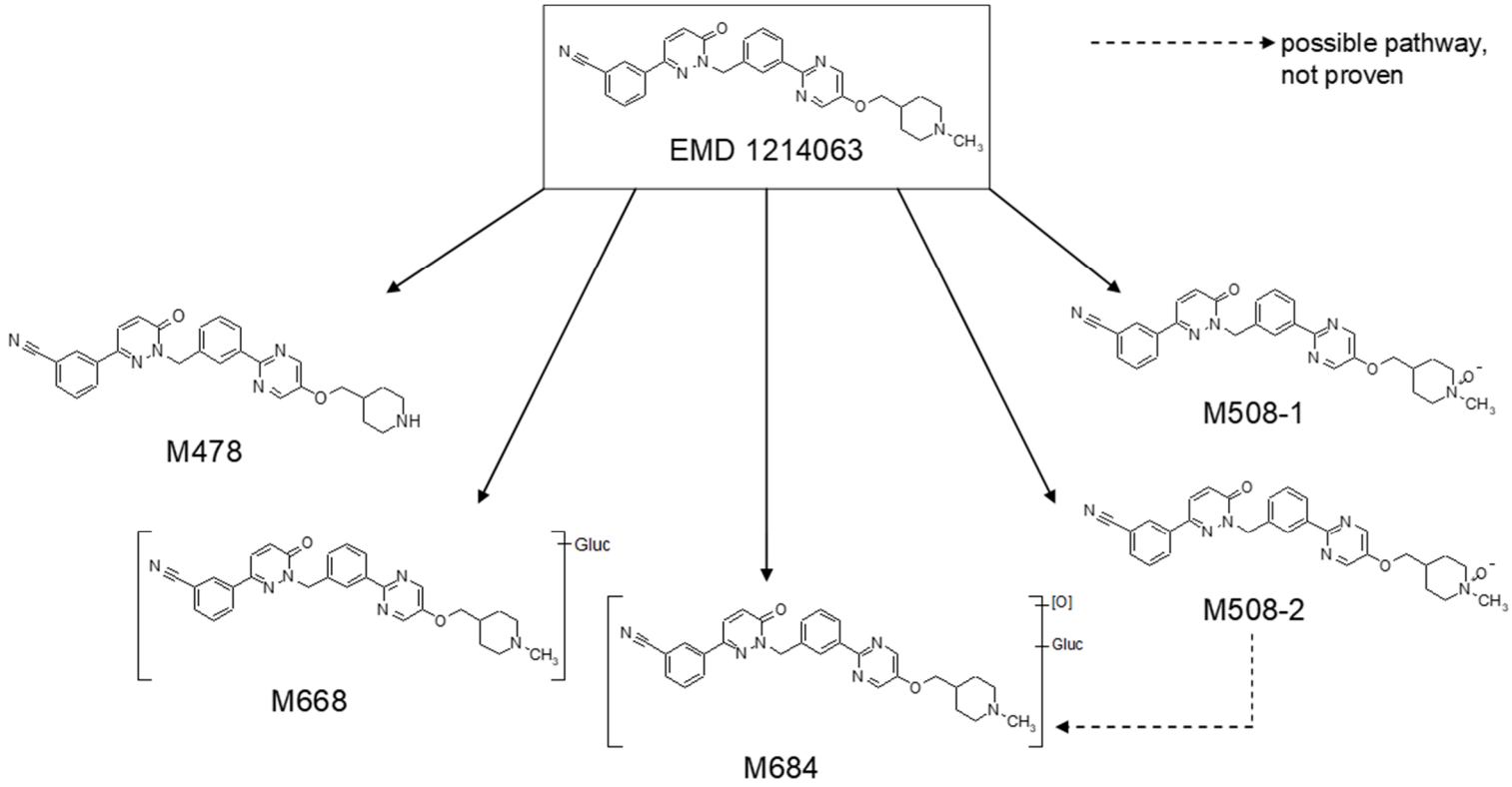


Source Report: (Study Report DMPK 35-[redacted]). AUC: Area under the concentration vs time curve; AUC$_{TR}$: AUC total radioactivity; P: Plasma; U: Urine; F: Feces.
Remark: The exact optical configuration of the diastereometric N-oxides M508-1 and M508-2 are yet unknown and further investigations are warranted.

12-B マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトに MSC2156119J を投与したときの推定代謝経路

Batch: 5, (ZAK008/034 labeled) **Test Article:** tepotinib

Location in CTD: Section 4.2.2.4.1 **Study No.:** DMPK 96-[redacted]

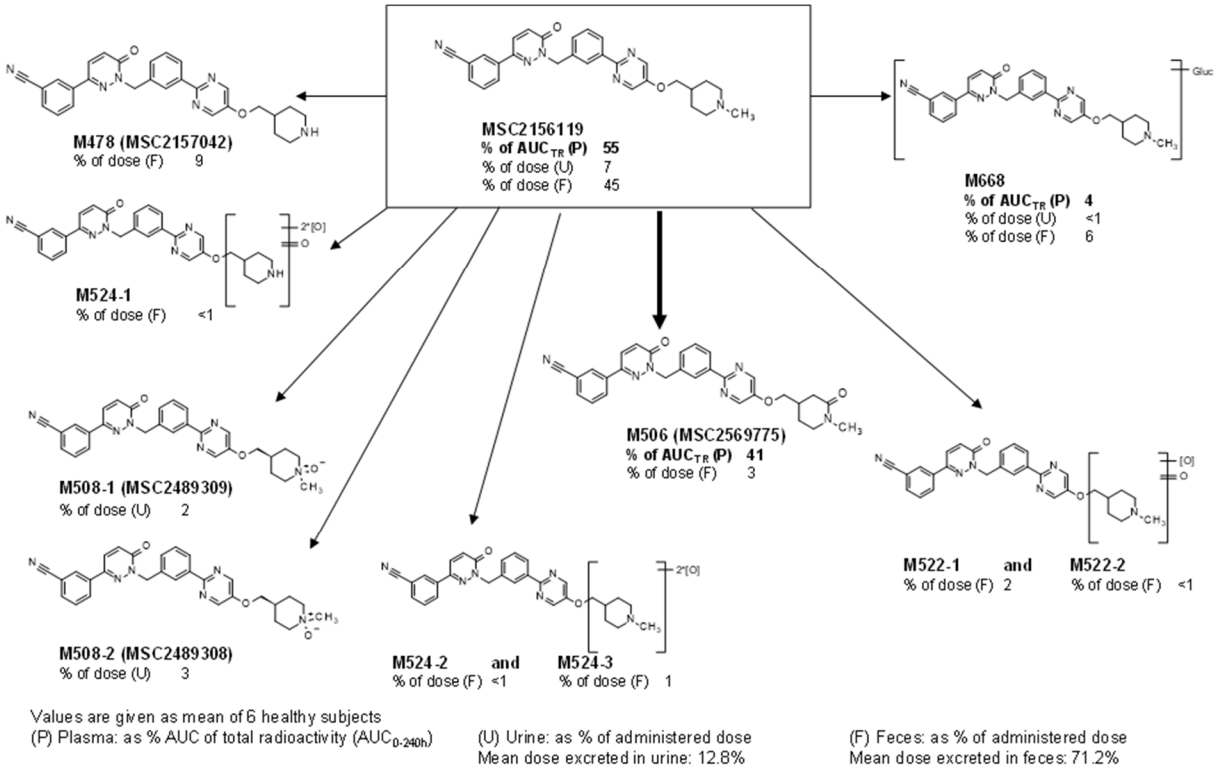


Source Report: (Study Report DMPK 96-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics.
Remark: All structures are proposals based on mass spectrometric structural elucidation and not verified by NMR or chemical synthesis, except for M478 (MSC2157042), M508-1 (MSC2489309) and M508-2 (MSC2489308). * EMD1214063 is a former nomenclature for MSC2156119J.

12-C ヒトに ^{14}C-tepotinib を経口投与したときの MSC2156119 の推定代謝経路

Batch: EE12000324, RUS3276 (labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.4.8 **Study No.:** [redacted]-GR004-C0



Source Report: (Study Report [redacted]-GR004-C0). AUC: Area under the plasma concentration vs time curve; AUC$_{TR}$: AUC total radioactivity; P: Plasma; U: Urine; F: Feces.
Remarks: Structural formulae are postulates and have to be confirmed by NMR analysis and/or chemical synthesis, except for those proven by synthesis, which are racemic M506 (MSC2569775), M508-1 (MSC2489309), M508-2 (MSC2489308) and M478 (MSC2157042). MSC2156119 is the free base of MSC2156119J.

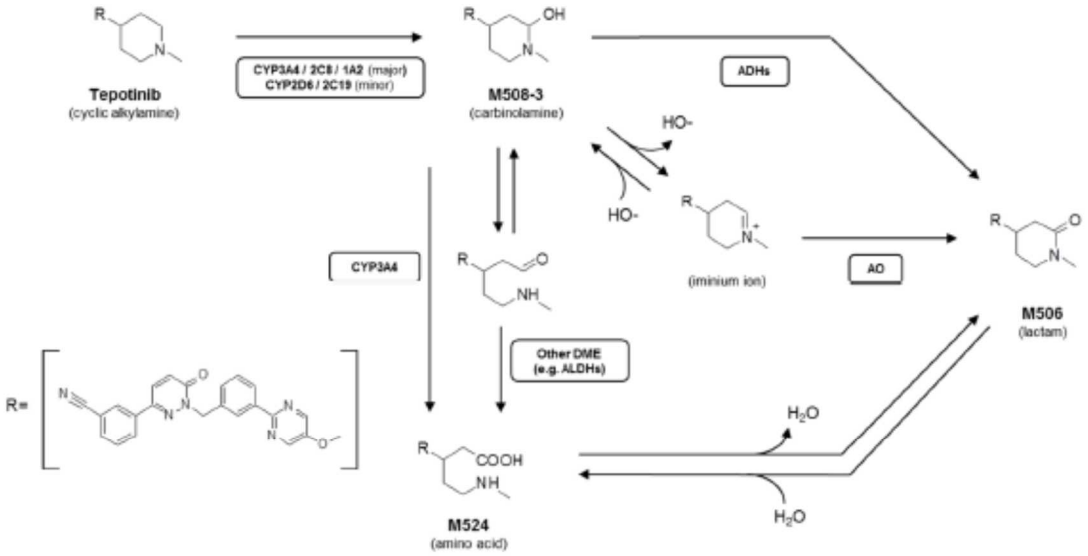
12-D 雌雄 Wistar Rats に ^{14}C-tepotinib を投与したときの主代謝経路

Batch: E12000324 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.4.10 **Study No.:** G-A-VIT-[redacted]-006 ([redacted]-GR086-P0)

Study no. / GLP-status	G-A-VIT-[redacted]-006 / non-GLP
Test system	Human hepatocytes, human liver microsomes (HLM) and cytosol, recombinantly expressed human CYP enzymes (rhCYPs Bactosomes), and recombinant human AO (rhAO) protein
Experimental method	In vitro incubation of (^{12}C- and ^{14}C-) tepotinib in different test systems
Concentration of test item	10 µM (^{12}C- and ^{14}C-) tepotinib
Bioanalytical method	UPLC-MS/MS and TopCount scintillation counting

Proposed metabolic pathway of tepotinib forming M506



Remarks:

Structures of M508-3 and M524 are postulated, not proven by either NMR or co-elution with authentic reference standards.

The (in vitro) rate and extent of formation of M506 and its intermediates is low, precluding the determination of kinetic parameters (K_m, V_{max}) and the investigation of stereoselective aspects in tepotinib's metabolism.

Additional information:
Positive control incubations with reference substrates confirmed the competency of the enzymatic functionality of the test systems as well as the inhibition efficiency of the inhibitors used.

Source Report: (Study Report G-A-VIT-[redacted]-006 ([redacted]-GR086-P0)). UPLC-MS/MS: Ultra high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection; CYP: Cytochrome P450. DME: Drug metabolizing Enzyme. ALDH: Aldehyde dehydrogenase AO: Aldehyde oxidase. MSC2156119 is the free base of MSC2156119J.

13 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

13-A 薬物代謝酵素の誘導／阻害

Batch: 5, 11, 13(ZAK008/034 labeled) **Test Article**：tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.1 **Study No.:** XT[redacted]5043 (DMPK 68-[redacted])

Type of study: In Vitro Evaluation of MSC2156119J as an Inhibitor of Human CYP Enzymes

Methods: Test article working solution recoveries were determined by liquid scintillation counting. Enzyme activity for the IC_{50} and Ki determinations was determined by high performance liquid chromatography and mass spectrometry.

Tabulated results:

Enzyme	CYP reaction	Direct inhibition				Time-dependent inhibition (TDI)		
		Zero-minute pre-incubation				30-minute pre-incubation		
		IC_{50} (μM)	Maximum inhibition (%)	K_i (μM)	Type of inhibition	IC_{50} (μM)	Maximum inhibition (%)	Potential for TDI
CYP1A2	Phenacetin O-deethylation	>49.5	11	ND	ND	>49.5	27	Little or no
CYP2A6	Coumarin 7-hydroxylation	>49.5	51	ND	ND	39	52	Little or no
CYP2B6	Efavirenz 8-hydroxylation	>49.5	34	ND	ND	44	52	Little or no
CYP2C8	Amodiaquine N-dealkylation	16	86	11	Mixed	13	86	Little or no
CYP2C9	Diclofenac 4′-hydroxylation	27	58	ND	ND	23	52	Little or no
CYP2C19	S-Mephenytoin 4′-hydroxylation	30	64	ND	ND	29	65	Little or no
CYP2D6	Dextromethorphan O-demethylation	>49.5	50	ND	ND	>49.5	24	Little or no
CYP2E1	Chlorzoxazone 6-hydroxylation	>49.5	19	ND	ND	>49.5	17	Little or no
CYP3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	31	62	ND	ND	37	59	Little or no
CYP3A4/5	Midazolam 1′-hydroxylation	25	66	ND	ND	33	60	Little or no
CYP3A4/5	Nifedipine oxidation	26	64	ND	ND	25	71	Little or no

Additional information: $f_{ub, mic}$ was calculated to be negligible (about 85% during IC_{50} experiments and about 98% during K_i experiments (Hallifax and Houston, 2006)).

Source Report: (XT[redacted]5043 (DMPK 68-[redacted])). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; CYP: Cytochrome P450; $f_{ub, mic}$: Fraction unbound microsomes; IC_{50}: Half maximal inhibitory concentration; TDI: time dependent inhibition. K_i Constant of inhibition; ND: Not determined.

13-B 薬物代謝酵素の誘導／阻害

Batch: 5, 11, 13 **Test Article**：tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.2 **Study No.:** MS-062008-02 (DMPK 51-[redacted])

Test article:	MSC2156119J
Type of study:	Inducibility of human liver CYP1A1/2, CYP2B6 and CYP3A4/5 isoenzymes in primary human hepatocytes by MSC2156119J
Method:	Incubation of primary human hepatocyte cultures for 72 h with 0.1, 1 and 5 µM of MSC2156119J. Analyze activity of ethoxyresorufin-deethylation (CYP1A1/2), bupropion hydroxylation (CYP2B6) and 6β-hydroxytestosterone formation (CYP3A4/5) in hepatocyte monolayers. Calculate % of positive control (50 µM OME for CYP1A1/2, 1000 µM PB for CYP2B6 and 20 µM RIF for CYP3A4/5) according to FDA draft guideline, 2006.

CYP	**Donor**	**Fold of control**			**MSC2156119J**					
					0.1 µM		**1 µM**		**5 µM**	
		OME 50 µM	**RIF 20 µM**	**PB 1 mM**	**Fold of control**	**% PC**	**Fold of control**	**% PC**	**Fold of control**	**% PC**
CYP1A1/2	4	16.9	0.8	1.8	1.0	0	1.2	1	1.1	0
	5	28.4	1.4	0.8	1.4	1	2.3	5	3.4	9
	6	85.7	2.4	2.5	1.1	0	1.8	1	2.5	2
CYP2B6	4	3.9	2.0	8.3	1.2	2	0.9	-1	1.0	0
	5	2.9	1.7	15.2	1.6	4	0.9	-1	0.9	0
	6	3.3	1.8	6.3	0.3	-14	0.2	-14	0.2	-15
CYP3A4/5	4	2.6	3.2	2.8	1.2	9	1.3	15	1.4	17
	5	1.3	3.1	2.6	0.6	-21	0.9	-4	0.7	-15
	6	2.5	3.0	2.4	0.8	-10	0.8	-9	1.1	5

Source: (Study Report MS-062008-02 (DMPK 51-[redacted])). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; CYP: Cytochrome P450; OME: omeprazole; RIF: rifampin, PB: phenobarbital; PC: positive control;

13-C 薬物代謝酵素の誘導／阻害

Batch: 2 **Test Article**：MSC2571109A

Location in CTD: Section 4.2.2.6.3 **Study No.:** XT[redacted]5037 ([redacted]-GR030-P0)

Type of study:	In Vitro Evaluation of MSC2571109 as an Inhibitor of Cytochrome P450 (CYP) Enzymes in Human Liver Microsomes
Method:	Enzyme activities for the IC50 determinations were measured by high performance liquid chromatography and mass spectrometry. Incubations were performed using HLM at ≤ 0.1 mg/mL and a probe substrate added at a concentration equivalent to its approximate Km or S50 value.

Tabulated results:

Enzyme	Substrate	Direct inhibition		Time-dependent inhibition		Metabolism-dependent inhibition		
		Zero-min preincubation		30-min preincubation without NADPH		30-min preincubation with NADPH		Potential for metabolism-dependent inhibition
		IC_{50} (µM)	Inhibition observed at 15 µM (%)	IC_{50} (µM)	Inhibition observed at 15 µM (%)	IC_{50} (µM)	Inhibition observed at 15 µM (%)	
CYP1A2	Phenacetin	> 15.0	NA	> 15.0	5.6	> 15.0	0.6	No
CYP2B6	Efavirenz	> 15.0	3.2	> 15.0	2.8	> 15.0	10	No
CYP2C8	Amodiaquine	> 15.0	30	> 15.0	22	> 15.0	28	No
CYP2C9	Diclofenac	8.8±0.9	59	> 15.0	45	11±1	51	No
CYP2C19	S-Mephenytoin	> 15.0	34	> 15.0	27	> 15.0	27	No
CYP2D6	Dextromethorphan	> 15.0	11	> 15.0	10	> 15.0	6.9	No
CYP3A4/5	Midazolam	> 15.0	12	> 15.0	NA	> 15.0	20	Yes
CYP3A4/5	Testosterone	> 15.0	15	> 15.0	10	> 15.0	42	Yes
CYP3A4/5	Nifedipine	> 15.0	NA	> 15.0	NA	> 15.0	NA	No

Source Report: (Study Report XT[redacted]5037 ([redacted]-GR030-P0)). IC50: Half maximal inhibitory concentration; HLM: Human liver microsomes; CYP: Cytochrome P450; K_m: Michaelis constant; S_{50}: Substrate concentration for allosteric kinetics which supports half the maximum rate of an enzyme-catalyzed reaction.

13-D 薬物代謝酵素の誘導／阻害

Batch: EE12000324, 2 **Test Article**：tepotinib（MSC2156119J） & MSC2571109A

Location in CTD: Section 4.2.2.6.4 **Study No.:** XT[redacted]3099 ([redacted]-QPD045-P0)

Type of study:	In Vitro Evaluation of MSC2156119J and its Metabolite MSC2571109A as Inducers of Cytochrome P450 Expression in Cultured Human Hepatocytes
Method:	Three cultures of primary cryopreserved human hepatocytes were treated once daily for three consecutive days with DMSO, flumazenil, MSC2156119J (Batch EE12000324), MSC2571109A (Batch 2), or one of seven known CYP inducers. Treatment was followed by harvest with buffer RLT to isolate RNA, which was analyzed by qRT-PCR to assess the effects of MSC2156119J and MSC2571109A on CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 mRNA levels. The potential of MSC2156119J and MSC2571109A to cause cytotoxicity was assessed based on morphological changes, the reduction of resazurin, and the expression of GAPDH (housekeeping gene). The CYP Induction potential was evaluated based on Hill and Sigmoid equations, as well as % of positive controls, omeprazole (50 µM), β-naphthoflavone (33 µM), phenobarbital (750 µM), efavirenz (10 µM), rosiglitazone (50 µM), pioglitazone (50 µM) and rifampin (20 µM).

Tabulated results:

Concentration MSC2156119J (µM)	Day of treatment	Morphology			Mitochondrial functionality (%) (alamar blue test)		
		H1249	H1252	HC7-12	H1249	H1252	HC7-12
Control (0.1% DMSO)	3	Q2	Q2	Q1	Not determined	Not determined	Not determined
0.01	3	–	–	–	94.1	87.3	92.4
0.03	3	–	–	–	94.4	82.4	82.0
0.1	3	–	–	–	89.9	84.9	78.6
0.3	3	–	–	–	91.0	84.9	78.9
0.5	3	–	–	–	87.8	86.0	79.2
1	3	–	–	–	92.5	85.9	79.0
3	3	–	–	–	84.9	92.2	82.0
5	3	+	–	–	32.2	81.5	84.5

Source Report: (Study Report XT[redacted]3099([redacted]-QPD045-P0)). CYP: Cytochrome P450.
Quality: Q1 = High quality (good morphology/confluency); Q2 = Good quality but signs of dead cells (rounded cells on surface of monolayer or less than confluent)
Signs of toxicity: − = No toxicity; + = Slight toxic effects, rounded cells, poorly defined membranes of cells

Concentration MSC2571109A (µM)	Day of treatment	Morphology			Mitochondrial functionality (%) (alamar blue test)		
		H1249	H1252	HC7-12	H1249	H1252	HC7-12
Control (0.1% DMSO)	3	Q2	Q2	Q1	Not determined	Not determined	Not determined
0.003	3	–	–	–	102	84.9	97.3
0.01	3	–	–	–	103	78.7	76.0
0.03	3	–	–	–	97.4	78.5	75.2
0.1	3	–	–	–	102	81.0	74.0
0.3	3	–	–	–	99.0	79.6	76.7
1	3	–	–	–	88.8	73.5	76.7
3	3	–	–	–	89.8	70.3	83.8
5	3	–	–	–	99.6	73.5	77.9

Source Report: (Study Report XT[redacted]3099([redacted]-QPD045-P0)).
Quality: Q1 = High quality (good morphology/confluency); Q2 = Good quality but signs of dead cells (rounded cells on surface of monolayer or less than confluent)
Signs of toxicity: − = No toxicity

Treatment	Concentration	CYP1A2 mRNA					
		H1249		H1252		HC7-12	
		Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]
DMSO	0.1%	1.00	0	1.00	0	1.00	0
MSC2156119J	0.01 µM	0.815	−0.456	0.887	−0.378	0.771	−0.278
MSC2156119J	0.03 µM	0.872	−0.316	0.788	−0.710	0.719	−0.341
MSC2156119J	0.1 µM	0.937	−0.155	0.978	−0.0737	0.888	−0.136
MSC2156119J	0.3 µM	1.06	0.138	0.887	−0.378	1.04	0.0449
MSC2156119J	0.5 µM	1.28	0.691	1.51	1.72	1.52	0.634
MSC2156119J	1 µM	1.27	0.654	1.75	2.52	1.45	0.546
MSC2156119J	3 µM	1.32	0.794	1.82	2.73	1.75	0.911
MSC2156119J	5 µM	ND	ND	1.52	1.75	1.28	0.338
Flumazenil	25 µM	1.19	0.466	1.13	0.422	1.15	0.185
Omeprazole	50 µM	82.5	100	44.8	100	98.7	100
β-Napthoflavone	33 µM	28.0	100	23.7	100	72.2	100
Sigmoid EC_{50} MSC2156119J (µM)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)	
Sigmoid E_{max} MSC2156119J (fold change)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)	

Source Study Report (Study Report XT[redacted]3099[redacted]-QPD045-P0). CYP: Cytochrome P450; mRNA: messenger ribonucleic Acid.
Negative values are due to automatic calculation in LIMS and indicate regulation similar to the vehicle control.
ND: Not determined due to shift in GAPDH Ct values.
a: mRNA as percentage of positive control over baseline

Treatment	Concentration	CYP2B6 mRNA					
		H1249		H1252		HC7-12	
		Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]
DMSO	0.1%	1.00	0	1.00	0	1.00	0
MSC2156119J	0.01 µM	0.951	−0.459	0.802	−2.33	0.962	−0.815
MSC2156119J	0.03 µM	1.04	0.346	0.997	−0.0352	0.989	−0.236
MSC2156119J	0.1 µM	1.06	0.534	0.920	−0.940	0.752	−5.32
MSC2156119J	0.3 µM	1.10	0.908	0.743	−3.02	0.795	−4.39
MSC2156119J	0.5 µM	1.13	1.17	0.896	−1.22	0.725	−5.89
MSC2156119J	1 µM	1.30	2.78	1.02	0.270	0.735	−5.68
MSC2156119J	3 µM	1.94	8.83	0.841	−1.87	0.663	−7.22
MSC2156119J	5 µM	ND	ND	0.907	−1.09	0.595	−8.68
Flumazenil	25 µM	1.16	1.47	1.12	1.43	1.03	0.686
Phenobarbital	750 µM	11.7	100	9.51	100	5.67	100
Efavirenz	10 µM	5.25	NA	3.56	NA	1.83	NA
Sigmoid EC_{50} MSC2156119J (µM)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)	
Sigmoid E_{max} MSC2156119J (fold change)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)	

Source Study Report (Study Report XT[redacted]3099[redacted]-QPD045-P0)). CYP: Cytochrome P450; EC_{50}: Half maximal effective concentration. E_{max}: maximal fold induction; mRNA: messenger ribonucleic Acid. NA: Not applicable; ND: Not determined due to shift in GAPDH Ct values.
a: mRNA over Baseline as Percentage of Positive Control over Baseline
Negative values are due to automatic calculation in LIMS and indicate regulation similar to the vehicle control.

Treatment	Concentration	CYP3A4 mRNA					
		H1249		H1252		HC7-12	
		Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]
DMSO	0.1%	1.00	0	1.00	0	1.00	0
MSC2156119J	0.01 µM	1.01	0.0133	0.813	−1.57	0.996	−0.0431
MSC2156119J	0.03 µM	1.05	0.0780	0.984	−0.135	1.09	0.948
MSC2156119J	0.1 µM	1.19	0.283	0.889	−0.933	0.842	−1.70
MSC2156119J	0.3 µM	1.32	0.465	0.731	−2.26	0.794	−2.22
MSC2156119J	0.5 µM	1.62	0.916	0.839	−1.35	0.724	−2.97
MSC2156119J	1 µM	2.17	1.73	0.943	−0.479	0.813	−2.01
MSC2156119J	3 µM	7.07	8.93	1.48	4.07	1.34	3.68
MSC2156119J	5 µM	ND	ND	2.58	13.2	1.77	8.27
Flumazenil	25 µM	1.21	0.315	1.11	0.883	1.14	1.45
Rifampin	20 µM	68.9	100	12.9	100	10.3	100
Rosiglitazone	50 µM	36.2	NA	7.70	NA	2.40	NA
Pioglitazone	50 µM	28.0	NA	6.51	NA	8.72	NA
Sigmoid EC_{50} MSC2156119J (µM)		1.64±0.17		Not reported (poor curve fit and/or high standard errors)		Not applicable (no induction)	
Sigmoid E_{max} MSC2156119J (fold change)		7.35±0.29		Not reported (poor curve fit and/or high standard errors)		Not applicable (no induction)	

Source Report: (Study Report XT[redacted]3099[redacted]-QPD045-P0)). CYP: Cytochrome P450; mRNA: messenger ribonucleic Acid. EC_{50}: Half maximal effective concentration. E_{max}: maximal effect.

a: mRNA over Baseline as Percentage of Positive Control over Baseline

NA: Not applicable; ND: Not determined due to shift in GAPDH Ct values.

Negative values are due to automatic calculation in LIMS and indicate regulation similar to the vehicle control.

EC_{50} and E_{max} values shown are rounded to three significant figures. Standard error values are rounded to the same degree of accuracy.

Treatment	Concentration	CYP1A2 mRNA					
		H1249		H1252		HC7-12	
		Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]
DMSO	0.1%	1.00	0	1.00	0	1.00	0
MSC2571109A	0.003 µM	1.01	0.00736	0.917	−0.190	0.847	−0.157
MSC2571109A	0.01 µM	0.988	−0.0147	1.05	0.103	1.15	0.152
MSC2571109A	0.03 µM	1.11	0.136	1.07	0.155	0.916	−0.0860
MSC2571109A	0.1 µM	1.32	0.386	1.20	0.462	0.969	−0.0317
MSC2571109A	0.3 µM	1.44	0.534	1.28	0.649	1.26	0.261
MSC2571109A	1 µM	1.19	0.232	1.11	0.249	0.807	−0.197
MSC2571109A	3 µM	1.27	0.332	1.14	0.311	0.872	−0.131
MSC2571109A	5 µM	1.08	0.0957	0.866	−0.306	0.863	−0.140
Flumazenil	25 µM	1.19	0.232	1.13	0.288	1.15	0.156
Omeprazole	50 µM	82.5	100	44.8	100	98.7	100
β -Napthoflavone	33 µM	28.0	NA	23.7	NA	72.2	NA
Hill EC_{50} MSC2571109A (µM)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)	
Hill E_{max} MSC2571109A (fold change)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)	
Sigmoid EC_{50} MSC2571109A (µM)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)	
Sigmoid E_{max} MSC2571109A (fold change)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)		Not applicable (no induction)	

Source Study Report (Study Report XT[redacted]3099 [redacted]-QPD045-P0)). CYP: Cytochrome P450; mRNA: messenger Ribonucleic Acid.
a: mRNA over Baseline as Percentage of Positive Control over Baseline
NA: Not applicable
Negative values are due to automatic calculation in LIMS and indicate regulation similar to the vehicle control.

Treatment	Concentration	CYP2B6 mRNA					
		H1249		H1252		HC7-12	
		Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]
DMSO	0.1%	1.00	0	1.00	0	1.00	0
MSC2571109A	0.003 µM	0.933	−0.627	0.800	−2.35	0.561	−9.41
MSC2571109A	0.01 µM	0.965	−0.328	0.829	−2.01	0.650	−7.50
MSC2571109A	0.03 µM	1.03	0.234	0.832	−1.97	0.549	−9.67
MSC2571109A	0.1 µM	1.11	1.06	0.980	−0.235	0.610	−8.36
MSC2571109A	0.3 µM	1.39	3.61	0.968	−0.376	0.644	−7.63
MSC2571109A	1 µM	2.46	13.7	0.866	−1.57	0.521	−10.3
MSC2571109A	3 µM	6.08	47.6	1.53	6.21	0.630	−7.93
MSC2571109A	5 µM	7.08	56.9	2.20	14.1	0.841	−3.41
Flumazenil	25 µM	1.16	1.47	1.12	1.43	1.03	0.686
Phenobarbital	750 µM	11.7	100	9.51	100	5.67	100
Efavirenz	10 µM	5.25	NA	3.56	NA	1.83	NA
Hill EC_{50} MSC2571109A (µM)		1.87±0.16		Not reported (poor curve fit and/or high standard errors)		Not applicable (no induction)	
Hill E_{max} MSC2571109A (fold change)		7.95±0.39		Not reported (poor curve fit and/or high standard errors)		Not applicable (no induction)	
Sigmoid EC_{50} MSC2571109A (µM)		1.86±0.20		Not reported (poor curve fit and/or high standard errors)		Not applicable (no induction)	
Sigmoid E_{max} MSC2571109A (fold change)		6.98±0.30		Not reported (poor curve fit and/or high standard errors)		Not applicable (no induction)	

Source Report: (Study Report XT[redacted]3099[redacted]-QPD045-P0)). CYP: Cytochrome P450; H: Hepatocyte; mRNA: messenger ribonucleic Acid; EC_{50}: Half maximal effective concentration. E_{max}: maximal effect.

a: mRNA over Baseline as Percentage of Positive Control over Baseline

NA: Not applicable

Negative values are due to automatic calculation in LIMS and indicate regulation similar to the vehicle control.

EC_{50} and E_{max} values shown are rounded to three significant figures. Standard error values are rounded to the same degree of accuracy.

Treatment	Concentration	CYP3A4 mRNA					
		H1249		H1252		HC7-12	
		Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]	Fold change	% Positive control [a]
DMSO	0.1%	1.00	0	1.00	0	1.00	0
MSC2571109A	0.003 µM	0.988	−0.0177	0.724	−2.32	0.743	−2.77
MSC2571109A	0.01 µM	1.46	0.671	0.966	−0.286	0.982	−0.194
MSC2571109A	0.03 µM	1.45	0.667	0.984	−0.135	0.906	−1.01
MSC2571109A	0.1 µM	1.80	1.17	1.26	2.18	0.997	−0.0323
MSC2571109A	0.3 µM	4.41	5.01	1.80	6.76	1.12	1.24
MSC2571109A	1 µM	10.2	13.5	2.74	14.6	0.901	−1.07
MSC2571109A	3 µM	21.4	30.1	3.94	24.7	1.34	3.61
MSC2571109A	5 µM	23.9	33.7	5.77	40.1	1.67	7.23
Flumazenil	25 µM	1.21	0.315	1.11	0.883	1.14	1.45
Rifampin	20 µM	68.9	100	12.9	100	10.3	100
Rosiglitazone	50 µM	36.2	NA	7.70	NA	2.40	NA
Pioglitazone	50 µM	28.0	NA	6.51	NA	8.72	NA
Hill EC_{50} MSC2571109A (µM)		1.68±0.33		Not reported (poor curve fit and/or high standard errors)		Not applicable (no induction)	
Hill E_{max} MSC2571109A (fold change)		30.0±2.8		Not reported (poor curve fit and/or high standard errors)		Not applicable (no induction)	
Sigmoid EC_{50} MSC2571109A (µM)		1.10±0.09		2.50±0.67		Not applicable (no induction)	
Sigmoid E_{max} MSC2571109A (fold change)		22.7±0.8		6.05±0.95		Not applicable (no induction)	

Source Report: (Study Report XT[redacted]3099([redacted]-QPD045-P0)). CYP: Cytochrome P450; mRNA: messenger ribonucleic Acid; EC_{50}: Half maximal effective concentration. E_{max}: maximal effect.

a: mRNA over Baseline as Percentage of Positive Control over Baseline

NA: Not applicable

Negative values are due to automatic calculation in LIMS and indicate regulation similar to the vehicle control.

EC_{50} and E_{max} values shown are rounded to three significant figures. Standard error values are rounded to the same degree of accuracy.

13-E 薬物代謝酵素の誘導／阻害

Batch: NA **Test Article**：MSC2571109A

Location in CTD: Section 4.2.2.6.5 **Study No.:** [redacted]-QPD200-P0

Name of the Test Item:	MSC2571109A, (tepotinib metabolite MSC2571109A)
Study number:	[redacted]-QPD200-P0
Objective:	The objective of this modeling work is to evaluate the potential of MSC2571109A as inducer of CYP2B6.
Analysis Method:	· MSC2571109A PK model was developed based on the highest observed clinical concentration, in order to conservatively describe the steady-state exposure after 500 mg QD tepotinib administration. · Induction of CYP2B6 by MSC2571109A was described using maximum Ind_{max} and minimum $IndC_{50}$ observed in vitro. Impact of induction was investigated using simulations with Simcyp library model compound SV-Bupropion as index substrate of CYP2B6. · AUC and C_{max} ratios with/without interaction were calculated and summarized as geometric mean with 95%CI across the 100 subjects simulated. · Sensitivity analyses were performed to investigate the impact of uncertainty in key input parameters on simulation results.
Results:	The geometric mean AUC ratio was above the threshold of 0.8 for clinical significance, and did not fall below in the sensitivity analyses that were performed.
Conclusion:	MSC2571109A is predicted not to show clinically significant induction of CYP2B6.

Source Report: (Study Report [redacted]-QPD200-P0). CYP: Cytochrome P450.

13-F 薬物代謝酵素の誘導／阻害

Batch: NA **Test Article**：MSC2571109A

Location in CTD: Section 4.2.2.6.6 **Study No.:** [redacted]-QPD211-P0

Name of the Test Item:	tepotinib (MSC2156119, EMD 1214063) and its metabolite MSC2571109A
Study number:	[redacted]-QPD211-P0
Objective:	The objective of this modeling work is to evaluate the potential of tepotinib and MSC2571109A together as inhibitors of CYP2C9 using a sensitive probe substrate, warfarin.
Analysis Method:	· tepotinib and MSC2571109A PK models were developed based on the highest observed clinical concentrations, in order to conservatively describe the steady-state exposures after 500 mg QD tepotinib administration. · Inhibition of CYP2C9 by tepotinib and MSC2571109A was described using respective Ki values obtained in vitro. Impact of inhibition was investigated using simulations with Simcyp library model compound SV-Warfarin as index substrate of CYP2C9. · AUC and C_{max} ratios with/without interaction were calculated and summarized as geometric mean with 95%CI across the 100 subjects simulated. · Sensitivity analyses were performed to investigate the impact of uncertainty in key input parameters on simulation results.
Results:	Inhibition of CYP2C9 by tepotinib and MSC2571109A was described using respective Ki values obtained in vitro. Impact of inhibition was investigated using simulations with Simcyp library model compound SV-Warfarin as index substrate of CYP2C9.
Conclusion:	AUC and C_{max} ratios with/without interaction were calculated and summarized as geometric mean with 95%CI across the 100 subjects simulated.

Source Report: (Study Report [redacted]-QPD211-P0). AUC: Area under the concentration vs time curve; C_{max}: Maximum concentration; CYP: Cytochrome P450.

13-G 薬物代謝酵素の誘導／阻害

Batch: EE15002624 (MSC2156119J) and 2 (MSC2571109A) **Test Article**：tepotinib（MSC2156119J）, MSC2571109A

Location in CTD: Section 4.2.2.6.7 **Study No.:** XT[redacted]5024 ([redacted]-DA0272-0)

Study number:	XT[redacted]5024
Merck Study Code:	[redacted]-DA0272-0
GLP status:	non-GLP
Test items:	MSC2156119J (batch EEI5002624) and MSC2571109A-2 (batch 2)
Type of study:	MSC2156119J and MSC2571109A - In vitro evaluation as inhibitors of UDP glucuronosyltransferase enzymes in human liver microsomes
Test system/species:	Human liver microsomes
Method:	The ability of MSC2156119J (tepotinib) and its metabolite MSC2571109A (M506) at different concentrations (0.015 to 15 µM, nominal concentrations, for MSC2156119J and for MSC2571109A) to directly inhibit UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B7, UGT2B15 and UGT2B17 was measured in incubations performed using human liver microsomes at ≤ 0.1 mg/mL and a probe substrate added at a concentration equivalent to its approximate Km or S50 value.
Positive control:	Troglitazone
Analytical method:	High performance liquid chromatography and mass spectrometry

Tabulated results:

Test item	Enzyme	Substrate	Direct inhibition	
			IC_{50} ± SE (µM) [a]	**Maximum inhibition (%) [b]**
MSC2156119J	UGT1A1	17β-Estradiol	> 15.0	27
	UGT1A3	Chenodeoxycholic acid	> 15.0	22
	UGT1A4	Trifluoperazine	> 15.0	23
	UGT1A6	1-Naphthol	> 15.0	NA
	UGT1A9	Propofol	3.8 ± 0.8	77
	UGT2B7	Morphine	> 15.0	4.8
	UGT2B15	Oxazepam	> 15.0	23
	UGT2B17	Testosterone	6.1 ± 0.4	68
MSC2571109A	UGT1A1	17β-Estradiol	1.1 ± 0.4	78

Study number:	XT[redacted]5024
Merck Study Code:	[redacted]-DA0272-0
GLP status:	non-GLP
Test items:	MSC2156119J (batch EEI5002624) and MSC2571109A-2 (batch 2)
Type of study:	MSC2156119J and MSC2571109A - In vitro evaluation as inhibitors of UDP glucuronosyltransferase enzymes in human liver microsomes
Test system/species:	Human liver microsomes
Method:	The ability of MSC2156119J (tepotinib) and its metabolite MSC2571109A (M506) at different concentrations (0.015 to 15 µM, nominal concentrations, for MSC2156119J and for MSC2571109A) to directly inhibit UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B7, UGT2B15 and UGT2B17 was measured in incubations performed using human liver microsomes at ≤ 0.1 mg/mL and a probe substrate added at a concentration equivalent to its approximate Km or S50 value.
Positive control:	Troglitazone
Analytical method:	High performance liquid chromatography and mass spectrometry
Tabulated results:	

Test item	**Enzyme**	**Substrate**	**Direct inhibition**	
			IC_{50} ± SE (µM) [a]	**Maximum inhibition (%) [b]**
	UGT1A3	Chenodeoxycholic acid	5.8 ± 2.2	49
	UGT1A4	Trifluoperazine	6.2 ± 0.9	70
	UGT1A6	1-Naphthol	> 15.0	NA
	UGT1A9	Propofol	3.6 ± 0.3	76
	UGT2B7	Morphine	> 15.0	16
	UGT2B15	Oxazepam	9.6 ± 2.3	52
	UGT2B17	Testosterone	2.2 ± 0.7	72

Source Report. (Study Report XT[redacted]5024 ([redacted]-DA0272-0)). UGT: UDP-Glucuronosyltransferase; SE: Standard error IC_{50}: Half maximal inhibitory concentration.
SE: Standard error (where applicable)
NA: Not applicable. No value was obtained as the rates at the highest concentration of MSC2156119J or MSC2571109A evaluated (15 µM: highest soluble concentration in the test system for M2156119J, and highest soluble concentration evaluated for MSC2571109A) were higher than the control rates.
a: Average data (i.e., percent of control activity) obtained from duplicate samples for each test item concentration were used to calculate IC_{50} values. Calculated test item concentrations were used when nominal concentrations were out of the 15% acceptance criteria.
b: Maximum inhibition (%) was calculated with the following formula: Maximum inhibition (%) = 100% − the minimum percent solvent control for any test item concentration.

14 薬物動態試験：排泄

14-A ラットにおける排泄

Batch: 5, 13(ZAK008/034 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.5.1 **Study No.:** DMPK 155-[redacted]

Type of study: pharmacokinetics and excretion after single iv and oral administration of ^{14}C-MSC2156119J to Wistar rats

Method: The objective of this study was to investigate the pharmacokinetics and excretion of 14C-MSC2156119J after single iv and oral administration to male and female Wistar rats. The study aimed to determine the plasma-concentration-time -courses of total radioactivity as well as parent drug, relevant pharmacokinetic parameters and the route of elimination.

Tabulated results:

Gender and number of animals / strain: 18 male and 18 female rats/Wistar

Vehicle / formulation: Solutol HS15/ethanol/water (iv) and water (po)

Route of administration / chemical dose: 2 mg/kg (iv) and 4 mg/kg (po) MSC2156119J

Radionucleide / radioactive dose: ^{14}C/2 MBq/kg in all studies except lab code nr. 26/09 (4 MBq/kg)

PK parameters		**C_{max} (po)**	**t_{max} (po) [h]**	**$t_{1/2}$ (iv) [h]**	**$AUC_{0-\infty}$ (iv)**	**$AUC_{0-\infty}$ (po)**	**F (%)**
Total ^{14}C-Radioactivity	male	37.9 ng eq/mL	8.0	3.4 (1.5 to 8 h)	986 ng eq･h/mL	553 ng eq･h/mL	
	female	45.4 ng eq/mL	4.0	6.7 (3.33 to 18.7 h)	1190 ng eq･h/mL	729 ng eq･h/mL	
Parent Drug	male	27.7 ng/mL	4.0	2.3 (2 to 8 h)	269 ng*h/mL	284 ng*h/mL	53.0
	female	40.7 ng/mL	4.0	2.8 (3 to 18.7 h)	395 ng*h/mL	429 ng*h/mL	54.1
Excretion and secretion		**Collection interval 0～24 hours**			**Collection interval 0～120 hours**		
		Urine	**Feces**	**Bile**	**Urine**	**Feces**	**Carcass**
Iv	male	11.1	6.86	72.9	10.8	91.1	0.367
	female	16.8	4.66	58.9	16.9	86.1	0.497
Po	male	1.54	58.2	23.0	2.06	96.8	0.123
	female	5.34	36.5	32.6	7.33	89.8	0.253

Source Report. (Study Report DMPK 155-[redacted]). C_{max}: maximum concentration; t_{max}: time to reach maximum concentration. AUC: Area under the concentration vs time curve; $AUC_{0-\infty}$: AUC 0 to infinity. F: oral bioavailability

15 薬物動態試験：排泄：胆汁中

CTD モジュール 2.6.5.14 参照。

16 薬物動態試験：薬物相互作用

16-A 薬物相互作用

Batch: 13, (HHB009/016 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.8 **Study No.:** DMPK 57-[redacted]

Study No. / GLP-status:	DMPK 57-[redacted] / non-GLP
Test system/species:	Caco-2/TC7, human intestinal cell line; 5 µM ^{3}H-digoxin in donor chamber
Analytical method:	Measurement of ^{3}H-digoxin permeation to acceptor chamber by liquid scintillation counting

Experimental results

Concentration of MSC2156119J	**Reduction (%) of ^{3}H-digoxin transport**	**Inhibition (%) of ^{3}H-digoxin transport**
-	0	0
0.1 µM	-49	-40
0.3 µM	-25	-18
0.5 µM	39	21
1.0 µM	58	41
3.0 µM	70	60
5.0 µM	80	78
10 µM	80	88
10 µM	84	91
$IC_{50, app}$ ± S.D.	0.41±0.04 µM	0.44±0.35 µM

Additional information: The test item was stable during incubations. Considerable adsorption to plastic ware was successfully limited by 30 min pre-incubation with dosing solution. The Caco-2 monolayer was intact and P-gp functioning as shown by control experiments using lucifer yellow as permeability marker and ketoconazol and cyclosporine A as control inhibitors for P-gp.

Source Report: (Study Report DMPK 57-[redacted]). IC_{50}: Half maximal inhibitory concentration. P-gp: P-glycoprotein;

16-B 薬物相互作用

Batch: 5, EE10003524, (ZAK011/008 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.9 **Study No.:** DMPK 55-[redacted]

Study No. / GLP-status	DMPK 55-[redacted] / non-GLP
Test system/species	Caco-2/TC7, human intestinal cell line
Analytical method	Measurement of ^{14}C-PhIP permeation from donor to acceptor chamber in A-B and B-A direction by liquid scintillation counting
Experimental results	
Concentration of MSC2156119J (µM)	**Inhibition (%) of ^{14}C-PhIP transport**
-	0
0.03	-0.5
0.1	25
0.3	28
0.3	36
1	27
1	24
3	48
3	53
3	64
10	69
15	70
15	71
30	86
30	93
$IC_{50,app}$ ± S.D.	1.9 ± 0.8 µM
Additional information: The Caco-2 monolayer was intact and BCRP functioning as shown by control experiments using lucifer yellow as permeability marker and Ko143 and Ko134 as control inhibitors for BCRP. The test item was soluble in assay buffer up to the investigated concentration. Test item working solution concentrations in DMSO were within ±15% of the nominal	

concentrations. Previous report (DMPK 57-[redacted] supports that the test item was stable during incubation in Caco-2 cells and stickiness was overcome by including pre-incubations with test item.

Source Report: (Study Report DMPK 55-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; A-B: Apical to Basal; B-A: Basal to Apical.

16-C 薬物相互作用

Batch: EE10003524, (ZAK011/008 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.10 **Study No.:** PCT-008-[redacted]

Study no. / GLP-status	PCT-008-[redacted] / non-GLP
Study code of sponsor	DMPK 76-[redacted]
Test system	hOAT1 and hOAT3-transfected and vector-transfected HEK cells
Test item	MSC2156119J (0.36 and 3.6 µM)
Analytical method	Radiolabeled probe substrate uptake (at K_m) in cells measured by liquid scintillation counting in presence and absence of MSC2156119J and one positive control inhibitor

Experimental results

Assay no.	Transporter	Substrate	Inhibitory Effect (%) on probe substrate uptake		
			Control inhibitor A)	0.36 µM MSC2156119J	3.6 µM MSC2156119J
1	hOAT1	PAH (135 µM)	61.5	-25.5	-18.8
2	hOAT1	PAH (135 µM)	69.4	2.93	-5.28
Mean ± av.dev.			65.4±4.0	-11.3±14.2	-12.0±6.8
1	hOAT3	ES (16 µM)	74.6	-21.1	-15.4
2	hOAT3	ES (16 µM)	84.2	-3.20	-12.5
Mean ± av.dev.			79.4±4.8	-12.1±8.9	-13.9±1.4

Source Report: (Study Report PCT-008-[redacted]).

A) control inhibitors: for hOAT1 experiments: glibenclamide (20 µM); for hOAT3 experiments: indomethacin (10 µM); hOAT: human organic anion transporter; PAH: p-aminohippuric acid; ES: estrone 3-sulfate; average deviation (av.dev.) was calculated for n=2

Stock solution concentrations and solubility in assay buffer were verified. Absorption to wells was approximately 20%. Therefore, the concentrations tested were 20% below the intended test item concentrations which is reflected in the concentrations given in this table (0.36 and 3.6 instead of 0.45 and 4.5 µM.

16-D 薬物相互作用

Batch: EE10003524, (ZAK011/008 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.11 **Study No.:** DMPK 77-[redacted]

Study no. / GLP-status	DMPK 77-[redacted] / non-GLP
Study code of sponsor	hOATP1B1and hOATP1B3-transfected and vector-transfected HEK cells
Test system	MSC2156119J (0.42 and 4.2 µM)
Test item	Radiolabeled probe substrate uptake in cells measured by liquid scintillation counting in presence and absence of MSC2156119J and one positive control inhibitor
Analytical method	DMPK 77-[redacted] / non-GLP

Experimental results

Assay no.	Transporter	Substrate	Inhibitory effect (%) on probe substrate uptake		
			Control inhibitor [a]	0.42 µM MSC2156119J	4.2 µM MSC2156119J
V288	hOATP1B1	BSP (0.05 µM)	96	1.8	-18
V289	hOATP1B1	BSP (0.05 µM)	100	1.4	-40
Mean ± av.dev.			98±2	1.6±0.2	-29±11
V288	hOATP1B3	BSP (1 µM)	82	1.1	-17
V289	hOATP1B3	BSP (1 µM)	82	2.2	-9.5
Mean ± av.dev.			82±0	1.7±0.5	-13±4

Source Report: (Study Report DMPK 77-[redacted]). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics.
a: control inhibitor telmisartan: for hOATP1B1 experiments: 50 µM; for hOATP1B3 experiments 5 µM; hOATP: human organic anion transporting polypeptide
BSP: sulfobromophthalein; average deviation (av.dev.) was calculated for n=2
Stock solution concentrations were verified. Absorption of MSC2156119J to wells was approximately 30%. Therefore, reported concentrations (0.42 and 4.2 µM) deviate from applied concentrations (0.6 and 6 µM).

16-E 薬物相互作用

Batch: EE10003524, (ZAK011/008 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.13 **Study No.:** XS-0165 (DMPK 32-[redacted])

Merck-Serono study code./GLP-status:	DMPK 32-[redacted]/non-GLP
Sekisui study number:	XS-0165
Type of study:	In Vitro Evaluation of MSC2156119J as an Inhibitor for Human BSEP
Method:	Non-specific binding of ^{14}C-MSC2156119J to test tubes, concentration check of MSC2156119J stock solution by HPLC-UV, measurement of uptake amount by LSC, control experiments using standard substrates and inhibitor to prove the validity of the assay
Target entity:	^{14}C-MSC2156119J
Concentrations:	2.6 and 12.8 µmol/L (corrected)
Number of measurements:	Triplicates

Tabulated results:

Test item or typical inhibitor		**Vesicles**	**Cleared volume**			**% of control**	**% of control**
Name	**Concentration (µmol/L)**	**(Lot No.)**	**(µL/mg protein)**				**Mean**
-	0	Control (10.Feb.2010)	5.92	±	0.09	-	-
		BSEP (21.Mar.2011)	147	±	4	100.0	100.0
		BSEP (26.Feb.2010)	84.3	±	5.7	100.0	
MSC2156119J	2.6	Control (10.Feb.2010)	7.00	±	0.75	-	
		BSEP (21.Mar.2011)	167	±	9	113.4	109.5
		BSEP (26.Feb.2010)	89.8	±	3.5	105.6	
MSC2156119J	12.8	Control (10.Feb.2010)	10.9	±	3.0	-	-
		BSEP (21.Mar.2011)	145	±	5	95.1	94.7
		BSEP (26.Feb.2010)	84.7	±	3.6	94.2	
Cyclosporin A	10	Control (10.Feb.2010)	7.25	±	0.45	-	-
		BSEP (21.Mar.2011)	32.4	±	0.7	17.8	16.8
		BSEP (26.Feb.2010)	19.6	±	0.9	15.8	

Source Study Report (Study Report XS-0165 (DMPK 32-[redacted])).
The concentrations of test item in dosing solutions were confirmed.
DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; BSEP: Bile salt export pump; HPLC-UV: High performance liquid chromatography with UV detector; LSC: Liquid scintillation counting;
The test item concentrations of 2.6 and 12.8 µmol/L have been corrected by the extent of stickiness to the experimental equipment.
Function of BSEP was confirmed by control experiments with and without cyclosporin A, as a BSEP inhibitor.
Instability of the test item or vesicle toxicity were not be expected since the incubation time of this assay was only 5 min.
The parenthesis in the column of Vesicles means lot number, which refers to creation date of vesicle batches but not experiment date.

16-F 薬物相互作用

Batch: ZAK011-008 labeled **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.14 **Study No.:** TNO 9518 (DMPK 44-[redacted])

Study No.:	9518
Type of study:	Substrate assessment of MSC2156119J by bi-directional permeability determination in MDCKII-control and MDCKII-BCRP cells
GLP-status:	non-GLP
Methods:	Cytotoxicity of MSC2156119J by neutral red uptake, radiochemical purity of ^{14}C-MSC2156119J by radio-HPLC, recovery of ^{14}C-MSC2156119J, measurement of ^{14}C-MSC2156119J transport by liquid scintillation counting.
Target entity:	^{14}C-MSC2156119J
Concentrations:	0.3, 1, and 15 µM
Number of measurements:	Triplicates

Experimental results:

Treatment	**Concentration (µM)**	**Efflux ratio[a,b]**		**Efflux ratio MDCKII-BCRP[a,b]**
		MDCKII-control	**MDCKII-BCRP**	**+ Reference inhibitor[c]**
MSC2156119J	0.3	0.8/nd	1.3/nd	nd
MSC2156119J	1	0.7/1.0	1.4/1.8	nd/1.1
MSC2156119J	15	0.9/0.7	1.3/1.3	nd/0.8
Reference substrate[d]	1	0.9/1.0	26/45	0.9/1.0

Additional Information: MSC2156119J showed no signs of toxicity, the purity of ^{14}C-MSC2156119J was sufficient for the conduct of the study and MSC2156119J did not bind to plastic and filter inserts.

Source Report: (Study Report TNO 9518 (DMPK 44-[redacted])). DMPK: Drug metabolism and pharmacokinetics; BCRP: Breast cancer resistance protein;
Data presented are mean values (n = 3). nd = not determined
a: Efflux ratio calculated as: P_{app} (b-a) / P_{app} (a-b)
b: Results from step 1 and step 2 study, respectively (step 1 (120 min)/step 2)
c: Ko143
d: PhIP

16-G 薬物相互作用

Batch: EE10003524_02 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.15 **Study No.:** DMPK 24-[redacted]

Study no. / GLP-status	DMPK 24-[redacted] / non-GLP
Test system	hOCT1-transfected and respective vector (pEF-DEST51)-transfected HEK-293 cells
Analytical method	Measurement of ^{3}H-MPP+ intracellular uptake by liquid scintillation counting
Methods:	Cytotoxicity of MSC2156119J by neutral red uptake, radiochemical purity of ^{14}C-MSC2156119J by radio-HPLC, recovery of ^{14}C-MSC2156119J, measurement of ^{14}C-MSC2156119J transport by liquid scintillation counting.
Target entity:	^{14}C-MSC2156119J
Concentrations:	0.3, 1, and 15 µM
Number of measurements:	Triplicates

Experimental results:

Experimental set 2		**Experimental set 3**		
Concentration of MSC2156119J (µM)	**hOCT1-mediated MPP+ uptake rate (pmol/min/mg protein)**	**Concentration of MSC2156119J (µM)**	**hOCT1-mediated MPP+ uptake rate (pmol/min/mg protein)**	
0.26	292	0.25	305	
0.47	292	0.50	303	
0.71	256	0.90	286	
1.38	174	1.61	242	
2.86	115	2.64	167	
4.73	39	5.16	60	
9.74	9.2	9.76	21	**Mean IC_{50}(µM)**
IC_{50} (µM)	1.9 (1.6 – 2.3)	IC_{50} (µM)	2.8 (2.7 – 2.8)	2.3

Additional Information: The HEK-293 cell was intact and hOCT1 functioning as shown by control experiments (LDH leakage test and monitoring hOCT1-mediated MPP+ intracellular uptake with and without decynium-22 and β-estradiol, reference hOCT1 inhibitors). The test item was soluble in assay buffer and stable in the incubation.

Source Report: (Study Report DMPK 24-[redacted]). OCT: Organic cation transporter;
hOCT-mediated MPP+ uptake rate (pmol/min/mg protein) = Uptake rate in hOCT1-transfected cells – uptake rate in vector-transfected cells

16-H 薬物相互作用

Batch: EE12000324; HHB015/009 (^{14}C) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.16 **Study No.:** PCT-063-[redacted] ([redacted]-GR034-P0)

Study no. / GLP-status	PCT-063-[redacted] / non-GLP
Study code of sponsor	[redacted]-GR034-P0
Test system	hOCT2 -transfected and control (vector only)-transfected HEK cells
Test item	MSC2156119
Analytical method	Radiolabeled probe substrate uptake (at K_m) in cells measured by liquid scintillation counting in presence and absence of MSC2156119 and one positive control inhibitor

Experimental results

Assay no.	Transporter	Substrate	Inhibitory effect (%) on probe substrate uptake								
			Decynium22 (50 µM)	Concentration of MSC2156119 (µM)							
				1	15	50	75	100	300	500	
1	hOCT2	MPP (57 µM)	83	-	25	-	60	-	-	-	
2			78	-	22	-	56	-	-	-	
Mean			81	-	24	-	58	-	-	-	**IC_{50} (µM)**
3			76	2.9	7.5	34		58	80	89	
4			83	-3.4	10	41		59	82	86	67 ± 5.3
Mean			80	-0.3	8.6	37		58	81	88	

Source Report: (Study Report PCT-063-[redacted] ([redacted]-GR034-P0)).
Transporter: hOCT: human organic cation transporter; IC_{50}: Half maximal inhibitory concentration.
Control inhibitor for hOCT2 experiments: Decynium22;
Probe substrate MPP: 1-Methyl-4-phenylpyridinium iodide (57 µM).
K_m: Michaelis constant

16-I 薬物相互作用

Batch: EE12000324, (HHB015/009 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.17 **Study No.:** PCT-065-[redacted] ([redacted]-GR036-P0)

Study no. / GLP-status:		PCT-065-[redacted]/non-GLP												
Study code of sponsor:		[redacted]-GR036-P0												
Test systems:		hMATE1-transfected and vector-transfected HEK cells												
Test item:		MSC2156119J												
Analytical method:		Radiolabeled uptake in cells measured by liquid scintillation												
Experimental results														
Uptake ratios between hMATE1- and vector-transfected HEK cell lines														
Test item		**MSC2156119**												**Control substrate metformin**
Assay no. 1	**Concentration (µM)**	0.51				4.9				32				275
	Time (min)	0.1	1	2	5	0.1	1	2	5	0.1	1	2	5	1
	Uptake ratio	1.1	1.1	1.0	1.2	1.2	1.0	1.0	1.2	1.0	1.2	1.1	1.2	29
Assay no.2	**Concentration (µM)**	0.47				3.8								275
	Time (min)	0.1		5		0.1		5						1
	Uptake ratio	1.0		1.1		1.0		1.0						17
Conclusion: MSC2156119 is not a substrate of hMATE1 in vitro at the concentrations investigated.														

Source Report: (Study Report PCT-065-[redacted] ([redacted]-GR036-P0)). MATE1: Multidrug and toxin extrusion 1.

16-J 薬物相互作用

Batch: EE12000324,(HHB015/009 labeled) **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.18 **Study No.:** 9626-02 ([redacted]-GR115-P0)

Study no. / GLP-status:	9626/02 / non-GLP
Study code of sponsor:	[redacted]-GR115-P0
Test system:	MDCKII-hMRP2 and MDCKII-control cell system
Test item:	MSC2156119J
Methods:	Bi-directional transport of ^{14}C-MSC2156119J (97.5% purity) across monolayers of MDCKII-hMRP2 with or without hMRP2 reference inhibitor MK-571 (50 µM). ^{3}H-vinblastine (1 µM) was used as a reference substrate for hMRP2. Due to the fact that MSC2156119J is a known P-gp substrate, MDR1 inhibitor PSC833 (0.1 µM) was included in all incubations.
Concentrations:	0.1, 0.3, 1, and 15 µM
Analytical method:	Liquid scintillation counting

Experimental results MDCKII-hMRP2 cells:

Experiment	Compound	Treatment	Compound Concentration (µM)	Efflux ratio[a] (ER)		Corrected efflux ratio[b] (CER)
				MDCKII-hMRP2	MDCKII-control	
Step 1	^{14}C-MSC2156119J	No inhibitor	0.3	1.3 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.3
		No inhibitor	1	1.3 ± 0.1	0.9 ± 0.3	1.4
		No inhibitor	15	1.0 ± 0.2	1.3 ± 0.2	0.8
	^{3}H-vinblastine	No inhibitor	1	11.6	6.0	1.9
		MK-571 (50 µM)	1	2.2	2.4	0.9
Step 2	^{14}C-MSC2156119J	No inhibitor	0.1	2.1 ± 0.5	3.4 ± 0.7	0.6
		MK-571 (50 µM)	0.1	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.1	1.0
		No inhibitor	0.3	1.4 ± 0.2	0.9 ± 0.1	1.5
		MK-571 (50 µM)	0.3	1.7 ± 0.4	0.8 ± 0.3	2.1
		No inhibitor	1	1.8 ± 0.2	0.9 ± 0.3	2.0
		MK-571 (50 µM)	1	1.6 ± 0.1	0.9 ± 0.1	1.8
	^{3}H-vinblastine	No inhibitor	1	17.4	4.2	4.1

		MK-571 (50 µM)	1	2.2	2.0	1.1
Additional information: Test item was stable during 60 min incubation in the test system. The TEER values of the monolayers were consistent with cell monolayers functioning properly. MDCKII cell monolayers functioned as expected regarding paracellular and transcellular permeability.						

Source Report: (Study Report 9626/02 ([redacted]-GR115-P0)). P-gp: p-glycoprotein (also known as MDR-1). MDR: Multidrug resistance protein 1. TEER: Trans epithelial electric resistance.

Data presented are mean values ± standard deviation (n=3)

a: Efflux ratio calculated as: P_{app} (B-A) / P_{app} (A-B). Papp: apparent permeability; A: Apical; B: Basal.

b: Corrected efflux ratio calculated as: efflux ratio hMRP2 / efflux ratio control (mean value)

16-K 薬物相互作用

Batch: MSC256119J: EE12003524_02, MSC2571109A: 2 **Test Article:** tepotinib (MSC2156119J), MSC2571109A

Location in CTD: Section 4.2.2.6.19 **Study No.:** PCT-064-[redacted] ([redacted]-GR035-P0)

Study no. / GLP-status:	PCT-064-[redacted] / non-GLP
Study code of sponsor:	[redacted]-GR035-P0
Test system:	hMATE1 and MATE2K -transfected and control (vector only)-transfected HEK cells
Test items:	MSC2156119 and MSC2571109
Analytical method:	Radiolabeled probe substrate uptake (at K_m) in cells measured by liquid scintillation counting in presence and absence of MSC2156119 and MSC2571109 and one positive control inhibitor

Experimental results

Assay no.	**Transporter/ substrate**	**Inhibitor/ test item**	**Inhibitory effect (%) on probe substrate uptake**											**IC_{50} (µM)**
			Cimetidine	**MSC2156119**										
		Concentration (µM)	50	0.005	0.05	0.1	0.5	2.0	10	15	50	75	100	150	
1	hMATE1/ metformin (274 µM)	**% inhibition on probe substrate uptake**	93	-	-	-	-	-	-	79	-	91	-	-	
2			99	-	9.7	-	20	39	74	-	91	-	-	95	3.6±0.2
4			93	-	9.2	-	22	40	76	-	91	-	-	96	
1	hMATE2K/metformin (934 µM)		88	-	-	-	-	-	-	85	-	96	-	-	
2			100	-	8.4	-	55	61	80	-	98	-	-	100	1.1±0.3
4			94	-0.5	-	1.1	27	55	85	-	-	-	96	-	
5			87	2.3	-	0.0	24	67	83	-	-	-	96	-	

Study no. / GLP-status:	PCT-064-[redacted] / non-GLP
Study code of sponsor:	[redacted]-GR035-P0
Test system:	hMATE1 and MATE2K -transfected and control (vector only)-transfected HEK cells
Test items:	MSC2156119 and MSC2571109
Analytical method:	Radiolabeled probe substrate uptake (at K_m) in cells measured by liquid scintillation counting in presence and absence of MSC2156119 and MSC2571109 and one positive control inhibitor

Experimental results

Assay no.	Transporter/ substrate		Inhibitory effect (%) on probe substrate uptake								IC_{50} (µM)
		Inhibitor/ test item	**Cimetidine**	**MSC2156119**							
		Concentration (µM)	50	0.04	0.24	0.48	1.0	1.6	5		
1	hMATE1/ metformin (274 µM)	**% inhibition on probe substrate uptake**	94	-	-	-	19	-	49		
			92	-3.1	5.9	10	22	36	-		≥4.1
3		**Concentration (µM)**	50	**0.04**	0.34	0.96	1.7	3.3	4.1		
5		**% inhibition on probe substrate uptake**	91	**-6.2**	2.2	4.5	22	30	30		
		Inhibitor/ test item	**Cimetidine**	**MSC2571109**							IC_{50} (µM)
		Concentration (µM)	50	0.033	0.23	0.43	0.81	1.0	1.6	5	
1	hMATE2K/metformin (934 µM)	**% inhibition on probe substrate uptake**	88	-	-	-	-	52	-	80	
			84	-10	23	38	58	-	76	-	0.36±0.13
3		**Concentration (µM)**	50	0.039	0.36	0.65	1.1	3.0	4.0	-	
5		**% inhibition on probe substrate uptake**	84	8.8	34	65	57	72	77	-	

Source Report: (Study Report PCT-064-[redacted] ([redacted]-GR035-P0)). K_m. Michaelis constant.
Control inhibitor for hMATEs experiments: 50 µM cimetidine; hMATE: human multidrug and toxin extrusion transporter.

16-L 薬物相互作用

Batch: 2 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.20 **Study No.:** 9626-03 ([redacted]-GR045-P0)

Study no. / GLP-status:	9626/03 / non-GLP
Study code of sponsor:	[redacted]-GR045-P0
Test system:	HEK-hOATP1B1, HEK-hOATP1B3, HEK-hOCT1, and HEK-control cell system
Test item:	MSC2571109A
Methods:	1 minutes accumulation measurement of probe substrates, 3H-estradiol-17β-D-glucuronide and ^{14}C-tetraethyl ammonium chloride, into HEK-hOATP1B1/h1B3, and HEK-hOCT1 cells, respectively, in absence and presence of the test item MSC2571109A or reference inhibitor using liquid scintillation counting.

Experimental results HEK-hOATP1B1, HEK-hOATP1B3, HEK-hOCT1, and HEK-control cells

Assay	**Transporter**	**Probe substrate**	**Inhibition (%) [a]**								
			Concentration MSC2571109A (µM)								
			0	**0.05**	**0.1**	**0.3**	**0.5**	**1**	**3**	**5**	**IC_{50} (µM)**
Step 1: inhibition	hOATP1B1	EG (1 µM)	-	-	-	-	-	52.9	-	88.6	-
Step 2: IC_{50}			0	11.8	14.9	26.1	40.2	54.8	81.6	91.1	0.79
Step 2: IC_{50} repeat			0	7.1	7.7	26.3	35.6	52.3	83.2	88.0	
Step 1: inhibition	hOATP1B3	EG (1 µM)	-	-	-	-	-	0 [b]	-	26.0	-
Step 2: IC_{50} repeat			-	-	-	-	-	0 [b]	-	5.9	-
Step 1: inhibition	hOCT1	TEA (10 µM)	-	-	-	-	-	40.4	-	75.8	-
Step 2: IC_{50}			0	18.4	16.5	32.8	48.5	66.7	91.0	95.9	0.60
Step 2: IC_{50} repeat			0	3.1	20.9	25.3	41.3	56.5	81.6	83.4	

Conclusions: MSC2571109A was an inhibitor of hOATP1B1 and hOCT1 with an IC_{50} value of 0.79 and 0.60 µM, respectively. MSC2571109A was not a relevant inhibitor of hOATP1B3, up to 5 µM.

Source Study Report (Study Report 9626-03([redacted]-GR045-P0)). IC_{50}: Half maximal inhibitory concentration; EG: ^{3}H-estradiol-17β-D-glucuronide; OATP: Organic anion-transporting polypeptide; OCT: Organic cation transporter; TEA: ^{14}C-tetraethyl ammonium chloride.
Data presented are mean values
a: Inhibition in presence of reference inhibitor was set to 100%, b: Negative value set to 0

16-M 薬物相互作用

Batch: 2 **Test Article:** MSC2571109A

Location in CTD: Section 4.2.2.6.21 **Study No.:** 9626-03 ([redacted]-GR046-P0)

Study no. / GLP-status:	9626/03 / non-GLP
Study code of sponsor:	[redacted]-GR046-P0
Test system:	HEK-hOAT1, HEK-hOAT3, HEK-hOCT2, and HEK-control cell system
Test item:	MSC2571109A
Methods:	1 or 2 minutes accumulation measurement of probe substrates, 3H-para-amino hippuric acid, 3H -estradiol-17β-D-glucuronide and 14C-metformin hydrochloride, into HEK-hOAT1, HEK-hOAT3, and HEK-hOCT2 cells, respectively, in absence and presence of the test item MSC2571109A or reference inhibitor using liquid scintillation counting

Experimental results HEK-hOAT1, HEK-hOA3, HEK-hOCT2, and HEK-control cells

Assay	Transporter	Probe substrate	Inhibition (%) [a]								
			Concentration MSC2571109A (µM)								
			0	**0.05**	**0.1**	**0.3**	**0.5**	**1**	**3**	**5**	**IC_{50} (µM)**
Step 1: inhibition	hOAT1	PAH (2 µM)						14.2		32.7	
Step 2: IC_{50} repeat								22.1		20.3	
Step 1: inhibition	hOAT3	E3S (2 µM)						37.9		70.2	
Step 2 – IC_{50}			0	13.1	12.4	13.1	28.6	29.1	46.2	58.3	3.3
Step 2: IC_{50} repeat			0	5.8	14.8	13.1	20.5	31.9	52.8	55.3	
Step 1: inhibition	hOCT2	MET (5 µM)						nd		nd	
Step 2: IC_{50}			0	55.3	86.7	95.3	97.7	98.5	100	99.5	0.04
Step 2: IC_{50} repeat			0	76.3	90.2	96.5	98.2	99.7	100	99.8	

Conclusions: MSC2571109A was an inhibitor of hOAT3 and hOCT2 with an IC_{50} value of 3.3 and 0.04 µM, respectively. MSC2571109A is not a relevant inhibitor of hOAT1, up to 5 µM

Source Report: (Study Report 9626-03 ([redacted]-GR046-P0)). IC_{50}: Half maximal inhibitory concentration; hOAT: human organic anion-transporter; OCT: Organic cation transporter; PAH: ^{3}H-para-amino hippuric acid, E3S: ^{3}H -estradiol-17β-D-glucuronide and MET: ^{14}C-metformin hydrochloride; nd: not determined.
Data presented are mean values
a: Inhibition in presence of reference inhibitor was set to 100%.

16-N 薬物相互作用

Batch: EE15002624 **Test Article:** tepotinib（MSC2156119J）

Location in CTD: Section 4.2.2.6.12 **Study No.:** PCT-114-[redacted] ([redacted]-DA0273-0)

Study no. / GLP-status	PCT-114-[redacted] / non-GLP
Study Code of sponsor	[redacted]-DA0273-0
Test system	h (human) OATP1B1, hOATP1B3, hOAT1 and hOAT3 -transfected and control (vector only)-transfected HEK cells
Test item	MSC2156119J
Analytical method	Radiolabeled probe substrate uptake (at K_m) in cells measured by liquid scintillation counting in the presence and absence of MSC2156119J at 6 concentrations (see table below, up to 300 µM, the highest soluble concentration tested in this study) and one positive control inhibitor.

Experimental results

Assay no.	Transporter	Substrate	Control inhibitor [A)]	Inhibitory effect (%) on probe substrate uptake						
				Concentration of MSC2156119J (µM)						
				0.03	0.3	3.0	30	100	300	IC_{50} (µM)
1	hOATP1B1	ES (0.26 µM)	68	-56	-47	-36	-31	-13	59	177 ± 30
2			79	-26	-31	-59	-21	5.2	58	
Mean			73	-41	-39	-48	-26	-4.1	58	
1	hOATP1B3	BSP (0.86 µM)	82	-8.2	-8.1	4.9	55	87	112	35 ± 6
2			84	-1.7	-3.3	8.3	57	90	109	
Mean			83	-5.0	-5.7	6.6	56	88	110	
2	hOAT1	PAH (90 µM)	77	8.3	11	12	0.6	19	58	271 ± 46
3			80	-3.5	8.2	-0.03	23	12	53	
Mean			79	2.4	10	5.9	12	15	55	
2	hOAT3	ES (20 µM)	81	-16	-4.5	2.4	-4.2	-6.9	5.7	n.d.
3			74	11	-1.5	12	2.3	12	15	
Mean			78	-2.3	-3.0	7.0	-1.0	2.5	10	

Additional information: Solubility of MSC2156119J in the dosing solutions, up to 300 µM, the highest concentration tested in this study, was checked by visual inspection and no precipitation was observed.

control inhibitors: for hOATP1B1 experiments: rifampicin (30 μM); for hOATP1B3 experiments: rifampicin (5 μM); for hOAT1 experiments: glibenclamide (20 μM); for hOAT3 experiments: indomethacin (10 μM); hOATP: human organic anion transporter protein; hOAT: human organic antion transporter; ES: estrone 3-sulfate; BSP: Sulfobromophthalein; PAH: p-aminohippuric acid. K_m: Michaelis constant; IC_{50}: Half maximal inhibitory concentration. n.d: not determined.

16-O 薬物相互作用

Batch: JKE18-025 (radiolabeled), EE1500624 (MSC2571109J) **Test Article:** tepotinib (MSC2156119J)

Location in CTD: Section 4.2.2.6.22 **Study No.:** PCT-121-[redacted] ([redacted]-DA0484-0)

Study no. / GLP-status	PCT-121-[redacted] non-GLP
Study Code of sponsor	[redacted]-DA0484-0
Test system	h (human) hOATP1B1, hOATP1B3, hOCT1, hOCT2, and hMATE2K -transfected and control (vector only)-transfected HEK cells
Test item	14C-MSC2156119J
Analytical method	Determination of 14C-MSC2156119J concentrations (tested at 0.2, 2.0, and 10 µM (ratio of labeled to non-labeled concentration of MSC2156119J of 1:5)) within cells by liquid scintillation counting

Experimental results

Assay no.	Transporter	Control substrate	Uptake ratios between Transporter- and vector-transfected HEK cell lines												
			^{14}C-MSC2156119J (µM)												Uptake ratio of control substrate
			0.2 µM				2.0 µM				10 µM				
			Time (min)												
			0.1	1	2	5	0.1	1	2	5	0.1	1	2	5	
1	hOATP1B1	ES (0.26 µM)	0.89	1.01	1.08	1.05	0.90	0.90	1.01	1.00	0.90	0.91	0.93	1.05	14
4			0.83	-	-	0.91	0.87	-	-	0.93	-	-	-	-	11
1	hOATP1B3	BSP (0.86 µM)	0.92	0.97	1.03	0.94	1.07	0.90	1.16	0.97	1.12	0.90	0.94	0.97	5.3
4			0.96	-	-	0.94	1.06	-	-	1.14	-	-	-	-	3.6
2	hOCT1	MPP (82 µM)	1.07	1.11	0.97	1.02	0.97	1.14	1.00	1.04	0.98	0.92	1.02	1.06	14
5			1.36	-	-	1.19	1.02	-	1.17	-	-	-	-	-	17
2	hOCT2	MPP (57 µM)	1.64	1.08	1.23	1.30	1.09	1.32	1.27	1.20	1.14	1.30	1.35	1.30	13
4			0.95	-	-	0.78	0.87	-	-	0.95	-	-	-	-	11
3	hMATE2K	Metformin (934 µM)	1.20	1.09	1.00	1.21	1.04	1.28	1.21	1.34	0.95	1.15	1.16	1.16	3.2
5			1.02	-	-	1.48	1.22	-	-	1.30	-	-	-	-	5.8

Conclusion: MSC2156119J is not a substrate of OATP1B1, hOATP1B3, OCT1, OCT2, and MATE2K in vitro at the concentrations investigated.

Source Report (Study Report PCT-121-[redacted] ([redacted] DA0484-0)).
hOATP: human organic anion transporter protein; hOCT: human organic cation transporter; hMATE: human multidrug and toxin extrusion transporter; ES: estrone 3-sulfate; BSP: Sulfobromophthalein; MPP: 1-Methyl-4-phenylpyridinium iodide

16-P 薬物相互作用

Batch: 2 **Test Article:** MSC2571109A

Location in CTD: Section 4.2.2.6.23 **Study No.:** PCT-122-[redacted] ([redacted]-DA0485-0)

Study no. / GLP-status	PCT-122-[redacted] non-GLP
Study Code of sponsor	[redacted]-DA0485-0
Test system	h (human) hOATP1B1. hOATP1B3. hOCT1. hOCT2. hMATE1. and hMATE2K -transfected and control (vector only)-transfected HEK cells
Test item	MSC2571109A-2
Analytical method	Determination of MSC2571109A concentrations (0.03. 0.3 and 3.0) within cells by LC-MS

Experimental results

Assay no.	Transporter	Control substrate	Uptake ratios between Transporter- and vector-transfected HEK cell lines												
			MSC2571109A (μM)												Uptake ratio of control substrate
			0.03 μM				0.3 μM				3.0 μM				
			Time (min)												
			0.1	1	2	5	0.1	1	2	5	0.1	1	2	5	
1	hOATP1B1	ES (0.26 μM)	0.97	0.80	0.84	0.87	0.79	0.79	0.94	1.03	0.86	0.80	0.87	0.99	14
4			0.79	-	-	0.74	1.01	-	-	1.06	-	-	-	-	11
1	hOATP1B3	BSP (0.86 μM)	0.84	0.92	0.88	0.87	0.88	0.88	0.92	0.92	0.88	0.92	1.25	0.98	5.3
4			0.75	-	-	0.79	1.09	-	-	0.96	-	-	-	-	3.6
2	hOCT1	MPP (82 μM)	1.14	0.93	0.92	1.00	0.80	0.99	0.95	0.87	1.14	1.05	0.83	0.80	14
6			1.15	-	-	0.86	1.94	-	-	1.51	-	-	-	-	17
2	hOCT2	MPP (57 μM)	1.65	1.65	1.69	2.02	1.68	2.13	0.53	1.02	1.26	1.25	1.14	1.18	13
4			1.01	-	-	0.95	1.42	-	-	1.45	-	-	-	-	11
3	hMATE1	Metformin (274 μM)	1.45	1.17	1.13	1.21	1.49	1.06	1.07	1.17	1.30	1.11	1.17	1.20	22
5			0.76	-	-	0.94	1.29	-	-	1.37	-	-	-	-	22
3	hMATE2K	Metformin (934 μM)	1.12	0.96	1.10	1.01	1.18	1.04	1.11	1.11	1.16	1.12	1.15	1.20	3.2
6			0.46	-	-	1.13	1.15	-	-	1.49	-	-	-	-	5.8

Conclusion: MSC2571109A is not a substrate of OATP1B1. hOATP1B3. hOCT1. hOCT2. hMATE1 and hMATE2K in vitro at the concentrations, and time-points, investigated.

Source Report: (Study Report 122-[redacted]). hOATP: human organic anion transporter protein; hOCT: human organic cation transporter; ES: estrone 3-sulfate; BSP: Sulfobromophthalein; PAH: p-aminohippuric acid; MPP: 1-Methyl-4-phenylpyridinium iodide; MATE: Multidrug and toxin extrusion;

16-Q 薬物相互作用

Batch: NA **Test Article:** tepotinib, MSC2571109A

Location in CTD: Section 4.2.2.6.24 **Study No.:** ([redacted]-DA0624-0)

Study number:	[redacted]-DA0624-0
Title of the Report:	tepotinib and its Metabolite MSC2571109A - DDI Risk Assessment
Objective:	The first objective of this modeling work is to estimate the impact of inhibitors and inducers on the AUC of tepotinib and MSC2571109A. The second objective is to estimate the impact of tepotinib and MSC2571109A on sensitive substrates via DDI, both as inhibitor of CYPs and transporters, as well as inducer of CYPs.
Analysis Method:	Maximum inhibitor unbound driving concentrations of the various processes were calculated for tepotinib and MSC2571109A as perpetrators, after administration of 500 mg tepotinib QD. Basic modeling, mechanistic-static modeling, and PBPK modeling were applied as appropriate to address CYP inhibition and induction, UGT inhibition, respectively. Regulatory cut-offs for transporter inhibition were converted to $[I]/IC_{50}$ cut-offs, and applied using the appropriate driving concentrations of tepotinib and MSC2571109A, respectively.
Results:	Potential interactions via CYP inhibition and induction could be excluded, pending clinical clarification of interactions via CYP3A4. Clinical interactions based on UGT inhibition are evaluated as unlikely. Clinical DDI risk via transporter inhibition by tepotinib could be excluded for OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, and OCT2, but not for P-gp, BCRP, OCT1, BSEP, MATE1, MATE2K. Clinical DDI risk via transporter inhibition by MSC2571109A could be excluded for OATP1B3, OAT1, OAT3, and MATE1, but not for OATP1B1, OCT1, OCT2, MATE2K. tepotinib elimination is not expected to be substantially influenced by interactions via CYP enzymes or phase II metabolism. tepotinib is a substrate of P-gp, but not a substrate of BCRP, MRP2, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, MATE1, or MATE2-K. MSC2571109A contributes less than 50% to the overall activity, and thus does not warrant investigations as victim in DDI.
Conclusion:	The DDI potential of tepotinib and MSC2571109A was successfully characterized both as perpetrators and substrates, considering the relevant range of drug metabolizing enzymes and transporters.

BSEP: Bile salt export pump; CYP: Cytochrome P450; DDI: Drug-drug interaction; MATE1: Multidrug and toxin extrusion; OATP: organic anion transporter protein; OCT: organic cation transporter; P-gp: P-glycoprotein; QD: daily administration; UDP-Glucuronosyltransferase.

17 薬物動態試験：その他

17-A 毒性試験のトキシコキネティクスデータの要約

Location in CTD: Section 4.2.3.2 **Test Article:** tepotinib

Study no.	GLP-status	Study type and schedule	Species	Route	Doses (mg/kg/day)	Location in CTD
T16157	GLP	4 week oral toxicity	Rat	Po	3, 10, 30, 90	4.2.3.2.1
T16193	GLP	4 week oral toxicity	Rat	Po	30, 90, 270	4.2.3.2.2
[redacted]-DA0061-0	GLP	4 week oral toxicity	Rat	Po	30, 90, 450, 2000	4.2.3.2.3
T16179	GLP	26 week oral toxicity	Rat	Po	15, 45, 135	4.2.3.2.4
RF0480	GLP	Embryo-fetal toxicity	Rabbit	Po	50, 150, 450	4.2.3.5.2.2
RF5400	GLP	Embryo-fetal toxicity	Rabbit	Po	0.5, 5, 25	4.2.3.5.2.3
T 8421	GLP	4 week oral toxicity	Dog	Po	2.5, 10, 40	4.2.3.2.6
T 8427	GLP	13 week oral toxicity	Dog	Po	3, 10, 30	4.2.3.2.7
T 8453	GLP	14 day bridging oral toxicity	Dog	Po	10, 40, 160 (120)	4.2.3.2.8
[redacted]-DA009-N0	GLP	39 week oral toxicity	Dog	Po	3, 10, 30	4.2.3.2.9
[redacted]-GR108-V0[a]	Non-GLP	39 week oral toxicity	Dog	Po	3, 10, 30	4.2.2.7.2
[redacted]-GR019-P0[b]	Non-GLP	39 week oral toxicity	Dog	Po	3, 10, 30	4.2.2.7.3

Source Reports: (Study Reports T16157; T16193; T16179; T8421; T8427; T8453; [redacted]-DA0061-0; [redacted]—DA009N0; [redacted]-GR108-V0 and [redacted]-GR019-P0).
a: Quantification of M506 metabolites (MSC2571109 and MSC2571107) in plasma
b: Quantification of MSC2156119 and M506 metabolites (MSC2571109 and MSC2571107) in bile and liver tissue samples

17-B その他の薬物動態試験

Batch: 14, 16 **Test Article:** tepotinib (MSC2156119J)

Location in CTD: Section 4.2.2.7.1 **Study No.:** RF6770

Name of the test item	MSC2156119, c-Met Kinase Inhibitor (Blue)
Title of the report	MSC2156119: PKPD Modeling of pMet Modulation and Tumor Growth Inhibition in KP-4 Xenograft Mouse Model.
Analysis methods	· **PK:** a 2-compartments with linear 1st order elimination model was used to fit MSC2156119 plasma data. · **PK/PD:** a turnover model (inhibition of the build-up of response) was used to fit phospho c-Met inhibition in tumor. · **Efficacy:** Simeoni model with saturable drug function was used to fit tumor growth inhibition data.
Results	· **PK:** the 2-compartments model fitted reasonably well PK data in the dose range 5- 200 mg/kg. A different F value was assigned to each dose group to allow simultaneous fit of all doses. · **PK/PD:** phospho c-Met data were normalized by total c-Met before analysis since an increase in total c-Met amount in tumor was observed. All doses were pooled together and fitted simultaneously according to a turnover model. The maximum effect was fixed to 100 %. The estimated IC_{50} values were 0.590 and 1.45 ng/mL for Y1234-1235 and Y1349 respectively and the extrapolated IC90 values were 5.5 and 22.9 ng/mL for Y1234-1235 and Y1349 respectively. · **Efficacy:** Mean data from both studies were pooled together and fitted simultaneously according to Simeoni model. The plasma concentration required for tumor stasis (TSC) was estimated at 80.6 ng/mL. The plasma concentrations to achieve 90% and 95% of drug killing effect were 215 and 454 ng/mL, respectively. · **Extrapolation to man:** the target concentration estimated in KP-4 xenograft mice was scaled to man using different protein binding measured in vitro. The total plasma concentration required for tumor stasis in man was estimated at 146 ng/mL.
Conclusion	· A nearly complete inhibition (> 95%) of phospho c-Met in tumor is needed to observe tumor regression. · The suggested minimum target concentration in human is 146 ng/mL, this is the total plasma concentration to be maintained for the whole treatment. · It is suggested to check the Pharmacokinetics and the biomarker modulation after repeated doses to check assumptions made and to further strengthen the pre-clinical modeling package for this project.

Source Report: (Study Report RF6770). MSC2156119 is the free base of MSC2156119J. PK/PD: Pharmacokinetics-Pharmacodynamics.

18 付録：テポチニブ及びその代謝物の命名法

Compound Nomenclature

tepotinib (MSC2156119J): alias EMD1214063: hydrochloride hydrate form of tepotinib

MSC2156119: MSC2156119A or (EMD1160879), are free base of tepotinib

MSC2569775: metabolite alias M506

MSC2569775A-2H: internal standard for MSC2571107A and MSC2571109A

MSC2571109: the free base of tepotinib metabolite MSC2571109A

MSC2571107: the free base of tepotinib metabolite MSC2571107A.

MSC2191634: metabolite M508 (1and2)

MSC2489308: metabolite alias M508-2

MSC2489309: metabolite alias M508-1

MSC2157042: metabolite alias M478