第 2 部　CTD の概要

一般名：アカラブルチニブ

版番号：[redacted]

2.6.4　薬物動態試験の概要文
カルケンス®カプセル

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

目次 2
略語及び専門用語一覧表 6
2.6.4.1 まとめ 8
2.6.4.1.1 はじめに 8
2.6.4.1.2 吸収 8
2.6.4.1.3 分布 8
2.6.4.1.4 代謝 9
2.6.4.1.5 排泄 10
2.6.4.1.6 薬物相互作用 10
2.6.4.1.7 非臨床薬物動態試験一覧 11
2.6.4.2 分析法 13
2.6.4.2.1 標識化合物 13
2.6.4.2.2 血漿中アカラブルチニブ濃度分析法（非 GLP 試験） 13
2.6.4.2.3 血漿中アカラブルチニブ濃度分析法（バリデーション） 13
2.6.4.2.4 血漿試料中アカラブルチニブの保存安定性 14
2.6.4.2.5 QWBA 放射能濃度測定 14
2.6.4.2.6 放射能測定法 14
2.6.4.3 吸収 15
2.6.4.3.1 マウスにおける薬物動態 15
2.6.4.3.1.1 マウス単回投与 15
2.6.4.3.1.2 マウス反復投与 17
2.6.4.3.2 ラットにおける薬物動態 18
2.6.4.3.2.1 ラット単回投与 18
2.6.4.3.2.2 ラット反復投与 18
2.6.4.3.3 イヌにおける薬物動態 19
2.6.4.3.3.1 イヌ単回投与 19
2.6.4.3.3.2 イヌ反復投与 20
2.6.4.3.4 サルにおける薬物動態 21
2.6.4.3.4.1 サル単回投与 21
2.6.4.4 分布 22
2.6.4.4.1 血漿蛋白結合及び血球移行 22
2.6.4.4.2 組織分布 23
2.6.4.4.3 胎盤通過及び乳汁移行 26
2.6.4.5 代謝 26
2.6.4.5.1 代謝物構造 26
2.6.4.5.2 推定代謝経路 27

2.6.4.5.3 *In vitro* 代謝 33
2.6.4.5.4 *In vivo* 代謝 35
2.6.4.6 排泄 39
2.6.4.6.1 ラットにおける排泄 39
2.6.4.6.2 イヌにおける排泄 40
2.6.4.6.3 胆汁中排泄 40
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 41
2.6.4.7.1 薬物相互作用の評価 41
2.6.4.7.2 CYP、アルデヒドオキシダーゼ及び UGT 阻害 41
2.6.4.7.2.1 CYP 阻害結果の解釈 42
2.6.4.7.2.2 時間依存的阻害及び代謝依存的阻害 43
2.6.4.7.2.3 生理学的薬物速度論に基づく CYP3A を介した薬物相互作用予測 44
2.6.4.7.2.4 アルデヒドオキシダーゼ阻害 44
2.6.4.7.2.5 UGT 阻害 44
2.6.4.7.3 トランスポーター阻害 45
2.6.4.7.4 CYP 誘導 48
2.6.4.7.4.1 ヒト肝細胞における CYP 誘導 48
2.6.4.7.5 トランスポーターの基質となる可能性 48
2.6.4.7.5.1 P-gp 及び BCRP の基質となる可能性 48
2.6.4.7.5.2 OATP1B1 及び OATP1B3 の基質となる可能性 50
2.6.4.7.5.3 OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質となる可能性 50
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 51
2.6.4.8.1 安全性薬理試験における曝露量 51
2.6.4.9 考察及び結論 51
2.6.4.10 図表 53
2.6.4.11 参考文献 53

表目次

表 1 非臨床薬物動態試験の一覧 11
表 2 血漿中濃度分析法の概要 14
表 3 雄 CD-1 マウスにアカラブルチニブを単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ 16
表 4 雌 BALB/c マウスにアカラブルチニブを単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ 17
表 5 CD-1 マウスにアカラブルチニブを 10、30 及び 100 mg/kg/day 経口投与時の投与 1 日目及び 28 日目の TK パラメータ（雄雌平均） 17
表 6 ラットにアカラブルチニブを単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ 18

表 7 雄雌ラットにアカラブルチニブを反復経口投与後の TK パラメータ 19
表 8 雄イヌにアカラブルチニブを単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ 20
表 9 雄雌イヌにアカラブルチニブを反復経口投与後の TK パラメータ（雄雌平均） 21
表 10 雄サルにアカラブルチニブを単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ 22
表 11 [^{14}C]-アカラブルチニブ及び ACP-5862 の平均血漿蛋白結合率 23
表 12 アカラブルチニブ及び ACP-5862 の血球移行率及び血液／血漿中濃度比 23
表 13 有色ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブを単回経口投与後の組織中放射能濃度(ng eq./g) 25
表 14 ラット、イヌ及びヒトにおけるアカラブルチニブの血漿、尿及び糞中代謝物... 30
表 15 ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブ 100 mg/kg を単回経口投与後の放射能、未変化体及び代謝物の薬物動態パラメータ 36
表 16 イヌに[^{14}C]-アカラブルチニブ 30 mg/kg を単回経口投与後の放射能、未変化体及び代謝物の薬物動態パラメータ 37
表 17 健康被験者に[^{14}C]-アカラブルチニブ 100 mg を単回経口投与後の糞便、尿及び血漿中の代謝物 38
表 18 ラット、イヌ及びヒトにアカラブルチニブ単回経口投与後のアカラブルチニブ及び ACP-5862 の曝露量比較 39
表 19 ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブ 100 mg/kg 経口投与後 0～96 時間の放射能回収率 40
表 20 イヌに[^{14}C]-アカラブルチニブ 30 mg/kg 経口投与後 0～96 時間の放射能回収率 40
表 21 薬物相互作用評価に用いたアカラブルチニブ 100 mg 投与時のパラメータ [a] 41
表 22 ヒト肝ミクロソームにおけるアカラブルチニブ及び ACP-5862 の CYP 阻害 42
表 23 アカラブルチニブ及び ACP-5862 による CYP 阻害結果の解釈 43
表 24 アカラブルチニブ及び ACP-5862 による排出及び取り込みトランスポーターの阻害 46
表 25 アカラブルチニブ及び ACP-5862 によるトランスポーター阻害結果の解釈 47
表 26 P-gp 基質：MDCKII-MDR1 細胞におけるアカラブルチニブ及び ACP-5862 の膜透過性 49
表 27 BCRP 基質：MDCKII-BCRP 細胞におけるアカラブルチニブ及び ACP-5862 の膜透過性 50
表 28 イヌにアカラブルチニブ経口投与後 3 時間の血漿中濃度 51

図目次

図 1 アカラブルチニブの主代謝経路 27
図 2 アカラブルチニブから CYP3A を介して ACP-5862（M27）を生成する代謝経路 27
図 3 ヒト及び動物におけるアカラブルチニブの推定代謝経路 29
図 4 ヒト肝ミクロソームにおけるアカラブルチニブ及び ACP-5862 の消失に及ぼす CYP 阻害剤の影響 34

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
α1-AGP	α1-酸性糖蛋白質
AUC	投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{(0-6)}$	投与後 0 時間から 6 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{(0-24)}$	投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{(0-t)}$	投与後 0 時間から定量可能最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein
C_0	時間 0 に補外した血漿中濃度
CL	全身クリアランス
C_{max}	最高血漿中濃度
CYP	シトクロム P450
DMSO	ジメチルスルホキシド
EMA	欧州医薬品庁
F	バイオアベイラビリティ
FDA	米国食品医薬品局
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GSH	グルタチオン
GST	グルタチオン転移酵素
HEK-293	ヒト胎児由来腎臓 293 細胞
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
HPLC-MS	高速液体クロマトグラフィー／質量分析
HPLC-MS/MS	高速液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析
HSA	ヒト血清アルブミン
IC_{50}	50%阻害濃度
$[I]_g$	消化管内の最高濃度
$[I_{in\ free}]$	非結合形の門脈血漿中最高濃度
$[I_{in\ max}]$	門脈血漿中最高濃度
IV	静脈内
K_i	阻害定数
K_I	最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度
k_{inact}	最大不活性化速度定数
LSC	液体シンチレーション計測
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein
MDCKII	Madin-Darby イヌ腎臓 II 細胞
MDR1	多剤耐性蛋白質 1（P-糖蛋白質[P-gp]）
MHLW 2018	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
NA	該当せず
ND	算出せず

略語及び専門用語	用語の説明
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
P_{app}	見かけの透過係数
P-gp	P-糖蛋白質（MDR1）
PO	経口
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー
SD	標準偏差
$t_{½}$	終末相の消失半減期
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間
UGT	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
V_{ss}	定常状態における分布容積

2.6.4.1 まとめ

2.6.4.1.1 はじめに

アカラブルチニブの薬物動態評価のため、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト（組織）で *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験を除き、非臨床薬理試験及び毒性試験と同じ動物種及び系統で非臨床薬物動態試験を実施した。

試験によりアカラブルチニブを ACP-196 又は Org 300196、アカラブルチニブの活性代謝物 ACP-5862 を M27 と記載している。なお、ACP-5862 については血漿蛋白結合、血球移行、代謝及び薬物相互作用に関する検討を実施した。

アカラブルチニブの *in vitro* 試験では、血漿蛋白結合、血球移行、代謝の種差及び薬物相互作用（シトクロム P450 [CYP]、グルタチオン転移酵素[GST]及びトランスポーター）を評価した。

本項で引用した臨床における曝露量は、アカラブルチニブ 100 mg を単回経口投与後又は反復経口投与後の定常状態における薬物動態パラメータの幾何平均値である。対応する算術平均値、中央値及び範囲は治験総括報告書並びに薬物動態解析報告書に記載している。大部分の薬物動態パラメータは B 細胞性腫瘍患者にアカラブルチニブ 100 mg を 1 日 2 回経口投与時に得られた値である。動物及びヒトに[^{14}C]-アカラブルチニブ経口投与時のバイオアベイラビリティ（F）、代謝及び排泄に関して比較・考察した（Podoll et al 2019）。

2.6.4.1.2 吸収

検討した全ての動物種（マウス、ラット、イヌ及びサル）で、アカラブルチニブは高いクリアランスを示し、クリアランス値は肝血流量の 95%～205%であった。アカラブルチニブ経口投与後の終末相の消失半減期（$t_{½}$）は短く、0.93 時間（マウス、絶食）から 5.98 時間（サル、非絶食）の範囲にあった。アカラブルチニブは速やかに吸収され、検討した全ての動物種において最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は 0.25～2 時間であった。絶食下のマウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにアカラブルチニブ経口投与時の F は、それぞれ 62%、21%、53%、9.9%及び 25%であった。イヌにおける F は絶食時（53%）及び非絶食時（58%）で同程度であった。サルにおける F も絶食時（9.9%）及び非絶食時（6.0%）で同程度であった。

多剤耐性蛋白質 1（MDR1）を発現させた Madin-Darby イヌ腎臓 II（MDCKII）細胞（MDCKII-MDR1 細胞）を用いた膜透過性の検討から、アカラブルチニブは P-糖蛋白質（P-gp [MDR1]）の基質と考えられた。ラット及びイヌの毒性試験で得られた曝露量（投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積[AUC]及び最高血漿中濃度[C_{max}]）は概ね用量比例的で、時間経過に伴うクリアランス変化及び蓄積はなく、反復投与に伴う曝露量の変化は認められなかった。

2.6.4.1.3 分布

血漿蛋白結合率は、絶食下の雄マウス、雄ラット、雄イヌ、雄サル及びヒト男性の血漿を用い *in vitro* で検討した。検討には[^{14}C]-アカラブルチニブを用い、液体シンチレーション計測（LSC）法により測定した。非特異的結合の影響を最小にするため低吸着チューブを用い、血漿中[^{14}C]-アカラブルチニブ（濃度 1、3 及び 10 μM）を超遠心分離した後、蛋白結合率を測定した。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにおける血漿蛋白結合率は濃度非依存的であり、平均値はそれぞれ 75.4%、92.0%、68.4%、94.2%及び 97.5%であった。また、ヒト血清アルブミン及び α1-酸性糖蛋白への結合率はそれぞれ 93.7%及び 41.1%であった。

ヒト血漿中の主代謝物 ACP-5862 はアカラブルチニブ未変化体より脂溶性が高く、ACP-5862 のヒト血漿蛋白結合率は未変化体より高かった（非結合率は未変化体の約 1/2）。ACP-5862 の血漿蛋白結合率は濃度非依存的であり、マウス、ラット、イヌ及びヒトにおける平均値はそれぞれ 98.6%、99.8%、94.3%及び 98.6%であった。

血球移行性は、絶食下の雄マウス、雄ラット、雄イヌ、雄サル及びヒト男性の血液を用い、アカラブルチニブ濃度 1、3 及び 10 μM における移行性を *in vitro* で検討した。液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析（HPLC-MS/MS）法により測定した。アカラブルチニブの血液／血漿中濃度比は濃度非依存的であり、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにおける平均値はそれぞれ 1.37、0.87、1.06、0.83 及び 0.79 であった。血漿蛋白における非結合率が最も高かった動物種（マウス及びイヌ）で血漿よりも血液中濃度の方が高かった。ACP-5862 の血液／血漿中濃度比も濃度非依存的であり、マウス、ラット、イヌ及びヒトにおける平均値はそれぞれ 0.87、2.54、1.40 及び 0.66 であった。

組織分布は白色ラット（Sprague-Dawley）及び有色ラット（Long-Evans）に[^{14}C]-アカラブルチニブを単回経口投与し、QWBA で評価した。白色ラットにおいて放射能は組織に広範に分布し、投与後 24 時間までの組織中濃度の低下は速やかであった。最高放射能濃度は投与 0.25 又は 1 時間後に認められ、高い放射能濃度を示した組織は、小腸、肝臓、腎臓、血液、副腎、胃、脾臓及び膵臓であった。脳、脊髄及び眼水晶体における放射能濃度は非常に低く、多くの時点で検出限界未満であった。白色ラットにおける QWBA の結果、[^{14}C]-アカラブルチニブの排泄は速やかであり、投与 7 日後に組織中の放射能残留は認められなかった。有色ラットにおける[^{14}C]-アカラブルチニブの組織分布は白色ラットと同様であったが、ブドウ膜及び有色皮膚ではメラニン結合により比較的高い放射能濃度が持続した。アカラブルチニブの分布容積は、絶食下のマウス、ラット、イヌ及びサルでそれぞれ 1.83～1.99、3.35、1.90 及び 1.32 L/kg であった。

2.6.4.1.4　代謝

アカラブルチニブの代謝物は、[^{14}C]-アカラブルチニブを用い、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト肝細胞における *in vitro* 代謝試験、並びにラット（100 mg/kg）、イヌ（30 mg/kg）及びヒト（100 mg）に単回経口投与した *in vivo* 代謝試験より検討した。血漿、尿及び糞中の代謝物は、高速液体クロマトグラフィー／質量分析（HPLC-MS）法と放射能検出器を組み合わせて同定及び定量した。HPLC-MS 法により 30 種類以上の代謝物が特定された。3 つの主代謝経路が特定され、これらの経路による逐次的代謝又は組み合わせにより、二次代謝物及び三次代謝物が生成すると考えられた。3 つの主代謝経路は、2-アミノピリジン基の消失を伴うアミド加水分解、ヒト GSTM1 及び GSTM2 によるブチンアミド基のグルタチオン（GSH）抱合、及び主にピロリジン環の CYP3A4 による水酸化であった。その他にアルキン基の水和により β-ケトアミドが生成する非酵素的な代謝経路があり、この代謝物は主に糞中の二次代謝物として認められた。

[^{14}C]-アカラブルチニブ投与後の放射能に対する未変化体の $AUC_{(0\text{-}t)}$比はラット、イヌ及びヒトでそれぞれ 11.3%、44%及び 8.6%であった。

ヒト肝細胞で生成した全ての代謝物は、他の 1 動物種以上の肝細胞で生成が認められた。

ヒト血漿中の主代謝物は ACP-5862 であり、ACP-5862 は CYP3A を介するピロリジン環のキラルメチン炭素の酸化及び開環により直鎖ケトアミドを有する代謝物である。尿糞中代謝物組成の検討から、ACP-5862 は全ての動物種で広範に代謝されることが示された。

ACP-5862 はヒト血漿中でアカラブルチニブ由来物質総量の 10%を超えた唯一の代謝物であり、未変化体のブルトン型チロシンキナーゼ（BTK）阻害活性の約半分の阻害活性を有する。[^{14}C]-アカラブルチニブをラット（100 mg/kg）及びイヌ（30 mg/kg）に投与後の ACP-5862 の曝露

量は、ヒトにおける ACP-5862 の曝露量よりも高かった。他の代謝物はいずれもヒト血漿中でわずかであった。

2.6.4.1.5 排泄

[^{14}C]-アカラブルチニブをラット及びイヌに経口投与後の平均放射能回収率はそれぞれ 94%超及び 87%超であり、放射能の排泄は共に投与後 48 時間以内にほぼ完了した。ラット及びイヌにおける投与後 96 時間の放射能の糞中排泄率はそれぞれ 88%超及び 69%超、尿中排泄率はそれぞれ約 3%及び 15%であった。主排泄経路及び排泄率はヒトにおいても同様であり、ヒトにおける放射能の総回収率は 95.7%、糞中排泄率は 83.5%、尿中排泄率は 12.0%であり、放射能の排泄は投与後 96 時間以内にほぼ完了した（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。

2.6.4.1.6 薬物相互作用

アカラブルチニブ及び ACP-5862 の代謝に関与する主な CYP 分子種は CYP3A4 であった。臨床試験において、強い CYP3A 阻害剤（イトラコナゾール）及び強い CYP3A 誘導剤（リファンピシン）をアカラブルチニブと併用投与した場合、アカラブルチニブの曝露量はそれぞれ増加及び低下した。また Simcyp®を用い、*in vitro* 試験及び臨床試験の結果から生理学的薬物速度論（PBPK）モデルを構築し、CYP3A 阻害剤（弱い、中程度及び強い阻害剤）並びに CYP3A 誘導剤（中程度及び強い誘導剤）併用時のアカラブルチニブ及び ACP-5862 の曝露量変化の予測に用いた（Zhou et al 2019）。

アカラブルチニブによる CYP 可逆的阻害作用の検討では、強く阻害される CYP 分子種はなかった。アカラブルチニブは CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5 を阻害したが、50%阻害濃度（IC_{50}）はそれぞれ 37 μM、28 μM 及び 69 μM/57 μM（ミダゾラム 1'-水酸化／テストステロン 6β-水酸化）であった。CYP1A2、CYP2B6、2C19 及び CYP2D6 に対する阻害作用は認められなかった（IC_{50} 値はいずれも 100 μM 超）。

アカラブルチニブは *in vitro* 試験で CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4 に対して弱い代謝依存的阻害作用を示した。CYP3A4 に対する代謝依存的阻害作用が最も大きかったため、アカラブルチニブと CYP3A の典型基質ミダゾラムを併用経口投与時のミダゾラム曝露量への影響について検討した。CYP3A4 における速度定数（最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度[K_I]及び不活性化速度定数[k_{inact}]）を用いた PBPK モデル解析の結果から、アカラブルチニブはミダゾラムの曝露量に影響しないと予測された。この解析結果に基づき、アカラブルチニブは CYP2C8 及び CYP2C9 の基質の曝露量にも影響しないと考えられた。

ACP-5862 も *in vitro* 試験で CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4 に対して弱い代謝依存的阻害作用を示した。代謝依存的阻害作用が最も大きかった分子種（CYP2C8）における K_I 及び k_{inact} を用いた PBPK モデル解析より、ACP-5862 は CYP2C8 基質の曝露量に影響しないと予測された。これより、ACP-5862 は CYP2C9 及び CYP3A4 の基質の曝露量にも影響しないと考えられた。

ヒト肝細胞を用い、アカラブルチニブ及び ACP-5862 の CYP 誘導を検討した。アカラブルチニブ及び ACP-5862 による CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の誘導作用はないと考えられた。

In vitro 試験の結果、アカラブルチニブ及び ACP-5862 は臨床における濃度範囲でウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 1A1（UGT1A1）及び UGT2B7 を阻害しないと考えられた。

アカラブルチニブは臨床用量（100 mg 1 日 2 回）において、P-gp（MDR1）、organic anion transporting polypeptide 1B1（OATP1B1）、OATP1B3、organic anion transporter 1（OAT1）、OAT3、multidrug and toxin extrusion protein 2-K（MATE2-K）及び organic cation transporter 2（OCT2）の基質となる他の薬物の薬物動態に影響を及ぼさないと考えられた。アカラブルチニブは breast cancer resistance protein（BCRP）の基質かつ阻害剤であり、BCRP 基質と併用経口投与

した場合、BCRP 基質の薬物動態に影響する可能性がある。ACP-5862 は *in vitro* で BCRP、OATP1B1 及び OAT1 を弱く阻害したが、P-gp、OATP1B3、OAT3、OCT2 及び MATE2-K を阻害しなかった。ACP-5862 は MATE1 を阻害した。

2.6.4.1.7 非臨床薬物動態試験一覧

非臨床薬物動態試験の一覧を表 1 に示す。

表 1 非臨床薬物動態試験の一覧

	試験番号	表題	GLP 適否
吸収	2219-002	Collection of Samples for Determination of the Pharmacokinetics of ACP-196 Following Intravenous or Oral Administration to CD-1 Mice	非適用
	0112-0001	Absolute Oral Bioavailability of ACP-196-0-D in Female BALB/c Mice	非適用
	2219-053	28-Day Oral Dose Range-Finding Toxicity Study with ACP-196 in Mice	非適用
	2219-003	Collection of Samples for Determination of the Pharmacokinetics of ACP-196 Following Intravenous or Oral Administration to Sprague-Dawley Rats	非適用
	2219-084	ACP-196: A 26-Week Oral Toxicity Study in Rats with a 4-Week Recovery Period	適用
	2219-001	Collection of Samples for Determination of the Pharmacokinetics of ACP-196 Following Intravenous or Oral Administration to Beagle Dogs	非適用
	2219-098	ACP-196: A 39-Week Oral Capsule Toxicity Study in Dogs with a 28-Day Recovery Period	適用
	2219-004	Collection of Samples for Determination of the Pharmacokinetics of ACP-196 Following Intravenous or Oral Administration to Cynomolgus Monkeys	非適用
分布	XS-0478	*In Vitro* Assessment of ACP-196 Protein Binding in Mouse, Rat, Dog, Monkey, and Human Plasma	非適用
	XS-0850	*In Vitro* Assessment Of ACP-196 Protein Binding in Mouse, Rat, Dog, Monkey, Human Plasma, Human Serum Albumin, and α-1 Acid Glycoprotein; and Blood Cell Partitioning of ACP‑196 in Mouse, Rat, Dog, Monkey and Human Blood	非適用
	XS-0912	*In Vitro* Assessment of ACP-5862 Protein Binding in Mouse, Rat, Dog, and Human Plasma	非適用
	XS-0947	*In Vitro* Assessment of ACP-5862 Blood Cell Partitioning in Mouse, Rat, Dog, and Human Blood	非適用
	8320560	*In Vitro* Stability and Protein Binding of ACP 196 (Acalabrutinib) in Human Plasma	非適用
	ESN0329	[^{14}C]Org 300196: Quantitative Whole-Body Autoradiography Distribution Study in the Rat after Single Oral Dosing	非適用
	R2017011	Pharmacokinetic Analysis of Acalabrutinib and Metabolite ACP-5862 in Pilot Pre- and Postnatal Developmental Toxicity Study 2219-109	非適用
代謝	ESN0330	[^{14}C]Org 300196 *In Vitro* and *Ex Vivo* Metabolite Profiling and Characterization Investigations	非適用
	8335668	*In Vitro* Metabolite Biosynthesis, Isolation, and Identification by NMR	非適用
	XT134082	*In Vitro* Cytochrome P450 Reaction Phenotyping of ACP-196 in Human Liver Microsomes and Recombinant Human CYP Enzymes	非適用

	試験番号	表題	GLP 適否
	XT164038	CYP Reaction Phenotyping of the Metabolism of ACP-196 to ACP-5862	非適用
	XT164096	*In Vitro* Cytochrome P450 Reaction Phenotyping of ACP-5862 in Human Liver Microsomes and Recombinant Human CYP Enzymes	非適用
	XT154040	*In Vitro* Glutathione Transferase (GST) Reaction Phenotyping of ACP-196 in Human Liver Cytosol and Recombinant GST Enzymes	非適用
	8320562	ACP-196 (acalabrutinib) Metabolite Profiling and Identification in Rat, Dog, and Human Plasma	非適用
	8340639	Metabolite Profiling and Identification in Rats and Dogs in Support of Covance Study Nos. 8338525 and 8338526	非適用
	8341070	Identification of Metabolites of [^{14}C]ACP-196 (Acalabrutinib) in Selected Human Plasma, Urine, and Feces Samples	非適用
排泄	8338525	Pharmacokinetics, Distribution, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]ACP-196 Following Oral Administration to Rats	非適用
	8338526	Absorption, Metabolism, and Excretion of [^{14}C]ACP-196 Following Oral Administration to Dogs	非適用
薬物相互作用	XT145007	*In Vitro* Evaluation of ACP-196 as an Inhibitor of Aldehyde Oxidase (AO) in Human Liver Cytosol or S9	非適用
	XT138100	*In Vitro* Evaluation of ACP-196 as an Inhibitor of Human P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2 and a Substrate of P-gp Transporters	非適用
	XT135097	*In Vitro* Evaluation of ACP-196 as an Inhibitor of Cytochrome P450 (CYP) Enzymes in Human Liver Microsomes	非適用
	XT133111	*In Vitro* Evaluation of ACP-196 as an Inducer of Cytochrome P450 Expression in Cultured Human Hepatocytes	非適用
	XT148083	*In Vitro* Evaluation of ACP-196 as a Substrate of Human BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, and OCT2 Transporters	非適用
	XT165071	*In Vitro* Evaluation of ACP-5862 as an Inhibitor of Cytochrome P450 (CYP) Enzymes in Human Liver Microsomes	非適用
	XT163068	*In Vitro* Evaluation of ACP-5862 as an Inducer of Cytochrome P450 Expression in Cultured Human Hepatocytes	非適用
	BS001953-23	Assessment of UGTlAl and UGT2B7 inhibition potential of ACP-196 and metabolite ACP-5862 in human liver microsomes	非適用
	XS-1144	*In vitro* evaluation of ACP-196 and ACP-5862 as inhibitors of MATE1 and MATE2-K transporters	非適用
	XT168092	*In vitro* evaluation of ACP-5862 as an inhibitor and a substrate of human ABC and SLC transporters	非適用
ﾊﾞﾘﾃﾞｰｼｮﾝ	502782	Validation of a LC-MS/MS Procedure for the Quantification of ACP-196 in Supernatant of Heparin Rat Blood	適用
	502793	Validation of a LC-MS/MS Procedure for the Quantification of ACP-196 in Supernatant of Heparin Dog Blood	適用
	2219-051	Full Validation of an LC-MS/MS Assay for ACP-196 in Mouse Plasma with Sodium Fluoride/Potassium Oxalate	非適用
	2219-012	Full Validation of an LC-MS/MS Assay for ACP-196 in Rat Plasma with Sodium Fluoride/Potassium Oxalate	適用
	2219-033	Full Validation of an LC-MS/MS Assay for ACP-196 in Rabbit Plasma with K2EDTA	適用
	2219-017	Full Validation of an LC-MS/MS Assay for ACP-196 in Dog Plasma with K2EDTA	適用

	試験番号	表題	GLP 適否
その他	594019	ACP-196: Cardiovascular Assessment following Oral Gavage Administration to Conscious, Radiotelemetry-Instrumented Male Beagle Dogs	適用

GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 標識化合物

[^{14}C]-アカラブルチニブを用いた非臨床薬物動態試験では、代謝的に安定なアカラブルチニブの 2-アミノピリジン基のカルボニル炭素に[^{14}C]標識した[^{14}C]-アカラブルチニブを合成し、試験に用いた。[^{14}C]-アカラブルチニブの合成時化学的純度は 98%超であり、放射化学的純度は[^{14}C]-アカラブルチニブを静脈内及び経口投与した全試験において HPLC による評価で 95%超であった（試験 8338525、8338526 及び ACE-HV-009）。

また薬物濃度分析の内標準物質として、アカラブルチニブの 2-アミノピリジン基に[$^{2}H_4$]を標識した[$^{2}H_4$]-アカラブルチニブを合成した（試験 2219-012）。

2.6.4.2.2 血漿中アカラブルチニブ濃度分析法（非 GLP 試験）

ラット 14 日間及び 1 カ月間経口投与毒性試験（試験 2219-005 及び 2219-040）における血漿中アカラブルチニブ濃度は徐蛋白後に HPLC-MS/MS 法により定量した。ラットにおける胎盤通過性及び乳汁移行を評価した試験（試験 R2017011）の血漿中及び乳汁中のアカラブルチニブ並びに代謝物 ACP-5862 濃度も同様の HPLC-MS/MS 法で定量した。上記 3 試験における定量下限（LLOQ）は 1.0 ng/mL、定量範囲は 1.0～1000 ng/mL であった。定量範囲を超える濃度の試料については希釈後に定量した。上記試験で試料中の安定性は評価しなかった。

2.6.4.2.3 血漿中アカラブルチニブ濃度分析法（バリデーション）

WIL Research 社でバリデーションを実施したラット及びイヌにおける血漿中アカラブルチニブ濃度分析法（試験 502782 及び 502793）は、徐蛋白後に HPLC-MS/MS 法により分析した。表 2 に概要を示す。定量範囲を超える濃度の試料については最大 10 倍希釈して分析した。

MPI Research 社でバリデーションを実施したマウス、ラット、ウサギ及びイヌにおける血漿中アカラブルチニブ濃度分析（試験 2219-051、2219-012、2219-033 及び 2219-017）では、徐蛋白後に HPLC-MS/MS 法により分析した。表 2 に概要を示す。定量範囲を超える濃度の試料については最大 20 倍希釈して分析した。

ラット 1 カ月間経口投与毒性試験（Sprague-Dawley：試験 502513）、イヌ 1 カ月間経口投与毒性試験（試験 502515）及びイヌ心血管系安全性薬理試験（試験 594019）で血漿中アカラブルチニブ濃度を定量した。LLOQ 10 ng/mL、定量範囲 10～10000 ng/mL で、incurred sample により定量値を再確認した。

マウス 1 カ月間経口投与毒性試験（試験 2219-044）で血漿中アカラブルチニブ濃度を定量した。LLOQ 1 ng/mL、定量範囲 1～1000 ng/mL で、incurred sample により定量値を再確認した。

ラット単回静脈内、1 カ月間及び 3 カ月間経口投与毒性試験（Sprague-Dawley：試験 2219-027、2219-010、2219-041 及び 2219-029）、並びに 14 日間、1 カ月間、3 カ月間及び 6 カ月間経口投与毒性試験（Wistar Han：試験 2219-063、2219-049、2219-050 及び 2219-084）で血漿中アカ

ラブルチニブ濃度を定量した。LLOQ 1 ng/mL、定量範囲 1～1000 ng/mL で、incurred sample により定量値を再確認した。

ウサギ胚・胎児発生に関する試験（試験 2219-032 及び 2219-075）で血漿中アカラブルチニブ濃度を定量した。LLOQ 5 ng/mL、定量範囲 5～5000 ng/mL で、incurred sample により定量値を再確認した。

イヌ単回及び 7 日間静脈内、並びに 1 カ月間、3 カ月間及び 9 カ月間経口投与毒性試験（試験 2219-026、2219-020、2219-030 及び 2219-098）で血漿中アカラブルチニブ濃度を定量した。LLOQ 5 ng/mL、定量範囲 5～5000 ng/mL で、incurred sample により定量値を再確認した。

2.6.4.2.4 血漿試料中アカラブルチニブの保存安定性

マウス、ラット、ウサギ及びイヌ血漿中のアカラブルチニブの保存安定性について検討した結果を表 2 に示す。GLP 適用の毒性試験及び胚胎児発生試験で得られた試料はいずれも安定性が確認されている保存期間内に分析した。

表 2　　血漿中濃度分析法の概要

報告書番号	動物種	抗凝固剤	分析対象	定量範囲 [a] (ng/mL)	% CV [b]	保存安定性
502782 [d]	ラット	ヘパリン [c]	アカラブルチニブ	10～10000	<15	177 日(-75°C)
502793 [d]	イヌ	ヘパリン [c]	アカラブルチニブ	10～10000	<15	163 日(-75°C)
2219-051 [d]	マウス	NaF/KOx	アカラブルチニブ	1～1000	3.1～8.6	273 日(-70°C)
2219-012 [d]	ラット	NaF/KOx	アカラブルチニブ	1～1000	3.6～8.5	317 日(-70°C)
2219-033 [d]	ウサギ	K_2EDTA	アカラブルチニブ	1～1000	2.4～8.8	124 日(-70°C)
2219-017 [d]	イヌ	K_2EDTA	アカラブルチニブ	5～5000	1.6～3.6	262 日(-70°C)

K_2EDTA=potassium salt of ethylenediaminetetraacetic acid; NaF/KOx=sodium fluoride or potassium oxalate

a　最大 20 倍希釈（試験 502782 及び 502793 では 10 倍希釈）

b　変動係数：精度の測定間変動

c　抗凝固剤にヘパリンを用いた血液ではアセトニトリル添加後の上清を分析

d　概要表 2.6.5.2 項に分析方法及びバリデーション報告書の一覧を記載

2.6.4.2.5 QWBA 放射能濃度測定

各ラットは麻酔で安楽死させ、血液採取後、ドライアイス・ヘキサンで凍結して、全身切片を作成し、オートラジオグラフィーに供した。組織中放射能濃度は標準作業手順書に従い測定した。定量下限は 1950 ng eq./g であった（試験 8338525）。

2.6.4.2.6 放射能測定法

血漿、ケージ洗浄液、尿及び胆汁は撹拌混合後に LSC 法で放射能を測定した。糞は溶媒（エタノール：水＝1：1）を加えて均質化後、燃焼法にて LSC 法で放射能を測定した。ラット屍体は 1 N 水酸化ナトリウムで溶解し、エタノールを加えて均質化後、LSC 法で放射能を測定した（試験 8338525）。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 マウスにおける薬物動態

2.6.4.3.1.1 マウス単回投与

試験 2219-002：CD-1 マウスに静脈内及び経口投与後の薬物動態

概要表は 2.6.5.3.1.1 項参照。表 3 に単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータを要約。

雄 CD-1 マウスにアカラブルチニブを単回静脈内（2 mg/kg、n=30）及び経口投与（5 mg/kg、n=27）した。静脈内投与では、5%ジメチルスルホキシド（DMSO）、15%ポリエチレングリコール 400（PEG400）及び 5%マンニトール（いずれも v/v）の水溶液で調製したアカラブルチニブ溶液を投与した。経口投与では、脱イオン水（pH 6.3）に 0.2% Tween 80（v/v）及び 0.4%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（w/v）を加えて調製したアカラブルチニブ懸濁液を投与した。フッ化ナトリウム／シュウ酸カリウムを含む試験管に血液を採取し、遠心分離まで氷上に静置した。血漿中アカラブルチニブ濃度は HPLC-MS/MS 法で測定した。

結果：

静脈内投与

静脈内投与後のアカラブルチニブの血漿からの消失は速やかかつ多相性であった。$t_{½}$、全身クリアランス（CL）及び定常状態における分布容積（V_{ss}）の平均値は、それぞれ 0.299 時間、8.76 L/h/kg（肝血流量の 150%）及び 1.83 L/kg であった。血漿中アカラブルチニブ濃度は投与 2 時間後まで定量可能であり、時間 0 に補外した血漿中濃度（C_0）は 1400 ng/mL と推定された。

経口投与

経口投与後の C_{max}、$AUC_{(0-24)}$及び $t_{½}$の平均値は、それぞれ 81.2 ng/mL、71.9 ng·h/mL 及び 1.4 時間であった。経口投与後の F の平均値は 13%であった。

表 3　雄 CD-1 マウスにアカラブルチニブを単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ

パラメータ	静脈内投与（2 mg/kg）	経口投与（5 mg/kg）
C_0 (ng/mL)	1400	NA
C_{max} (ng/mL)	NA	81.2
$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	229	71.9
t_{max} (h)	NA	0.25
$t_{½}$ (h)	0.299	1.4
λ_z (L/h)	2.32	0.494
CL (L/h/kg)	8.76	NA
V_{ss} (L/kg)	1.83	NA
F (%)	NA	13

$AUC_{(0-24)}$：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、λ_z：消失速度定数、NA：該当せず

Source: 2219-002

試験 0112-0001：BALB/c マウスに静脈内及び経口投与後の薬物動態

概要表は 2.6.5.3.1.2 項参照。表 4 に単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータを要約。

雌 BALB/c マウスにアカラブルチニブを単回静脈内（2 mg/kg、n=12）及び経口投与（5 mg/kg、n=12）した。静脈内投与ではアカラブルチニブを水溶液（5% DMSO、15% PEG400 及び 5%マンニトール[いずれも v/v]）で投与した。経口投与ではアカラブルチニブを懸濁液（0.4%ヒドロキシプロピルメチルセルロース[w/v]及び 0.2% Tween 80[v/v]）で投与した。

結果：

静脈内投与

静脈内投与後のアカラブルチニブの血漿からの消失は速やかであり、多相性であった。$t_{½}$、CL 及び V_{ss} の平均値は、それぞれ 0.16 時間、14.5 L/h/kg 及び 1.99 L/kg であった。

経口投与

経口投与後の C_{max}、AUC 及び $t_{½}$ の平均値は、それぞれ 220 ng/mL、213 ng·h/mL 及び 0.93 時間であった。経口投与後の F の平均値は 62%であった。本試験の F 値は試験 2219-002 で得られた値に比べて高い値を示したが、マウスにおけるアカラブルチニブの吸収及び消失は速やかで、本試験では採血時点が投与後の早い時点に設定されたことから、吸収相及び C_{max} がより正確に反映されたためと考えられる。

表 4 雌 BALB/c マウスにアカラブルチニブを単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ

パラメータ	静脈内投与（2 mg/kg）	経口投与（5 mg/kg）
C_0 (ng/mL)	894	NA
C_{max} (ng/mL)	488	220
AUC (ng·h/mL)	138	213
t_{max} (h)	NA	0.08
$t_{½}$ (h)	0.16	0.93
CL (L/h/kg)	14.5	NA
V_{ss} (L/kg)	1.99	NA
F (%)	NA	61.8

Source: 0112-001

2.6.4.3.1.2 マウス反復投与

試験 2219-053：マウス 28 日間経口投与用量設定毒性試験

概要表は 2.6.5.4.1 項参照。表 5 に反復経口投与後のトキシコキネティクス（TK）パラメータを要約。

CD-1 マウスにアカラブルチニブを 28 日間反復経口投与した用量設定毒性試験で TK を評価した。10、30 及び 100 mg/kg/day の各用量で雄雌それぞれ 27 例を TK の評価に供した。アカラブルチニブは懸濁液（0.4%ヒドロキシプロピルメチルセルロース[w/v]及び 0.2% Tween 80[v/v]）で投与した。血漿中濃度は HPLC-MS/MS 法で測定し、投与 1 日目及び 28 日目の TK パラメータを評価した。

結果：

いずれの投与量でもアカラブルチニブの曝露量（$AUC_{(0-6)}$）に性差は認められなかった。反復投与による明らかな $AUC_{(0-6)}$の変化は認められず、累積係数は 2 未満であった。$AUC_{(0-6)}$及び C_{max} は概ね用量比例的に増加した。

表 5 CD-1 マウスにアカラブルチニブを 10、30 及び 100 mg/kg/day 経口投与時の投与 1 日目及び 28 日目の TK パラメータ（雄雌平均）

測定日	投与量（mg/kg/day）	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$AUC_{(0-6)}$ (ng·h/mL)	R [a]
1	10	499	0.25	444	NA
	30	1490	0.25	930	NA
	100	6320	0.25	5470	NA
28	10	678	0.25	435	0.98
	30	2100	0.25	1590	1.71
	100	8580	0.25	7280	1.33

$AUC_{(0-6)}$：投与後 0 時間から 6 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積

a 累積係数 $R = AUC_{(0-6)\ Day\ 28}/AUC_{(0-6)\ Day\ 1}$

Source: 2219-053

2.6.4.3.2 ラットにおける薬物動態

2.6.4.3.2.1 ラット単回投与

試験 2219-003：Sprague-Dawley ラットに静脈内及び経口投与後の薬物動態

概要表は 2.6.5.3.2 項参照。表 6 に単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータを要約。

雄 Sprague-Dawley ラットにアカラブルチニブを単回静脈内（2 mg/kg、n=3）及び経口投与（5 mg/kg、フリー体及びマレイン酸塩投与でそれぞれ n=3）した。

結果：

静脈内投与後の血漿中アカラブルチニブ濃度は二相性の消失を示した。$t_{½}$、CL 及び V_{ss} の平均値は、それぞれ 2.74 時間、6.78 L/h/kg（肝血流量の 205%）及び 3.35 L/kg であった。

経口投与後のアカラブルチニブの吸収は速やかで、投与 0.25 時間後に C_{max} に達し、その後は多相性の消失を示した。フリー体及びマレイン酸塩投与間で C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は同程度の値を示した。フリー体及びマレイン酸塩投与時の C_{max} はそれぞれ 103±22.3 ng/mL 及び 125±31.4 ng/mL であり、$AUC_{(0-24)}$はそれぞれ 155±23.9 ng·h/mL 及び 172±10.6 ng·h/mL であった。同じく $t_{½}$はそれぞれ 1.76 時間及び 2.03 時間であり、F はそれぞれ 21%及び 23%であった。

表 6　　ラットにアカラブルチニブを単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ

投与条件	t_{max} (h)	C_0/C_{max} (ng/mL)	$t_{½}$ (h)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	AUC (ng·h/mL)	V_{ss} (L/kg)	CL (L/h/kg)	F (%)
2 mg/kg IV フリー体	NA	1550 (518)	2.74 (1.9)	298 (50.1)	300 (48.8)	3.35 (2.05)	6.78 (1.08)	NA
5 mg/kg PO フリー体	0.25 (NA)	103 (22.3)	1.76 (0.34)	155 (23.9)	154 (20.9)	NA	NA	21
5 mg/kg PO マレイン酸塩	0.25 (NA)	125 (31.4)	2.03 (0.56)	172 (10.6)	170 (8.86)	NA	NA	23

IV：静脈内、PO：経口
平均値（標準偏差 [SD]）、但し t_{max} は中央値
Source: 2219-003

2.6.4.3.2.2 ラット反復投与

Sprague-Dawley 又は Wistar Han ラットを用いた 14 日間～6 カ月間の毒性試験において、アカラブルチニブ反復投与時の薬物動態を評価した。Sprague-Dawley ラットに比べ Wistar Han ラットの方が概して高い曝露量を示した。各毒性試験で得られた TK パラメータは毒性試験の概要文 2.6.6 項を参照。本項では Wistar Han ラットを用いた 6 カ月間毒性試験の TK パラメータを記載する。

試験 2219-084：ラット 26 週間経口投与毒性試験

概要表は 2.6.5.4.2 項参照。表 7 に反復経口投与後の TK パラメータを要約。

Wistar Han ラットにアカラブルチニブ 30、100 及び 200/300 mg/kg/day を 6 カ月間経口投与した毒性試験において TK パラメータを評価した。各投与量で雄雌それぞれ 14 例を TK の評価に供した。血漿中濃度は HPLC-MS/MS 法で測定し、投与 1、28、91 及び 182 日目の TK パラメータを評価した。

結果：

雄ラットでは、投与 1 日の $AUC_{(0-24)}$は 30～100 mg/kg/day で概ね用量比例的で、30～300 mg/kg/day で用量比を上回る増加を示した。投与 28 日の $AUC_{(0-24)}$は 30～100 mg/kg/day で概ね用量比例的で、30～200 mg/kg/day で用量比を上回る増加を示した。投与 91 日の $AUC_{(0-24)}$は検討用量範囲を通して用量比を上回る増加を示した。投与 182 日の $AUC_{(0-24)}$は検討用量範囲を通して概ね用量比例的に増加した。C_{max} は投与 1 日及び 182 日で用量比を下回る増加を示した。投与 28 日の C_{max} は、30～100 mg/kg/day で概ね用量比例的で、100～200 mg/kg/day で用量比を下回る増加であった。

雌ラットでは、$AUC_{(0-24)}$は投与 1、28 及び 182 日で概ね用量比例的に増加し、投与 91 日で用量比を上回る増加を示した。C_{max} は投与 1、91 及び 182 日で用量比を下回る増加を示した。投与 28 日の C_{max} は 30～100 mg/kg/day で概ね用量比例的に増加し、100～200 mg/kg/day で用量比を下回る増加を示した。

雄雌ラット共に 30 及び 100 mg/kg/day の反復投与により曝露量は変化しなかった。アカラブルチニブの曝露量は雌ラットの方が雄ラットより高かったが、これは主な消失が CYP 代謝である薬物の一般的な所見である（Yamazoe et al 1988）。

表 7　　雄雌ラットにアカラブルチニブを反復経口投与後の TK パラメータ

		雄				雌			
測定日	投与量 (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	R [b]	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	R [b]
1	30	948	0.25	1250	NA	1190	0.25	2320	NA
	100	1470	0.25	4280	NA	2590	0.25	9890	NA
	300/200 [a]	3070	0.50	16200	NA	6050	0.50	26000	NA
28	30	841	0.25	1300	1.05	1330	0.25	2260	0.974
	100	2900	0.25	5160	1.21	4000	0.25	8520	0.862
	300/200 [a]	4180	0.25	11600	NA	6370	0.50	17000	NA
91	30	1120	0.25	1200	0.964	1370	0.25	1720	0.741
	100	4160	0.25	8130	1.90	6740	0.30	10400	1.05
	300/200 [a]	5690	0.25	13300	NA	7380	0.25	15700	NA
182	30	763	0.32	1150	0.926	1640	0.32	2010	0.870
	100	2510	0.25	4760	1.11	3820	0.31	8130	0.823
	300/200 [a]	3110	0.50	7930	NA	6920	0.57	13100	NA

a　Day 14 から 200 mg/kg/day に減量

b　累積係数：$R = AUC_{(0-24)\ Day\ 28,\ 91,\ or\ 182} / AUC_{(0-24)\ Day\ 1}$

Source: 2219-084

2.6.4.3.3　イヌにおける薬物動態

2.6.4.3.3.1　イヌ単回投与

試験 2219-001：イヌに静脈内及び経口投与後の薬物動態

概要表は 2.6.5.3.3 項参照。表 8 に単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータを要約。

雄ビーグル犬にアカラブルチニブを単回静脈内（1 mg/kg、絶食、n=3）及び経口投与（2.5 mg/kg、絶食及び非絶食でそれぞれ n=3）した。静脈内投与ではアカラブルチニブを水溶液（5% DMSO [v/v]、15% PEG400 [v/v]及び 5%マンニトール[v/v]）で投与した。経口投与ではアカラブルチニブを懸濁液（0.4%ヒドロキシプロピルメチルセルロース[w/v]及び 0.2% Tween 80[v/v]）で投与した。

結果：

静脈内投与後の血漿中アカラブルチニブ濃度は一相性の消失を示した。$t_{½}$、CL 及び V_{ss} は、それぞれ 0.941 時間、1.77 L/h/kg（肝血流量の 95%）及び 1.90 L/kg であった。経口投与後の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は、絶食時及び非絶食時投与に関わらず同程度の値であり、絶食時及び非絶食時投与の C_{max} はそれぞれ 388±45.4 ng/mL 及び 377±251 ng/mL、$AUC_{(0-24)}$はそれぞれ 753±57.2 ng·h/mL 及び 744±243 ng·h/mL であった。絶食時及び非絶食時投与の $t_{½}$はそれぞれ 1.76 時間及び 2.59 時間であり、F はそれぞれ 53%及び 58%であった。したがって、アカラブルチニブ経口投与後の薬物動態に及ぼす食事の影響は軽微と考えられた。

表 8　　雄イヌにアカラブルチニブを単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ

投与条件	t_{max} (h)	C_0/C_{max} (ng/mL)	$t_{½}$ (h)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	AUC (ng·h/mL)	V_{ss} (L/kg)	CL (L/h/kg)	F (%)
1 mg/kg IV フリー体 絶食	NA	613 (17.7)	0.941 (0.10)	565 (26)	566 (25.3)	1.90 (0.16)	1.77 (0.08)	NA
2.5 mg/kg PO フリー体 絶食	0.5 (0.25-1)	388 (45.4)	1.76 (0.64)	753 (57.2)	751 (55.7)	NA	NA	53
2.5 mg/kg PO フリー体 非絶食	0.5 (0.25-1)	377 (251)	2.59 (NA) [a]	744 (243)	823 (NA) [a]	NA	NA	58

平均値（SD）、但し t_{max} は中央値（範囲）
a　算出可能であった個体値が 3 例未満であったため SD 算出せず
Source: 2219-001

2.6.4.3.3.2 イヌ反復投与

試験 2219-098：イヌ 39 週間経口投与毒性試験

概要表は 2.6.5.4.3 項参照。表 9 に反復経口投与後の TK パラメータを要約。

本試験では、ビーグル犬にアカラブルチニブ 10 及び 30 mg/kg/day を 9 カ月間（273 日間）カプセル剤で反復経口投与し、TK を評価した（各用量で雄雌それぞれ n=7）。血漿中濃度は HPLC-MS/MS 法で測定し、投与 1、24、87、178 及び 269 日目の TK パラメータを評価した。

結果：

アカラブルチニブの曝露量（$AUC_{(0-24)}$）に性差は認められなかった。10 及び 30 mg/kg/day の投与 1、24、87、178 及び 269 日における $AUC_{(0-24)}$及び C_{max} は概ね用量に比例して増加した。両用量とも各測定日において一貫した蓄積は認められず（累積係数の範囲 0.907～1.4）、アカラブルチニブの薬物動態は 273 日間の反復投与期間で変化はないことが示唆された。

表 9　　雄雌イヌにアカラブルチニブを反復経口投与後の TK パラメータ（雄雌平均）

測定日	投与量 (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} [a] (h)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	R [b]
1	10	1640	2	4000	NA
	30	6810	2	17500	NA
24	10	1680	NA	4230	1.11
	30	6610	1	15500	0.905
87	10	1780	NA	4170	1.09
	30	6620	2	17600	1.02
178	10	2610	1	5230	1.40
	30	5560	NA	16800	0.996
269	10	1880	1	5050	1.31
	30	4950	2	17400	1.01

a　中央値

b　累積係数：$R = AUC_{(0-24)\ Day\ 24\ or\ 87\ or\ 178\ or\ 269} / AUC_{(0-24)\ Day\ 1}$

Source: 2219-098

2.6.4.3.4　サルにおける薬物動態

2.6.4.3.4.1　サル単回投与

試験 2219-004：サルに静脈内及び経口投与後の薬物動態

概要表は 2.6.5.3.4 項参照。表 10 に単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータを要約。

雄カニクイザルにアカラブルチニブを単回静脈内（1 mg/kg、n=3、絶食）及び経口投与（2.5 mg/kg、絶食及び非絶食で各 n=3）した。静脈内投与ではアカラブルチニブを水溶液（5% DMSO [v/v]、15% PEG400 [v/v]及び 5%マンニトール[v/v]）で投与した。経口投与ではアカラブルチニブを懸濁液（0.4%ヒドロキシプロピルメチルセルロース[w/v]及び 0.2% Tween 80 [v/v]）で投与した。

結果：

静脈内投与後の血漿中のアカラブルチニブは速やかに消失した。$t_{½}$、CL 及び V_{ss} は、それぞれ 0.61 時間、2.97 L/h/kg（肝血流量の 114%）及び 1.32 L/kg であった。経口投与後の曝露量（C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$）に食事の影響が認められた。絶食時及び非絶食時投与の C_{max} は、それぞれ 103±107 ng/mL 及び 11.1±7.8 ng/mL、$AUC_{(0-24)}$はそれぞれ 123 ng·h/mL 及び 68.6±33.4 ng·h/mL であった。絶食時及び非絶食時投与の $t_{½}$はそれぞれ 0.79 時間及び 5.98 時間であり、F はそれぞれ 9.9%及び 6.0%であった。非絶食時投与で C_{max}、AUC 及び F は低下し、t_{max} は遅延した。

表 10　　雄サルにアカラブルチニブを単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ

投与条件	t_{max} (h)	C_0/C_{max} (ng/mL)	$t_{½}$ (h)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	AUC (ng·h/mL)	V_{ss} (L/kg)	CL (L/h/kg)	F (%)
1 mg/kg IV フリー体 絶食	NA	2440 (3110)	0.61 (0.3)	485 (384)	484 (384)	1.32 (1.06)	2.97 (1.77)	NA
2.5 mg/kg PO フリー体 絶食	0.5 (0.25-2)	103 (107)	0.79 (NA) [a]	123 (NA) [a]	119 (NA) [a]	NA	NA	9.9
2.5 mg/kg PO フリー体 非絶食	2 (2-2)	11.1 (7.82)	5.98 (3.76)	68.6 (33.4)	72.4 (28.0)	NA	NA	6.0

平均値（SD）、但し t_{max} は中央値（範囲）

a　算出可能な個体値が 3 例未満であったため SD 算出せず

Source: 2219-004

2.6.4.4　分布

2.6.4.4.1　血漿蛋白結合及び血球移行

概要表は 2.6.5.6.2～2.6.5.6.4 項参照。表 11 にアカラブルチニブ及び ACP-5862 の血漿蛋白結合率、表 12 にアカラブルチニブ及び ACP-5862 の血球移行率及び血液／血漿中濃度比を要約。

アカラブルチニブの血漿蛋白結合及び血球移行については、絶食下の雄マウス、雄ラット、雄イヌ、雄サル及びヒト男性の血漿を用い、*in vitro* で検討した。

アカラブルチニブの血漿蛋白結合は、超遠心法を用いて検討した。最初の検討（試験 XS-0478）では、アカラブルチニブの回収率は低く、変動も大きかった。そこで次の検討では、[^{14}C]-アカラブルチニブ及び薬物吸着性が低いポリカーボネート製試験管を用い、血漿試料（アカラブルチニブ濃度 1、3 及び 10 μM）を超遠心して得られた上清を LSC 法で測定した（試験 XS-0850）。ヒト血清アルブミン（HSA）及び α1-酸性糖蛋白（α1-AGP）への結合率も同様に検討した。回収率の向上、変動縮小及び陽性対照ワルファリンで信頼性の高い結果が得られた。試験 XS-0850 はいずれの動物種も最も一貫性の高い血漿蛋白結合率を示した。ACP-5862 の血漿蛋白結合率もポリカーボネート製試験管を用いて超遠心法で評価し、HPLC-MS 法で ACP-5862 を定量した（試験 XS-0912）。

血漿蛋白結合率及び血球移行率の測定条件におけるアカラブルチニブ及び ACP-5862 の安定性及び非特異的結合について評価した。非特異的結合率はアカラブルチニブ及び ACP-5862 共に 3%と低かった。血漿上清中の[^{14}C]-アカラブルチニブは LSC 法で定量し、安定性、非特異的結合及び血球移行の検討では HPLC-MS/MS 法でアカラブルチニブ及び ACP-5862 を定量した（試験 XS-0850 及び XS-0947）。

結果：

アカラブルチニブ（検討濃度 1、3 及び 10 μM）及び ACP-5862（検討濃度 1 及び 10 μM）の血漿蛋白結合率はそれぞれ検討濃度範囲で濃度に依存しなかった。アカラブルチニブの結合率は、ラット、サル及びヒトの血漿並びに HSA で高く、マウス及びイヌの血漿並びに α1-AGP で中程度であった。ACP-5862 の血漿蛋白結合率は、検討したマウス、ラット、イヌ及びヒト血漿で一

貫して高く、ラット血漿では他の動物種より高かった。ヒト血漿における ACP-5862 の非結合率はアカラブルチニブの約 1/2 であった。

表 11　　[^{14}C]-アカラブルチニブ及び ACP-5862 の平均血漿蛋白結合率

動物種	アカラブルチニブ		ACP-5862	
	結合率（%）	非結合率（%）	結合率（%）	非結合率（%）
マウス	75.4	24.6	98.6	1.4
ラット	92.0	8.0	99.8	0.2
イヌ	68.4	31.6	94.3	5.7
サル	94.2	5.8	ND	ND
ヒト	97.5	2.5	98.6	1.4
HSA	93.7	6.3	ND	ND
α1-AGP	41.1	58.9	ND	ND

Source: XS-0850、XS-0912

アカラブルチニブ（検討濃度 1、3 及び 10 μM）及び ACP-5862（検討濃度 1 及び 10 μM）の血球移行率及び血液／血漿中濃度比はそれぞれ検討濃度範囲で濃度に依存しなかった。アカラブルチニブ及び ACP-5862 の血球移行率及び血液／血漿中濃度比の平均値を表 12 に示す。動物及びヒトにおけるアカラブルチニブの血球移行は低～中程度であった。

表 12　　アカラブルチニブ及び ACP-5862 の血球移行率及び血液／血漿中濃度比

動物種	アカラブルチニブ		ACP-5862	
	血球移行率（%）	血液／血漿中濃度比	血球移行率（%）	血液／血漿中濃度比
マウス	56.2	1.37	23.3	0.87
ラット	29.6	0.87	73.7	2.54
イヌ	49.6	1.06	67.4	1.40
サル	27.4	0.83	ND	ND
ヒト	26.4	0.79	11.6	0.66

Source: XS-0850、XS-0947

2.6.4.4.2　組織分布

QWBA に関する試験は 2 試験実施した。最初の試験（試験 ESN0329）では白色ラット（Sprague-Dawley）、次の試験（試験 8338525）は有色ラット（Long Evans）を用いて実施した。

試験 ESN0329：白色ラットに単回経口投与後の QWBA

概要表は 2.6.5.5.1 項参照。

本試験では、雄雌白色ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブ 4 mg/kg を単回経口投与し、組織中放射能濃度の時間推移について検討した。

結果：

[^{14}C]-アカラブルチニブを単回経口投与後、放射能は速やかに吸収され、広範な組織に分布した。大部分の組織で最高放射能濃度は投与後 0.25 時間又は 1 時間に認められた。

投与後 0.25～24 時間の各測定時点で放射能の分布パターンは同様であり、大部分の組織の放射能濃度は血液中放射能濃度と同程度かそれ未満であった。高い放射能濃度が認められた組織は、小腸、肝臓、腎臓、副腎、胃壁、脾臓及び膵臓であった。脳、脊髄及び眼水晶体の放射能濃度は非常に低かった。

投与後 168 時間（最終評価時点）では、血液中放射能濃度（雄及び雌でそれぞれ 0.071 及び 0.121 µg eq./g）より低い濃度で測定可能な組織が多かった（動脈、静脈、皮膚、腎臓、肝臓、肺、心臓、脾臓、副腎、鼻粘膜、膵臓及び甲状腺）。投与後 0.25 時間で測定可能であった組織中放射能濃度を集計すると投与放射能量の 5%（雄）及び 10%（雌）であり、投与後 168 時間では雄雌共に投与放射能量の 0.4%と推定された。

雄ラットに比べ雌ラットの方が測定期間を通して多くの組織で高い放射能濃度（約 2 倍）を示したが、放射能の分布パターンに明らかな性差は認められなかった。

放射能濃度の組織／血漿比は、概ね投与後時間の経過に伴って増加した。投与後 24 時間まで算出可能で、多くの組織で投与後 24 時間に最も高い組織／血漿比を示した（雄雌共）。放射能濃度の組織／血液比は、多くの組織で投与後 24 時間まで、一部の組織で投与後 72 時間又は 168 時間まで算出可能であった。多くの組織で概ね投与後 1 時間に最も高い組織／血液比を示した（雄雌共）。投与後 72 時間又は 168 時間までに、腎臓及び肝臓以外の全組織で組織／血液比は 1 未満となり、腎臓及び肝臓の組織／血液比は投与後 72 時間で 1 又は 1 より大きな値であった。

試験 833825：有色ラットに単回経口投与後の QWBA

概要表は 2.6.5.5.2 項参照。表 13 に組織中放射能濃度を要約。

雄有色ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブ 100 mg/kg を単回経口投与し、組織中放射能濃度を測定した。放射能は投与後 0.5 及び 4 時間（最初の 2 測定時点）で広範な組織に分布した。多くの組織は投与後 0.5 及び 4 時間に最高放射能濃度を示し、投与後 24 時間で放射能濃度は定量下限未満に低下した。大腸及び皮膚では投与後 8 時間に最高放射能濃度を示した。多くの組織で放射能濃度は最高濃度を示したのちに速やかに低下し、ブドウ膜以外の全組織で投与後 168 時間までに定量下限未満となった。最も高い放射能濃度を示した組織は大腸及び肝臓であった。他に高い放射能濃度（> 10000 ng eq./g）を示した組織は高い順に、ブドウ膜＞腎臓皮質＞腎臓髄質＞腎臓＞副腎＞盲腸＞小腸、であった。また高い放射能濃度は投与後 0.5 時間及び 4 時間の胆汁にも認められ、放射能は速やかに胆汁を介して糞中排泄されることと一致した。放射能濃度の組織／血漿比はほとんどの組織で 1 より大きく、血漿中放射能濃度の速やかな低下と一致した。有色ラットではブドウ膜に放射能が残存し、投与後 168 時間でも放射能は検出され、放射能のメラニン結合が示唆された。非有色皮膚に比べ有色皮膚の放射能濃度が高いことからもメラニン結合が示唆される。

表 13　　有色ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブを単回経口投与後の組織中放射能濃度(ng eq./g)

組織	投与後時間						
	0.5 時間	4 時間	8 時間	24 時間	48 時間	72 時間	168 時間
副腎	15300	ND[a]	2510	2220[b]	ND	ND	ND
動脈壁	6450	8960	ND	ND	ND	ND	ND
胆汁	299000	139000	ND	ND	ND	ND	ND
血液	3020	6560	3800	2490	3030	2000	BLQ
骨髄	BLQ	2670	BLQ	ND	ND	ND	ND
脳	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
尿道球腺	2800	5410	ND	ND	ND	ND	ND
盲腸	4990	12300	ND[c]	8530	ND	ND	ND
食道	BLQ	4540[b]	BLQ	ND	ND	ND	ND
眼水晶体	ND	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
ブドウ膜	4830	39500	32700	38000	32900	24800	21900
脂肪（腹部）	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
ハーダー腺	1960	4380	BLQ	ND	ND	ND	ND
腎臓皮質	11900	27400	8320	4360	3500	3230	ND
腎臓髄質	8360	16500	11600	4710	3620	2380	ND
大腸	2330	3930	58000	BLQ	ND	ND	ND
肝臓	29800	56900	25100	6930	5910	4290	BLQ
肺	2690	3790	BLQ	ND	ND	ND	ND
心臓	BLQ	2670	BLQ	ND	ND	ND	ND
膵臓	BLQ	3240	BLQ	ND	ND	ND	ND
前立腺	BLQ	3170	ND	ND	ND	ND	ND
精嚢	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
皮膚（非有色）	BLQ	2780	2980	ND	ND	ND	ND
皮膚（有色）	BLQ	3950	6050	5020	4950	BLQ	ND
小腸	3080	12200	5800	ND	ND	ND	ND
脊髄	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
脾臓	BLQ	2650	BLQ	ND	ND	ND	ND
胃	4470	4060	2770	ND	ND	ND	ND
精巣	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
甲状腺	ND	5960	2360	BLQ	ND	ND	ND
定量下限	1950	1950	1950	1950	1950	1950	1950

BLQ：定量下限未満（1950 ng eq./g 未満）、ND：Not detectable

a　胃内容物による汚染のため測定不能

b　脂肪浸漬

c　胃内容物によるフレアのため測定不能

Source: 8338525

2.6.4.4.3 胎盤通過及び乳汁移行

試験 R2017011：ラットにおける出生前及び出生後の発生に関する予備毒性試験（試験 2219-109）でのアカラブルチニブ及び代謝物 ACP-5862 の薬物動態解析

概要表は 2.6.5.7 項参照。

妊娠ラットにアカラブルチニブ 100、200 及び 300 mg/kg/day を妊娠 6～18 日目まで反復経口投与し、妊娠 18 日目の母動物及び胎児から投与後 1 時間の血液を採取し、アカラブルチニブ及び ACP-5862 の血漿中濃度を測定した。また、母動物に 100、200 及び 300 mg/kg/day を分娩後から授乳 12 日目まで反復経口投与し、授乳 12 日目の母動物における投与後 3 時間のアカラブルチニブ及び ACP-5862 の血漿及び乳汁中濃度を測定した。検討した 3 用量を通して胎児／母動物のアカラブルチニブの血漿中濃度比は概ね 0.4～0.5、ACP-5862 の血漿中濃度比は概ね 0.02～0.04 であった。母動物におけるアカラブルチニブの乳汁／血漿中濃度比は 3 用量で概ね 4～14 であり、ACP-5862 の乳汁／血漿中濃度比は概ね 6～22 であった。したがって、アカラブルチニブ及び ACP-5682 は妊娠 18 日目の胎児血漿中に認められ、また乳汁移行することが示された。

2.6.4.5 代謝

概要表 2.6.5.9～2.6.5.11 項参照。

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞を用い、[^{14}C]-アカラブルチニブの *in vitro* における代謝を検討した（試験 ESN0330）。また、ラット、イヌ及びヒトに[^{14}C]-アカラブルチニブを投与した排泄試験（試験 8338525、8338256 及び ACE-HV-009）で得られた試料を用いて *in vivo* における代謝物を検討した（試験 8340639 及び 8341070）。ラット、イヌ及びヒトにおける排泄試験は、それぞれ 100 mg/kg、30 mg/kg 及び 100 mg の用量で実施した。

血漿、尿及び糞中の代謝物は HPLC-MS と放射能検出器を組み合わせて確認及び定量した。ヒト代謝物については、[^{14}C]-アカラブルチニブを投与したヒト・マスバランス試験（ACE-HV-009 試験）で得られた血漿、尿及び糞よりヒト代謝物を特定した（試験 8341070）。

2.6.4.5.1 代謝物構造

アカラブルチニブの主代謝経路を図 1 に示す。2-アミノピリジン基の消失を伴うアミド加水分解、ブチンアミド基の GSH 抱合、主にピロリジン環の水酸化、の 3 つの主代謝経路があり、これらの逐次的代謝又は組み合わせにより、二次代謝物及び三次代謝物が生成すると考えられた。

ヒト血漿中の主代謝物は ACP-5862（M27）であり、ACP-5862 は CYP3A を介するピロリジン環のキラルメチン炭素の酸化及び開環により直鎖ケトアミドを有する代謝物である（図 2、試験 8335668 で NMR により構造確認）。血漿中代謝物組成について放射能標識体を用いて検討した結果、ラット及びイヌにおける ACP-5862 の曝露量はヒトより高かった。ヒト血漿中代謝物で組成比が 10%を超える代謝物は ACP-5862 以外になかった（表 17）。

図 1　　アカラブルチニブの主代謝経路

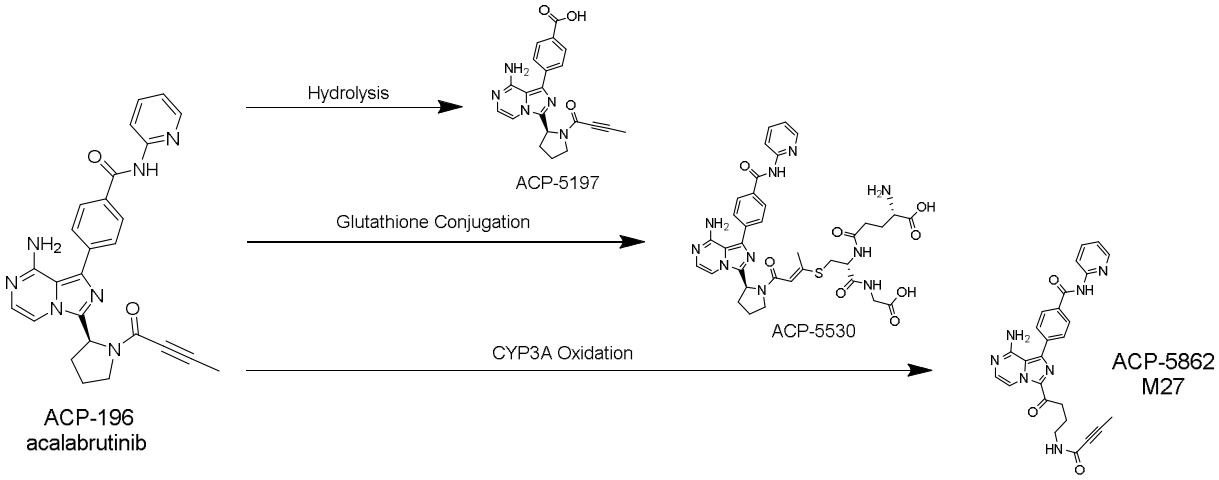
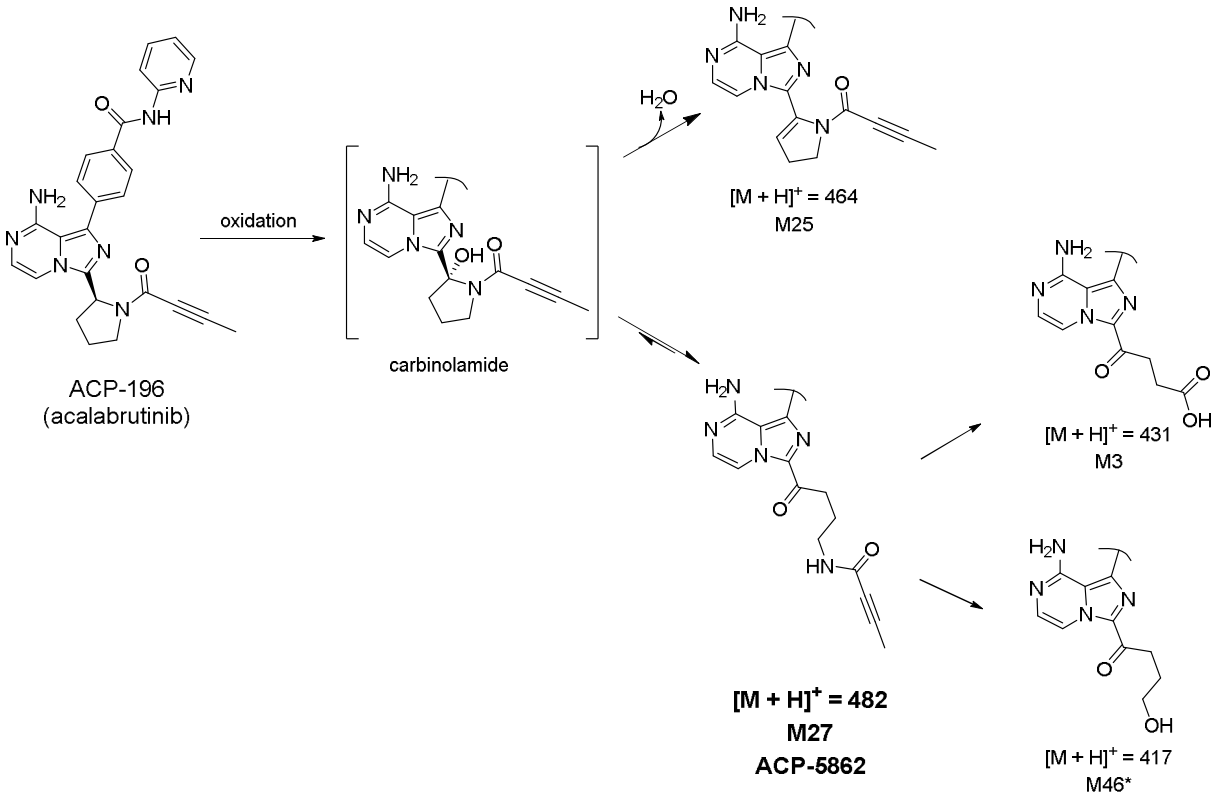


図 2　　アカラブルチニブから CYP3A を介して ACP-5862（M27）を生成する代謝経路



2.6.4.5.2　推定代謝経路

[^{14}C]-アカラブルチニブをラット、イヌ及びヒトに経口投与後の血漿、尿及び糞中の代謝物を検討した。30 種類以上の代謝物が特定され、主代謝経路はアミド加水分解、アルキン基の GSH 抱合、及び主にピロリジン環の水酸化であった。これら 3 つの主代謝経路の逐次的代謝又は組み

合わせにより、二次代謝物及び三次代謝物が生成すると考えられた。その他に非酵素的と考えられる代謝経路があり、この経路で生成する代謝物として、主な糞中の二次代謝物であるβ-ケトアミドはアルキン基の水和により生成したと考えられる。[^{14}C]-アカラブルチニブ投与後の放射能に対する未変化体の $AUC_{(0\text{-}t)}$比は、ラット、イヌ及びヒトでそれぞれ 11.3%、44%及び 8.6%であった。ACP-5862（M27）は CYP3A を介した酸化反応により生成し、ヒトにおける ACP5862 の AUC は血漿中放射能 AUC の 34.7%（ACP-5862／未変化体の AUC 比は 4.0）であった。尿糞中の代謝物組成から、いずれの動物種でも ACP-5862 は更に広範な代謝を受けることが示された。

ヒト及び動物における推定代謝経路を図 3 に、血漿、尿及び糞中に認められた代謝物を表 14 に示す。

図 3　　ヒト及び動物におけるアカラブルチニブの推定代謝経路

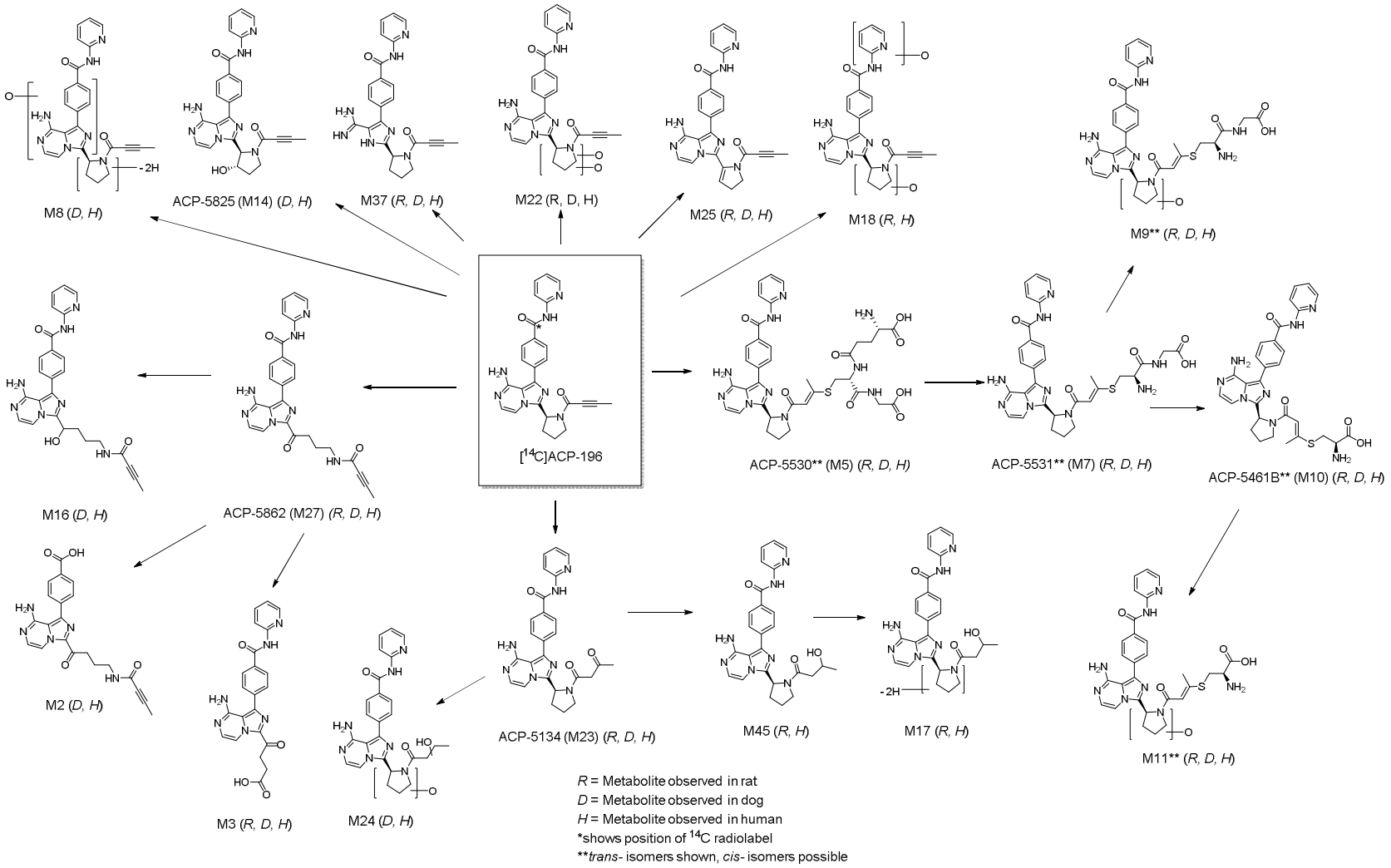


表 14　　ラット、イヌ及びヒトにおけるアカラブルチニブの血漿、尿及び糞中代謝物

代謝物番号	保持時間（分）	推定代謝物構造	ラット			イヌ			ヒト		
			血漿	尿	糞	血漿	尿	糞	血漿	尿	糞便
M28	1.8	未同定	X		XQ			XQ			
M29	2.3	未同定	X	X			X				
M30	2.7	未同定		X							
M31	3.0	未同定	X				XQ				
M32	3.8	未同定		X							
M33	5.5	未同定	X								
M1 (ACP-5197)	6.2	アミド基加水分解体	XYQ	X		XYQ	XQ		Y		
M34	9.0	未同定	X								
M2	10.7	M1 酸化体				Y	X	X	Y	Y	Y
M35	14.8	未同定			XQ		X				
M3	17.2 [a]	酸化＋脱アルキル化体	XY			Y			XYQ	XQ	XQ
M36	17.5	未同定			X						
M4	18.2	酸化体			X	XY	X	XQ	Y		
M37	21.5	$[M + H]^+ = 442$	X		XQ			X		Y	Y
M5 (ACP-5530)	24.3 [b]	GSH 抱合体	XYQ		XQ	XYQ			XYQ		
M38	24.7	M10 酸化体			XQ						
M39	25.8	未同定			XQ						
M6	27.8 [y]	ピロリジン環酸化体							Y		
M7 (ACP-5531)	27.6 [b]	システイニルグリシン抱合体	Y	X		XYQ			XYQ	XQ	
M8	28.4 [y]	酸化＋脱水素体				Y			Y	Y	Y
M40	27.2	酸化体				XQ					
M9	27.7 [b]	M7 酸化体及び M12 酸化体	Y			Y			XYQ		
M10 (ACP-5461)	28.1 [b]	システイン抱合体	XYQ	X	XQ	XYQ	XQ	XQ	XYQ	XQ	Y
M11	28.3 [a]	M10 酸化体	Y			Y			XYQ	XQ	Y
M12 (ACP-5531)	29.9 [y]	システイニルグリシン抱合体				Y			Y		

代謝物番号	保持時間（分）	推定代謝物構造	ラット			イヌ			ヒト		
			血漿	尿	糞	血漿	尿	糞	血漿	尿	糞便
M41	27.7	未同定		X							
M13	30.3 [y]	M10 酸化体							Y		
M14	30.4 [y]	ピロリジン環酸化体				Y			Y	Y	Y
M42	28.0	未同定		X							
M43	28.5	未同定			XQ						
M15	29.5	未同定	Y		XQ	Y					
M16	30.9 [a]	M27 還元体				Y			XYQ	XQ	XQ
M17	31.6 [a]	M25 アルキン基水和＋還元体			XQ				Y	Y	XQ
M18	31.4 [c]	二酸化体	Y						Y		XQ
M44	31.0	未同定	X	X		X					
M19	32.9 [y]	ピロリジン環酸化体	Y			Y			Y		
M20 (ACP-1049)	33.5 [y]	脱アルキン基体	Y								
M21	33.7 [y]	ピロリジン環酸化体				Y			Y		
M22	33.0 [a]	二酸化体	Y			Y			Y	XQ	XQ
M45	33.0 [c]	M23 還元体			X				Y	Y	XQ
M23 (ACP-5134)	33.6 [a]	アルキン基水和体	XYQ	X	XQ	XY		XQ	Y	Y	XQ
M24	34.2 [a]	M23 還元＋酸化体				Y			Y	Y	XQ
M46	33.3	$[M + H]^+ = 417$	X								
M25	35.6 [a]	ピロリジン環酸化＋脱水体	XY			XYQ			XYQ	XQ	Y
M26	39.1	M23 還元＋酸化体							Y	Y	
M47	35.2	未同定			X						
Parent	38.5 [b]	アカラブルチニブ（未変化体）	XQ	X	XQ	XQ	X	XQ	XQ	XQ	XQ
M27 (ACP‑5862)	41.6 [b]	ピロリジン環酸化＋開環体	XYQ		XQ	XYQ		XQ	XYQ	XQ	XQ
M48	48.2	未同定			XQ						
M49	50.7	未同定			XQ						

X：放射能検出可、Y：MS/MS 確認可、Q：放射能定量可（表 15、表 16、表 17）
保持時間は特に記載がない限り、ラット及びイヌの代謝物組成の報告書（試験 8340639）より引用

a、b 及び c は、それぞれヒト血漿（P）、尿（U）及び糞便（F）の試料分析クロマトグラム上の保持時間（試験 8341070）
y はラット、イヌ及びヒト血漿試料分析クロマトグラム上の保持時間（試験 8320562）
ラット及びイヌ尿糞中代謝物で投与放射能量の 1%以上の代謝物を定量可とした
Source: 8320562、8340639、8341070

2.6.4.5.3 *In vitro* 代謝

試験 8335668：代謝物の *in vitro* 生成、分離及び NMR による同定

概要表は 2.6.5.10.1 項参照。

ヒト肝ミクロソームを用いたアカラブルチニブの *in vitro* 代謝で生成した代謝物 M25 及び ACP-5862（M27）を分離し、NMR により構造を同定した。

結果：

M25 はピロリジン環の不飽和体、ACP-5862 はピロリジン環が開裂し、元のキラル中心であった部位がケトン体となった代謝物である。図 2 に M25 及び ACP-5862 の構造及び生成機序を示す。

試験 XT134082 及び XT164096：ヒト肝ミクロソーム及び CYP 発現系を用いたアカラブルチニブ及び ACP-5862 の代謝に関与する CYP 分子種の特定

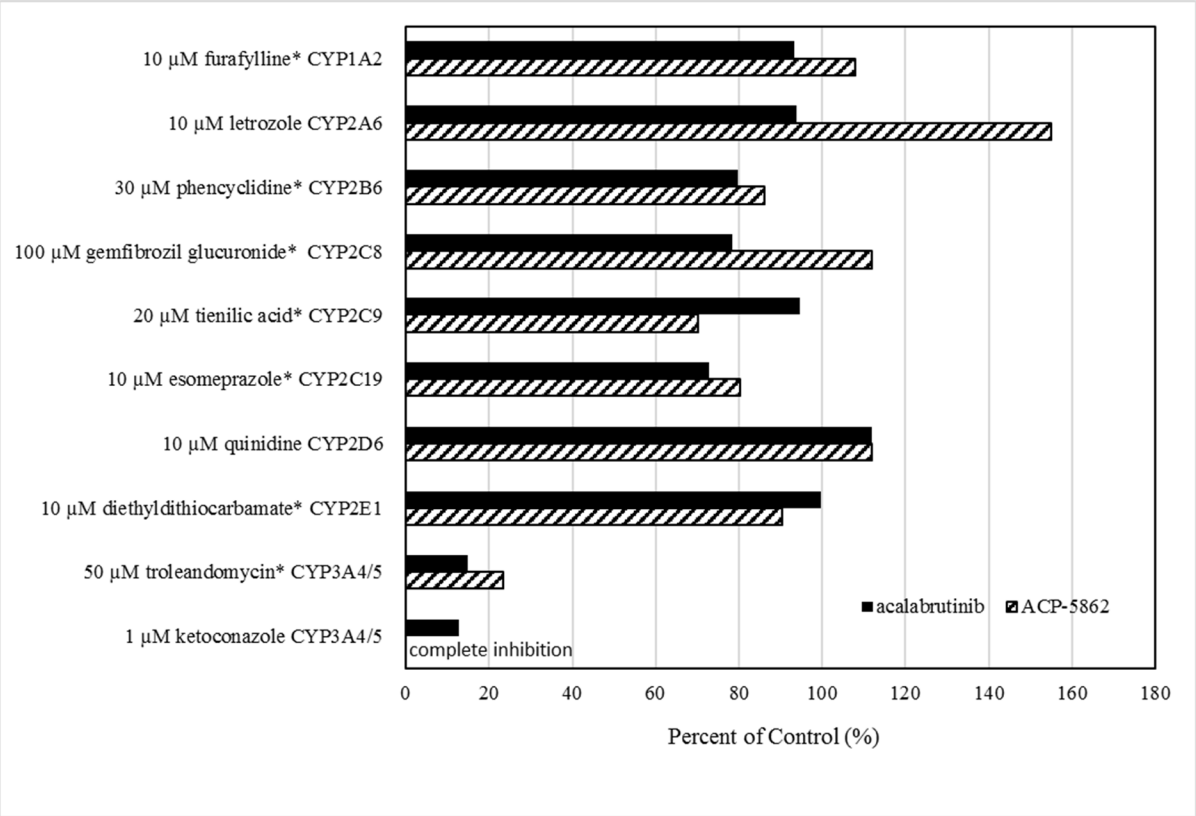
概要表は 2.6.5.10.2 項及び 2.6.5.10.5 項参照。

ヒト肝ミクロソーム及び CYP 発現系を用い、アカラブルチニブ及び ACP-5862 の代謝に関与する CYP 分子種について検討した。ヒト肝ミクロソームを用いた検討では、各 CYP 分子種の特異的阻害剤の存在／非存在下でアカラブルチニブ及び ACP-5862 をインキュベーションした。

結果：

CYP 発現系を用いた検討より、アカラブルチニブ及び ACP-5862 の代謝に関与する CYP 分子種は CYP3A4 であり、他の CYP 分子種ではほとんど代謝されなかった。ヒト肝ミクロソームを用いた検討では、CYP3A の特異的阻害剤ケトコナゾール及びトロレアンドマイシンの濃度依存的にアカラブルチニブ及び ACP-5862 の代謝は阻害された。CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP2E1 の特異的阻害剤による影響は軽微であった（図 4）。これらの結果からアカラブルチニブ及び ACP-5862 の代謝に関与する主な CYP 分子種は CYP3A4/5 であることが示唆された。

図 4　　ヒト肝ミクロソームにおけるアカラブルチニブ及び ACP-5862 の消失に及ぼす CYP 阻害剤の影響



Percent of control (%) > 100%で阻害作用なし
アカラブルチニブ：1 µM、60 分間インキュベーション、0.1 mg protein/mL
ACP-5862：0.5 µM、45 分間インキュベーション、0.5 mg protein/mL
* 時間依存的阻害剤

試験 XT154040：ヒト肝細胞質及びリコンビナント GSH 転移酵素（GST）を用いたアカラブルチニブの代謝に関与する GST 分子種の特定

概要表は 2.6.5.10.3 項参照。

ブチンアミド基への直接的な GSH 抱合はアカラブルチニブの主代謝経路の 1 つであり（図 1）、アカラブルチニブの GSH 抱合体生成に関与する GST 分子種について検討した。

結果：

アカラブルチニブをヒト肝細胞質とインキュベーションしたときのアカラブルチニブの消失は、GSH 添加時は 25%未満、GSH 非添加時は 16%未満であった。GSH 抱合体、システイン抱合体又はシステイニルグリシン抱合体はアカラブルチニブの最高濃度（100 µM）以外ではほとんど生成しなかった。また、GSH 抱合体及びシステイニルグリシン抱合体の生成には GSH が必要であった。上記 3 種の抱合体生成量はインキュベーション時間の延長及び細胞質蛋白量の増加に従って増加した。

アカラブルチニブ（100 µM）をリコンビナントヒト GST（rGSTA1、A2、M1、M2、P1 及び T1）とインキュベーションした。アカラブルチニブの消失は、GST 濃度 0.1 mg protein/mL では

3.8%～22%であり、より高い GST 濃度 0.5 mg protein/mL では 2.2%～38%であった。rGSTM1 及び rGSTM2 とのインキュベーションでアカラブルチニブの消失が最も大きかった（それぞれ 34%及び 38%）。次に消失の程度が大きかった酵素は rGSTA1 及び rGSTA2 であった（共に 16%）。クロマトグラフ上にアカラブルチニブ変化体と GSH 抱合体の 2 つの明確なピークが認められた。GST 濃度に関わりなく未変化体に対する GSH 抱合体のピーク面積比は rGSTM1 及び rGSTM2 で最も大きく、次に rGSTA1 及び rGSTA2 で大きかった。まとめると、アカラブルチニブとヒト肝細胞質のインキュベーションで GSH 抱合体が生成し、GSH 抱合体の生成には GSTM1 及び GSTM2 が主に関与し、GSTA1 及び GSTA2 も関与する可能性が示唆された。

2.6.4.5.4 *In vivo* 代謝

ラット、イヌ及びヒトにおけるアカラブルチニブの代謝について複数の試験で検討し、これらの試験結果からアカラブルチニブの代謝経路を推定した。

試験 8320562：ラット、イヌ及びヒト血漿中のアカラブルチニブ代謝物同定

概要表は 2.6.5.9.1 項参照。

アカラブルチニブ投与後のラット、イヌ及びヒト血漿より代謝物を特定した。

結果：

アカラブルチニブは広範に代謝され、HPLC-MS 法による分析で少なくとも 27 種の代謝物（M1～M27）が認められた。主な代謝物は、酸化、GSH 抱合、アミド基加水分解、*N*-脱アルキル化、及びアルキン基水和により生成した代謝物であった。二次及び三次代謝物は上記の代謝反応の組み合わせにより生成した代謝物であった。アカラブルチニブのピロリジン環酸化は主に CYP3A によるものと考えられた。この結果は、アカラブルチニブの主代謝酵素は CYP3A であること示唆する *in vitro* 代謝及び臨床薬物相互作用試験の結果とも一致している。

ACP-5862（M27）はヒト血漿中の主代謝物であり、キラル部位が CYP により酸化された後、ピロリジン環が開裂した代謝物であり、ラット及びイヌ血漿中でも検出された。

ヒト血漿中代謝物として、他に GSH 抱合体、システイニルグリシン抱合体及びシステイン抱合体が認められた。GSH 抱合体及びアミド基加水分解体は、ヒト血漿に比べイヌ血漿で多く、ラット血漿で少なかった。

試験 8338525：ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブを経口投与後の吸収、分布、代謝及び排泄

概要表は 2.6.5.13.1 項参照。ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブ単回経口投与後の放射能、未変化体及び代謝物の薬物動態パラメータを表 15 に示す。

雄雌ラット（Sprague-Dawley）に[^{14}C]-アカラブルチニブ 100 mg/kg を経口投与し、吸収、分布、代謝及び排泄について検討した。代謝物は試験 8340639 で特定した。

結果：

雄雌ラット共に放射能に対するアカラブルチニブ（未変化体）の $AUC_{(0\text{-}t)}$比（組成比）は 11.3%であった。血漿中の主代謝物は ACP-5862 であり、組成比は雄で 57.4%、雌で 42.1%であった。ラット血漿中には他に代謝物 M1、M5、M10、M23 及び M25 が認められた。

表 15　ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブ 100 mg/kg を単回経口投与後の放射能、未変化体及び代謝物の薬物動態パラメータ

性別 (例数)	代謝物	C_{max} (ng eq/g)	t_{max} (h)	$AUC_{(0-t)}$ (ng eq·h/g)	AUC (ng eq·h/g)	$t_{½}$ (h)	組成比 (%) [a]	未変化体比 (%) [b]
雄 (n=3)	M1 (ACP-5197)	1330	1	1740	NC2	NC2	4.3	38.1
	M5 (ACP-5530)	1230	1	3430	4920	2.13 [c]	8.5	75.1
	M10 (ACP-5461B)	536	1	NC1	NC2	NC2	NA	NA
	M23 (ACP-5134)	646	2	2050	NC2	NC2	5.1	44.9
	M25	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	アカラブルチニブ（未変化体）	1790	1	4570	5380	1.35 [c]	11.3	NA
	M27 (ACP‑5862)	3510	2	23300	40400	9.61	57.4	510
	放射能	8690	1	40600	47100	3.64 [c]	NA	888
雌 (n=3)	M1 (ACP-5197)	1700	0.25	2250	3150	1.14 [c]	4.2	37.1
	M5 (ACP-5530)	4050	1	6470	NC2	NC2	12.0	107
	M10 (ACP-5461B)	2140	2	3050	NC2	NC2	5.7	50.2
	M23 (ACP-5134)	759	2	NC1	NC2	NC2	NC1	NC1
	M25	277	1	NC1	NC2	NC2	NA	NA
	アカラブルチニブ（未変化体）	4110	1	6070	11500	1.47 [c]	11.3	NA
	M27 (ACP‑5862)	3770	2	22600	NC2	NC2	42.1	372
	放射能	17500	1	53700	57800	2.88 [c]	NA	885

a　組成比 ＝(100／放射能 $AUC_{(0-t)}$)×未変化体又は代謝物の $AUC_{(0-t)}$

b　未変化体比 ＝(100／未変化体 $AUC_{(0-t)}$)×代謝物又は放射能の $AUC_{(0-t)}$

c　終末相プロファイルは真の消失相を反映していない可能性があるため C_{max} から算出

NC1：評価可能な血漿中濃度が 3 時点未満のため算出できず

NC2：終末相特定不能のため算出できず

Source: 8340639

試験 8338526：イヌに[^{14}C]-アカラブルチニブを経口投与後の吸収、分布、代謝及び排泄

概要表は 2.6.5.13.2 項参照。イヌに[^{14}C]-アカラブルチニブ単回経口投与後の放射能、未変化体及び代謝物の薬物動態パラメータを表 16 に要約。

雄雌イヌ（ビーグル）に[^{14}C]-アカラブルチニブ 30 mg/kg を経口投与し、吸収、分布、代謝及び排泄について検討した。代謝物は試験 8340639 で分析した。

結果：

アカラブルチニブ（未変化体）の組成比は雄で 45.9%、雌で 41.9%であった。イヌ血漿中には表 16 に示す代謝物が認められた。ヒトにおける主代謝物 ACP-5862 のイヌ血漿中での組成比は比較的低く、雄で 6.1%、雌で 8.1%であった。ラット及びヒトと違い、イヌ血漿中の主代謝物は、アルキン基の GSH 抱合体（M5）、M5 の GSH が順次切断されたシステイニルグリシン抱合体（M7）及びシステイン抱合体（M10）であった。アルキン基に GSH、システイニルグリシン及びシステインが化学的に直接結合した可能性もある（試験 R2015008）。

表 16　イヌに[^{14}C]-アカラブルチニブ 30 mg/kg を単回経口投与後の放射能、未変化体及び代謝物の薬物動態パラメータ

性別 (例数)	代謝物	C_{max} (ng eq/g)	t_{max} (h)	$AUC_{(0-t)}$ (ng eq·h/g)	AUC (ng eq·h/g)	$t_{½}$ (h)	組成比 (%) [a]	未変化体比 (%) [b]
雄 (n=3)	M1 (ACP-5197)	847	2	2230	4960	3.37 [c]	5.8	12.5
	M5 (ACP-5530)	644	2	1780	2400	1.59 [c]	4.6	10.0
	M7 (ACP-5531)/ M40	508	2	1580	4020	4.52 [c]	4.1	8.9
	M10 (ACP-5461B)	1890	4	7420	NC	NC	19.1	41.7
	M23 (ACP-5134)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	M25	318	3	612	NC	NC	1.6	3.4
	アカラブルチニブ（未変化体）	6830	1	17800	21500	1.35	45.9	NA
	M27 (ACP‑5862)	797	2	2350	3620	2.13 [c]	6.1	13.2
	放射能	10400	1	38800	40000	0.92 [c]	NA	218
雌 (n=3)	M1 (ACP-5197)	1050	2	2720	4930 [d]	2.52 [c]	5.9	14.1
	M5 (ACP-5530)	991	1	1900	2770 [d]	1.52 [c]	4.1	9.8
	M7 (ACP-5531)/ M40	743	2	1930	2650	1.61 [c]	4.2	10.0
	M10 (ACP-5461B)	2530	3	9990	15000 [d]	2.79 [c]	21.7	51.8
	M23 (ACP-5134)	454	3	227	NC	NC	0.5	1.2
	M25	540	2	1160	NC	NC	2.5	6.0
	アカラブルチニブ（未変化体）	8370	1	19300	21600	1.01	41.9	NA
	M27 (ACP‑5862)	1310	1	3750	5780 [d]	2.10	8.1	19.4
	放射能	13700	1	46100	48000	1.02	NA	239

a　組成比 ＝(100／放射能 $AUC_{(0-t)}$)×未変化体又は代謝物の $AUC_{(0-t)}$

b　未変化体比 ＝(100／未変化体 $AUC_{(0-t)}$)×代謝物又は放射能の $AUC_{(0-t)}$

c　終末相プロファイルは真の消失相を反映していない可能性があるため

d　AUC の外挿比が 30%超

Source: 8338526、8340639

[^{14}C]-アカラブルチニブの代謝はヒトマスバランス試験でも検討している（ACE-HV-009 試験）。ヒト血漿、尿及び糞便中の放射能量から推定した代謝物組成を表 17 に示す。ヒト血漿中の主代謝物は ACP-5862 であり、放射能 $AUC_{(0-t)}$に対する組成比は 34.7%であった。ACP‑5862 はラット血漿中でも主代謝物であり、放射能 $AUC_{(0-t)}$に対する組成比は雄で 57.4%、雌で 42.1%であった。イヌ血漿中の ACP‑5862 組成比は雄で 6.1%、雌で 8.1%であった。ヒト血漿中で ACP-5862 に次いで高い放射能組成比を示した代謝物はは M7～M11 の計（10.8%）、M25（5.9%）及び M3（2.5%）であった。

上記ラット及びイヌの ADME 試験（投与量はそれぞれ 100 mg/kg 及び 30 mg/kg）で認められた ACP-5862 の曝露量を、ヒトマスバランス試験（ACE-HV-009 試験）、健康被験者試験（ACE-HV-005 試験及び ACE-HV-113 試験）、患者試験（ACE-CL-001 試験）における ACP-5862 の曝露量と比較した。ACP-5862 の曝露量はヒトよりラットの方が高く、ヒトとイヌで同程度であった（表 18）。

ACP-5862 の血漿蛋白結合率は、検討したマウス、ラット、イヌ及びヒトにおいて一貫して高く、ラットにおける血漿蛋白結合率は他の動物種に比べて高かった。ヒト血漿における ACP-5862 の非結合率はアカラブルチニブ（未変化体）の約 1/2 であった。ACP-5862 の血漿蛋白結合率はアカラブルチニブより高いため（ACP-5862 の血漿蛋白結合率はラット、イヌ及びヒトでそれぞれ 99.8%、94.3%及び 98.6%）、ラット及びイヌにおける ACP-5862 の曝露量を非結合率に基づきヒトと比較した。非結合形 ACP-5682 の AUC は、ヒトに比べ、ラットで約 2 倍、イヌで 5.7～9.1 倍であった。また ACP-5682／未変化体の AUC 比（M/P 比）は非結合形濃度で算出した場合 1.23、総濃度（結合形＋非結合形）で算出した場合 2.7 であった（ACE-HV-113 試験）。

表 17　健康被験者に[^{14}C]-アカラブルチニブ 100 mg を単回経口投与後の糞便、尿及び血漿中の代謝物

代謝物	推定代謝物構造	保持時間（分）	排泄率 (%)		組成比 (%)
			糞便	尿	血漿
M3	酸化＋脱アルキル化体	17.2 [a]	1.8	1.3	2.5
M5 (ACP-5530)	GSH 抱合体	24.3 [b]	ND	ND	2.2
M7 (ACP-5531)	システイニルグリシン抱合体	27.6 [b]	ND	2.7 [e]	10.8 [f]
M9	M7 酸化体及び M12 酸化体	27.7 [b]	ND		
M10 (ACP-5461)	システイン抱合体	28.1 [b]	Trace		
M11	M10 酸化体	28.3 [a]	Trace		
M16	M27 還元体	30.9 [a]	2.9	0.6	2.2
M17	M25 アルキン基水和＋還元体	31.6 [a]	5.2 [g]	Trace	ND
M18	二酸化体	31.4 [c]		ND	Trace
M22	二酸化体	33.0 [a]	12.1 [h]	0.5	Trace
M45	M23 還元体	33.0 [c]		Trace	Trace
M23 (ACP-5134)	アルキン基水和体	33.6 [a]		Trace	Trace
M24	M23 酸化体	34.2 [a]	7.5	Trace	Trace
M25	ピロリジン環酸化＋脱水体	35.6 [a]	Trace	0.2	5.9
Parent	アカラブルチニブ（未変化体）	38.5 [b]	1.2	0.5	8.6
M27 (ACP‑5862)	ピロリジン環酸化＋開環体	41.6 [b]	3.5	0.5	34.7
計			83.5 [d]	12.0 [d]	

a、b、c　それぞれ尿、血漿及び糞便試料分析時のクロマトグラム上の保持時間を示す

d　尿及び糞便中放射能総排泄量の幾何平均値（n=6、ACE-HV-009 試験の治験総括報告書 Table 11-5）

e　M7、M10 及び M11 の排泄率合計

f　M7、M8、M9、M10 及び M11 の組成比合計

g　M17 及び M18 の排泄率合計

h　M22、M45 及び M23 の排泄率合計

Trace：MS/MS で確認可能であったが放射能測定ではベースラインを超えなかった

Source: 8341070、ACE-HV-009

表 18　ラット、イヌ及びヒトにアカラブルチニブ単回経口投与後のアカラブルチニブ及び ACP-5862 の曝露量比較

動物種（性別）	投与量[a] (mg/kg)	アカラブルチニブ（P）		ACP‐5862（M）		AUC 比 (M/P)[c]
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)	
ラット（雄）	100	1790	4570	3510	23300	4.93
ラット（雌）	100	4110	6070	3770	22600	3.57
イヌ（雄）	30	6830	17800	797	2350	0.10
イヌ（雌）	30	8370	19300	1310	3750	0.19
ヒト[b]	100 mg	601	734	443	1670	2.7[d]
動物種（性別）	投与量[a] (mg/kg)	非結合形 C_{max}[e] (ng/mL)	非結合形 $AUC_{(0-t)}$[e] (ng·h/mL)	非結合形 C_{max}[e] (ng/mL)	非結合形 $AUC_{(0-t)}$[e] (ng·h/mL)	非結合形 AUC 比[c] (M/P)
ラット（雄）	100	143	366	7.02	46.6	0.123
ラット（雌）	100	329	486	7.54	45.2	0.089
イヌ（雄）	30	2160	5620	45.4	134	0.023
イヌ（雌）	30	2640	6100	74.7	214	0.034
ヒト[b]	100 mg	15.0	18.4	6.20	23.4	1.23

a　投与量はそれぞれラット（雄）及びイヌ（雄雌）における無毒性量（試験 8340639）

b　アカラブルチニブの C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は第 1 期で得られた幾何平均値（ACE-HV-113 試験）、代謝物の C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は第 1 期及び第 2 期を合わせた幾何平均値（17-RS-426CL 試験）

c　AUC 比はアカラブルチニブ及び ACP-5862 の分子量で補正（それぞれ 465.5 及び 481.5）

d　ヒト AUC 比は第 1 期及び第 2 期を合わせた AUC 幾何平均値より算出（17-RS-426CL 試験）

e ラット、イヌ及びヒト血漿におけるアカラブルチニブ非結合率はそれぞれ 8.0%、31.6%及び 2.5%、ACP‐5862 非結合率はそれぞれ 0.2%、5.7%及び 1.4%

Source: XS-0850、8340639、ACE-HV-113、17-RS-426CL

2.6.4.6　排泄

2.6.4.6.1　ラットにおける排泄

試験 8338525：ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブを経口投与後の吸収、分布、代謝及び排泄

概要表は 2.6.5.13.1 項参照。

雄雌ラット（Sprague-Dawley）に[^{14}C]-アカラブルチニブ 100 mg/kg を経口投与し、尿及び糞中への放射能の排泄速度及び主排泄経路について検討した。

結果：

投与放射能の主排泄経路は糞中であった。尿中排泄量は少なく、排泄速度及び経路に明らかな性差はなかった。投与放射能の排泄は速やかであり、投与後 48 時間以内に投与放射能の大部分が回収された。投与後 96 時間の屍体中残存放射能量は投与放射能量の 0.7%～1.0%であった。

表 19　　ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブ 100 mg/kg 経口投与後 0～96 時間の放射能回収率

試料	放射能回収率（% of 投与放射能量）	
	雄（n=3）	雌（n=3）
尿	2.7 ± 0.8	3.6 ± 0.3
糞	91.2 ± 6.0	88.3 ± 3.6
ケージ洗浄液	0.2 ± 0.03	0.8 ± 0.4
屍体	0.7 ± 0.1	1.0 ± 0.5
計	96.8 ± 3.5	94.3 ± 2.6

平均値±SD
Source: 8338525

2.6.4.6.2　イヌにおける排泄

試験 8338526：イヌに[^{14}C]-アカラブルチニブを経口投与後の吸収、分布、代謝及び排泄

概要表は 2.6.5.13.2 項参照。

雄雌イヌ（ビーグル）に[^{14}C]-アカラブルチニブ 30 mg/kg を経口投与し、尿及び糞中への放射能の排泄速度及び主排泄経路について検討した。

結果：

投与放射能の主排泄経路は糞中であった。尿中排泄量は少なく、排泄速度及び経路に明らかな性差はなかった。投与放射能の排泄は速やかであり、投与後 48 時間以内に投与放射能の大部分が回収された。

表 20　　イヌに[^{14}C]-アカラブルチニブ 30 mg/kg 経口投与後 0～96 時間の放射能回収率

試料	放射能回収率（% of 投与放射能量）	
	雄（n=3）	雌（n=3）
尿	15.2 ± 1.4	14.6 ± 3.0
糞	71.8 ± 0.7	69.3 ± 7.9
ケージ洗浄液	2.5 ± 0.9	1.6 ± 1.9
計	91.1 ± 0.5	87.5 ± 6.3

平均値±SD
Source: 8338526

2.6.4.6.3　胆汁中排泄

概要表は 2.6.5.14 項参照。

胆管カニューレを施したラット及びイヌに[^{14}C]-アカラブルチニブを投与し、胆汁中排泄を予備的に検討した（試験 ESN0330）。ラットに静脈内投与後の放射能の総回収率、胆汁及び尿中排泄率はそれぞれ投与放射能量の 85.1%、69.0%及び 16.1%であった（大部分の排泄は投与後 0～4 時間）。ラットに経口投与後の放射能の総回収率は投与放射能量の 42.2%と少なく、その大部分は

胆汁中排泄の放射能（38.8%）であった（大部分の排泄は投与後 0～8 時間）。イヌに静脈内投与後の放射能排泄はラットと異なり、総回収率は投与放射能量の 50.7%、その大部分は尿中排泄の放射能（31.8%、大部分の排泄は投与後 4～8 時間）であり、胆汁中排泄率は 18.8%であった（大部分の排泄は投与後 0～4 時間）。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 薬物相互作用の評価

アカラブルチニブの薬物相互作用に関する検討を *in vitro* で実施した。また、薬物相互作用の検討に関するガイドライン（欧州医薬品庁ガイドライン[EMA 2012]、米国食品医薬品局ガイダンス[FDA 2017]、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[MHLW 2018]）に記載の基準に照らし、アカラブルチニブ 100 mg を患者にカプセル剤で 1 日 2 回空腹投与時の C_{max} を用い、*in vitro* 薬物相互作用試験の結果を評価した。100 mg カプセル剤の溶解度及びバイオアベイラビリティを完全と仮定し、表 21 に示す消化管内の最高濃度（$[I]_g$）、門脈血漿中最高濃度（$[I_{in\ max}]$）、非結合形の門脈血漿中最高濃度（$[I_{in\ free}]$）を算出した。

表 21　薬物相互作用評価に用いたアカラブルチニブ 100 mg 投与時のパラメータ [a]

投与量	剤形	C_{max} [b] (μM)	非結合形 C_{max} [c, d] (μM)	$[I]_g$ [c] (μM)	$[I_{in\ max}]$ [c] (μM)	$[I_{in\ free}]$ [c, d] (μM)
100 mg	カプセル剤	1.45	0.036	860	15.8	0.39

a　慢性リンパ性白血病患者にアカラブルチニブ 100 mg 投与後の Day 1 の結果より算出（ACE-CL-001 試験、コホート 11 [n=16]）

b　実測値

c　算出値

d　血漿蛋白結合率 97.5%として算出、$[I]_g$＝消化管内の最高濃度（＝投与量/250 mL）、$[I_{in\ max}]$＝門脈血漿中最高濃度（＝$C_{max} + [F_a \cdot K_a \cdot Dose/Q_h]$、$F_a$=1、$K_a$=0.1 min^{-1}、Q_h=1500 mL/min）、$[I_{in\ free}]$＝非結合形の門脈血漿中最高濃度

Source: ACE-CL-001 CSR PK Report (14-RS-155CL)

ACP-5862 はアカラブルチニブの血漿中主代謝物であり、ACP-5862 の患者における C_{max} は 0.84 μM であった（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。ACP-5862 の血漿蛋白結合率は 98.6%であることから、非結合形 C_{max} は 0.012 μM と算出された。臨床における ACP-5862 曝露量はアカラブルチニブ曝露量の 25%を超えることから、ACP-5862 の CYP 阻害作用についても *in vitro* で評価した（表 22）。

2.6.4.7.2 CYP、アルデヒドオキシダーゼ及び UGT 阻害

概要表は 2.6.5.12.1 項及び 2.6.5.12.3 項参照。

各 CYP 分子種に対する可逆的阻害（直接的阻害）、時間依存的阻害及び代謝依存的阻害作用をアカラブルチニブ（3～100 μM）及び ACP-5862（0.1～30 μM）についてそれぞれ *in vitro* で検討した（試験 XT135097 及び XT165071）。アカラブルチニブ及び ACP-5862 による各 CYP 分子種の IC_{50} 値を表 22 に示す。また、阻害定数（K_i）は K_m で典型基質に対する IC_{50} 値の 1/2 に等しいと仮定し、可逆的阻害作用を推定した（表 23）。

表 22　　ヒト肝ミクロソームにおけるアカラブルチニブ及び ACP-5862 の CYP 阻害

CYP	アカラブルチニブ IC_{50} (μM)			ACP‑5862 IC_{50} (μM)		
	直接的阻害	時間依存的阻害	代謝依存的阻害	直接的阻害	時間依存的阻害	代謝依存的阻害
	ﾌﾟﾚｲﾝｷｭﾍﾞｰｼｮﾝなし	ﾌﾟﾚｲﾝｷｭﾍﾞｰｼｮﾝ（-NADPH）	ﾌﾟﾚｲﾝｷｭﾍﾞｰｼｮﾝ（+NADPH）	ﾌﾟﾚｲﾝｷｭﾍﾞｰｼｮﾝなし	ﾌﾟﾚｲﾝｷｭﾍﾞｰｼｮﾝ（-NADPH）	ﾌﾟﾚｲﾝｷｭﾍﾞｰｼｮﾝ（+NADPH）
1A2	> 100	> 100	> 100	>20	>20	>20
2B6	> 100	> 100	> 100	>20	>20	>20
2C8	37	45	18	>20	>20	3.9
2C9	28	29	14	6.7	10	6.5
2C19	> 100	> 100	> 100	17	15	15
2D6	> 100	> 100	> 100	>20	>20	>20
3A4/5 [a]	57	58	13	>20	>20	>20
3A4/5 [b]	69	76	16	>20	>20	>20

a 基質テストステロン、b 基質ミダゾラム
Source: XT135097、XT165071

アカラブルチニブによる CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6（いずれも IC_{50} >100 μM）、CYP2C8（IC_{50} =37 μM）、CYP2C9（IC_{50} =28 μM）及び CYP3A4/5（IC_{50} =57 μM [基質テストステロン]、IC_{50} =69 μM [基質ミダゾラム]）への強い阻害は認められなかった。同様に ACP-5862 による CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2D6 及び CYP3A4/5（いずれも IC_{50} >20 μM）への強い阻害は認められなかった。ACP-5862 による CYP2C9（IC_{50} =6.7 μM）及び CP2C19（IC_{50} =17 μM）への可逆的阻害が認められた。

2.6.4.7.2.1 CYP 阻害結果の解釈

薬物相互作用ガイドライン（EMA 2012、FDA 2017 及び MHLW 2018）に従い、アカラブルチニブ及び ACP-5862 が臨床的に問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性を IC_{50} 値が算出可能であった CYP 分子種毎に評価し、表 23 に要約した。アカラブルチニブ 100 mg を投与した場合、消化管内 CYP3A4/5 を阻害する可能性はあるが、CYP2C8 及び CYP2C9 を阻害する可能性は低いと考えられる。

表 23　　アカラブルチニブ及び ACP-5862 による CYP 阻害結果の解釈

パラメータ	カットオフ基準	アカラブルチニブ			ACP-5862	
		2C8	2C9	3A4/5 [a]	2C9	2C19
IC_{50} (μM)	NA	37	28	57	6.7	17
K_i	NA	18.5	14	28.5	3.35	8.5
R_1 可逆的阻害（肝）	1.02	1.002	1.003	1.001	1.004	1.001
$R_{1,gut}$ 可逆的阻害（消化管）	11	NA	NA	31.2	NA	NA
相互作用の可能性		なし	なし	あり	なし	なし

a　基質テストステロン
$K_i = IC_{50}/2$
$R_1 = 1+$ [非結合形 C_{max}]/K_i
$R_{1,gut} = 1+[I]_g/K_i$、$[I]_g =$ 投与量/250 mL
Source: XT135097、XT165071

アカラブルチニブの C_{max} に基づく予測からは、アカラブルチニブによる CYP3A4 の強い可逆的阻害作用はなく（$R_1 = 1.001$）、CYP3A4 阻害による相互作用はないと推測される。しかしながら、アカラブルチニブ 100 mg と CYP3A 基質を併用投与した場合、消化管内 CYP3A の一時的阻害により（$R_{1,gut} = 31.2$）、CYP3A 基質の曝露量は増加する可能性がある。他の CYP 基質と併用した場合、アカラブルチニブによる併用薬の曝露量の増加はないと考えられる。

ACP-5862 の CYP2C9 及び CYP2C19 に対する R_1 値はいずれも 1.02 未満であることから、ACP-5862 による CYP2C9 及び CYP2C19 の強い可逆的阻害作用はなく、臨床的影響は低いと考えられた。したがって、他の CYP 基質と併用した場合、ACP-5862 による併用薬の曝露量の増加はないと考えられる。

2.6.4.7.2.2 時間依存的阻害及び代謝依存的阻害

ヒト肝ミクロソームとアカラブルチニブを還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）存在下で 30 分間プレインキュベーションしたとき、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5 に対する IC_{50} 値は 1.5 倍以上低い値にシフトし（表 22）、アカラブルチニブは CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5 に対し代謝依存的阻害作用を示すことが示唆された。アカラブルチニブの CYP3A4/5 に対する阻害作用（ミダゾラム 1'-水酸化及びテストステロン 6β-水酸化を指標）は、再分離又はフェリシアン化カリウム処理で完全には元に戻らなかったため、不可逆的と考えられた。ミダゾラム 1'-水酸化反応の最大不活性化速度定数（k_{inact}）及び最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度（K_I）は、それぞれ 0.019 min^{-1} 及び 11 μM であり、不活性化作用（すなわち k_{inact}/K_I）は 1.8 min^{-1} mM^{-1} であった。テストステロン 6β-水酸化反応の k_{inact} 及び K_I はそれぞれ 0.018 min^{-1} 及び 9.2 μM であり、k_{inact}/K_I は 2.0 min^{-1} mM^{-1} であった。したがって、アカラブルチニブは CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5 に対して弱い代謝依存的阻害作用を示し、CYP3A4/5 に対する阻害作用は不可逆的と考えられた。しかしながら、Simcyp を用いた PBPK モデルによるシミュレーションでは、臨床において CYP3A4/5 基質と併用しても CYP3A4/5 基質の曝露量は増加しないと予測された（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。検討した試験条件下では、アカラブルチニブは CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19 及び CYP2D6 に対して代謝依存的阻害作用をほとんど又は全く示さず、CYP 分子種への時間依存的阻害作用もほとんど又は全く示さないと考えられた。

ACP-5862 の CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5 に対する代謝依存的阻害作用についてヒト肝ミクロソームを用いて検討した。IC_{50} 値は NADPH 存在下で低い値にシフトし、これら CYP 分子種に対し代謝依存的阻害作用を示すことが示唆された。最も反応した CYP 分子種は CYP2C8 で、K_I は 4.0 μM、k_{inact} は 0.012 min^{-1} 及び k_{inact}/K_I は 3 min^{-1} mM^{-1} であった。ACP-5862 による CYP2C8 阻害速度は、アカラブルチニブによる CYP3A4/5 阻害速度と同程度であった。したがって、ACP-5862 の CYP2C8 に対する代謝依存的阻害作用は弱く、アカラブルチニブと CYP2C8 基質を併用した場合、CYP2C8 基質の薬物動態に影響しないと考えられた。

2.6.4.7.2.3 生理学的薬物速度論に基づく CYP3A を介した薬物相互作用予測

CYP3A 阻害剤及び誘導剤併用時の影響を予測するため、アカラブルチニブの *in vitro* 及び *in vivo* 試験で得られた薬物動態の結果に基づき、Simcyp を用いて PBPK モデルを構築した。アカラブルチニブから ACP-5862 生成に関する速度論的パラメータ（V_{max} 及び K_m）及びヒト肝ミクロソームにおける ACP-5862 の固有クリアランスをモデルに用い（試験 XT164096 及び XT164038）、構築したモデルで種々の典型的阻害剤及び誘導剤併用の影響を予測した。アカラブルチニブ及び ACP-5862 はそれぞれ CYP3A4 及び CYP2C8 に対して弱い代謝依存的阻害作用を示したことから、モデルではアカラブルチニブ反復経口投与時にミダゾラム（CYP3A の典型基質）及びロシグリタゾン（CYP2C8 の典型基質）を単回で併用経口投与したときの相互作用について検討した。モデル解析の結果、アカラブルチニブ及び ACP-5862 の存在下で併用したミダゾラム及びロシグリタゾンの曝露量に変化はなかった（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。

2.6.4.7.2.4 アルデヒドオキシダーゼ阻害

概要表は 2.6.5.12.5 項参照。

アカラブルチニブは慢性リンパ性白血病（CLL）の治療薬（PI3 キナーゼ阻害剤、アルデヒドオキシダーゼ[AO]の基質）と併用される可能性があるため、AO 阻害の可能性について評価した（試験 XT145007）。アカラブルチニブは AO を介するフタラジン酸化及び p-バニリン酸化を阻害した。しかしながら、AO 酸化活性のアカラブルチニブ 100 μM での最大阻害は 41%であり、いずれも IC_{50} 値は 100 μM を超える値であった。ヒトにアカラブルチニブ 100 mg を経口投与時の C_{max} は 1.45 μM であり、アカラブルチニブの AO 阻害による相互作用は生じないと考えられた（$C_{max}/IC_{50} \leq 0.0145$）。したがって、アカラブルチニブと AO 基質を併用しても AO 基質の薬物動態に影響はないと考えられる。

2.6.4.7.2.5 UGT 阻害

概要表は 2.6.5.12.6 項参照。

アカラブルチニブ及び ACP-5862 による UGT 阻害について、ヒト肝ミクロソームを用い、UGT1A1 及び UGT2B7 阻害を指標に検討した（試験 BS001953-23）。UGT1A1 及び UGT2B7 の基質としてそれぞれエストラジオール及びジドブジンを用いた。ヒト肝ミクロソームをアカラブルチニブ（0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1 及び 3 μM）又は ACP-5862（0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1 及び 3 μM）及び既知の各 UGT 選択的阻害剤と共にインキュベーションした。アカラブルチニブ及び ACP-5862 の各濃度における阻害の程度はコントロール溶媒における酵素活性との比較より評価した。

アカラブルチニブは 0.003～3 μM の濃度範囲で UGT1A1 及び UGT2B7 を阻害しなかった。ACP-5862 による UGT1A1 阻害は 3 μM でも 34.7%の阻害であり、IC_{50} 値は算出不能であった（IC_{50}>3 μM）。ACP-5862 は 0.003～3 μM の濃度範囲で UGT2B7 を阻害しなかった。ヒトにアカ

ラブルチニブ 100 mg 投与後の ACP-5862 の非結合形 C_{max} は 0.012 μM であることから、UGT1A1 及び UGT2B7 の基質となる薬物と併用してもこれら薬物動態に影響しないと考えられた。

2.6.4.7.3　トランスポーター阻害

概要表は 2.6.5.15.1 項、2.6.5.15.3 項及び 2.6.5.15.4 項参照。

アカラブルチニブ及び ACP-5862 による排出及び取り込みトランスポーター阻害について *in vitro* で評価し、結果を表 24 に要約した（試験 XT138100、XT168092 及び XS-1144）。*In vitro* 試験の条件では典型基質の濃度は K_m 値より十分に低いことから、可逆的阻害でトランスポーターに対する K_i は IC_{50} と等しいと仮定した。

消化管内の排出トランスポーターP-gp 及び BCRP の阻害

アカラブルチニブによる P-gp 阻害は Caco-2 細胞単層膜を用いて評価した。アカラブルチニブ存在下（3、10、30、100、300 及び 400 μM）で P-gp 典型基質ジゴキシンの基底膜側から頂端膜側への輸送（B-A）を測定した。その結果、Caco-2 細胞におけるジゴキシン輸送阻害の IC_{50} 値は 98.3 μM であり、アカラブルチニブによる P-gp 阻害は強い阻害ではなかった。本試験条件下でジゴキシンの回収率は 91.2%～112%であり、valspodar 及びベラパミル（P-gp 阻害剤、陽性対照）によりジゴキシンの輸送は阻害された。同じ条件下で ACP-5862 による P-gp 阻害についても検討した（検討濃度 2 及び 20 μM）。ACP-5862 による P-gp 阻害は 50%未満であった。

アカラブルチニブによる BCRP 阻害は、MDCKII-BCRP 細胞を用いて評価した。アカラブルチニブ存在下（0.4～400 μM）で、BCRP 典型基質プラゾシンの B-A 方向への輸送を測定した。その結果、MDCKII-BCRP 細胞におけるプラゾシン輸送阻害の IC_{50} 値は 40.9 μM であり、アカラブルチニブによる BCRP 阻害は強い阻害ではなかった。同じ条件下で ACP-5862 による BCRP 阻害についても検討した（検討濃度 0.3～50 μM）。ACP-5862 によるプラゾシン輸送阻害の IC_{50} 値は 5.99 μM であった。

肝取り込みトランスポーターOATP1B1 及び OATP1B3 の阻害

アカラブルチニブによる OATP1B1 阻害は、OATP1B1 を発現させたヒト胎児由来腎臓 293 細胞（HEK293-OATP1B1 細胞）を用いて評価した。アカラブルチニブ存在下（2 及び 20 μM）で OATP1B1 典型基質[^{3}H]-estradiol 17β glucuronide（0.05 μM）の取り込みを測定した。その結果、アカラブルチニブは検討濃度 20 μM まで OATP1B1 を介した[^{3}H]-estradiol 17β glucuronide の取り込みを阻害しなかった。同じ条件下で ACP-5862 による OATP1B1 阻害についても検討した（検討濃度 0.1～50 μM）。ACP-5862 は[^{3}H]-estradiol 17β glucuronide の取り込みを阻害し、IC_{50} 値は 10.1 μM であった。

アカラブルチニブによる OATP1B3 阻害は HEK293-OATP1B3 細胞を用いて評価した。アカラブルチニブ存在下（2 及び 20 μM）で、OATP1B3 典型基質[^{3}H]-estradiol 17β glucuronide（0.05 μM）の取り込みを測定した。その結果、アカラブルチニブは検討濃度 20 μM まで OATP1B3 を介した estradiol 17β glucuronide の取り込みを阻害しなかった。同じ条件下で ACP-5862 による OATP1B3 阻害についても検討した（検討濃度 2 及び 20 μM）。ACP-5862 は[^{3}H]-estradiol 17β glucuronide の取り込みを阻害し、最大阻害は濃度 20 μM のとき 41.3%であった。

腎取り込みトランスポーターOAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の阻害

アカラブルチニブによる OAT1 及び OAT3 阻害はそれぞれ HEK293-OAT1 及び HEK293-OAT3 細胞を用いて評価した。アカラブルチニブ存在下（2 及び 20 μM）で、OAT1 典型基質パラアミノ馬尿酸（PAH、1 μM）及び OAT3 典型基質エストロン硫酸（50 nM）の取り込みを測定した。その結果、検討最高濃度 20 μM でもアカラブルチニブによる OAT1 及び OAT3 の阻害は僅か

（36%未満）であり、アカラブルチニブは OAT1 及び OAT3 の阻害剤ではなかった。同じ条件下で ACP-5862 による OAT1 阻害（検討濃度 0.1～50 μM）及び OAT3 阻害（検討濃度 2 及び 20 μM）についても検討した。ACP-5862 は OAT1 を阻害し、IC_{50} 値は 12.1 μM であった。ACP-5862 は OAT3 を阻害しなかった。

アカラブルチニブによる OCT2 阻害は HEK293-OCT2 細胞を用いて評価した。アカラブルチニブ存在下（2 及び 20 μM）で、OCT2 典型基質メトフォルミン（10 μM）の取り込みを測定した。その結果、検討最高濃度 20 μM でもアカラブルチニブによる阻害は 59%であり、アカラブルチニブによる OCT2 の阻害は強い阻害ではなかった。同じ条件下で ACP-5862 による OCT2 阻害についても検討した（検討濃度 2 及び 20 μM）。ACP-5862 による OCT2 阻害は濃度 20 μM で 32%であり、ACP-5862 による OCT2 阻害は強い阻害ではなかった。

アカラブルチニブによる MATE1 及び MATE2-K 阻害はそれぞれ HEK293-MATE1 及び HEK293-MATE2-K 細胞を用いて評価した。アカラブルチニブ存在下（0.01～3 μM）で MATE1 及び MATE2-K 典型基質メトフォルミン（10 μM）の取り込みを測定した。その結果、アカラブルチニブは MATE1 を弱く阻害したが（3 μM で 35.7%阻害）、MATE2-K を阻害しなかった。同じ条件下で ACP-5862 による MATE1 及び MATE2-K 阻害についても検討した（検討濃度 0.01～3 μM）。ACP-5862 は MATE1 を阻害し（IC_{50} 値 0.2 μM）、MATE2-K を弱く阻害した（3 μM で 35.6%阻害）。

表 24　　アカラブルチニブ及び ACP-5862 による排出及び取り込みトランスポーターの阻害

	トランスポーター	IC_{50} (μM) 又は 最高濃度における阻害 (%)	典型基質
アカラブルチニブ	P-gp	98.3 μM	ジゴキシン
	BCRP	40.9 μM	プラゾシン
	OATP1B1	阻害せず (20 μM)	estradiol 17β glucuronide
	OATP1B3	8.5% 阻害 (20 μM)	estradiol 17β glucuronide
	OAT1	10.5% 阻害 (20 μM)	パラアミノ馬尿酸
	OAT3	35.6% 阻害 (20 μM)	エストロン硫酸
	OCT2	59.3% 阻害 (20 μM)	メトフォルミン
	MATE1	35.7% 阻害 (3 μM)	メトフォルミン
	MATE2-K	阻害せず (3 μM)	メトフォルミン
ACP-5862	P-gp	8.6% 阻害 (20 μM)	ジゴキシン
	BCRP	5.99 μM	プラゾシン
	OATP1B1	10.1 μM	estradiol 17β glucuronide
	OATP1B3	41.3% 阻害 (20 μM)	estradiol 17β glucuronide
	OAT1	12.1 μM	パラアミノ馬尿酸
	OAT3	阻害せず (20 μM)	エストロン硫酸
	OCT2	32.0% 阻害 (20 μM)	メトフォルミン
	MATE1	0.2 μM	メトフォルミン
	MATE2-K	35.6% 阻害 (3 μM)	メトフォルミン

Source: XT138100、XT168092、XS-1144

トランスポーター阻害結果の解釈

薬物相互作用ガイドライン（EMA 2012、FDA 2017 及び MHLW 2018）に従い、アカラブルチニブ及び ACP-5862 によるトランスポーター阻害を介した薬物相互作用の臨床的重要性を評価し、表 25 に要約した。アカラブルチニブ 100 mg を経口投与した場合、消化管内の BCRP 阻害を介した薬物相互作用の可能性が示唆された。BCRP 基質でメトトレキサートのような治療域の狭い経口薬は少なく、メトトレキサートはアカラブルチニブと異なる時間に投与することで薬物相互作用のリスクは回避可能と考えられる。アカラブルチニブ 100 mg 投与後の ACP-5862 の C_{max} に基づき、MATE1 阻害により、MATE1 基質の薬物動態は影響を受ける可能性がある。しかしながら、ACP-5862 の尿中排泄量は投与量の 0.5%と相対的に微量であり、MATE1 基質への臨床的影響は限定的と考えられた。OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 については、臨床的に意味のある薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

表 25　　アカラブルチニブ及び ACP-5862 によるトランスポーター阻害結果の解釈

	トランスポーター	IC_{50} (= Ki) (μM)	R [a]	$R_{in\ free}$ [b]	R_{imax} [c]	相互作用の可能性
アカラブルチニブ	P-gp	98.3	8.7	NA	1.00036	なし
	BCRP	40.9	21	NA	1.00088	あり（消化管）
	OATP1B1	阻害せず	NA	NA	NA	なし
	OATP1B3	阻害せず	NA	NA	NA	なし
	OAT1	阻害せず	NA	NA	NA	なし
	OAT3	> 20	NA	NA	1.0018	なし
	OCT2	約 20	NA	NA	1.0018	なし
	MATE1	> 3	NA	NA	NA	なし
	MATE2-K	阻害せず	NA	NA	NA	なし
ACP-5862 [d]	P-gp	> 20	NA	NA	1.0006	なし
	BCRP	5.99	NA	NA	1.0020	なし
	OATP1B1	10.1	NA	NA	1.0012	なし
	OATP1B3	> 20	NA	NA	1.0006	なし
	OAT1	12.1	NA	NA	1.0001	なし
	OAT3	> 20	NA	NA	1.0006	なし
	OCT2	> 20	NA	NA	1.0006	なし
	MATE1	0.2	NA	NA	1.06	あり
	MATE2-K	> 3	NA	NA	1.004	なし

a　$R = [I]_g/IC_{50}$（p-gp/BCRP のカットオフ値 ≥ 10）

b　$R_{in\ free} = 1 + (f_{u,p} \times [I_{in\ max}]/K_i)$、$f_{u,p} = 1$ と仮定（OATP1B1/1B3 のカットオフ値 ≥ 1.1）

c　$R_{imax} = 1 + [非結合形\ C_{max}]/K_i$（OAT1/OAT3/OCT2 のカットオフ値 ≥ 1.1、MATE1/MATE2-K のカットオフ値 ≥ 1.02）

d　ACP-5862 の$[I]_g$及び$[I_{in\ max}]$は推定不能、ACP-5862 の非結合形 C_{max} は 0.012 μM

Source: XT138100、XT168092、XS-1144

2.6.4.7.4 CYP 誘導

2.6.4.7.4.1 ヒト肝細胞における CYP 誘導

概要表は 2.6.5.12.2 項及び 2.6.5.12.4 項参照。

ヒト初代培養肝細胞（ドナー3 名由来の肝細胞を個別に培養）を用い、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対するアカラブルチニブ及び ACP-5862 の誘導作用を評価した（試験 XT133111 及び XT163068）。RT-PCR 法により CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 発現量を測定した。

結果：

アカラブルチニブの酵素誘導評価の試験系において、陽性対照による CYP mRNA 発現量は適切に増加しており、試験系は妥当と考えられた。アカラブルチニブ濃度は最大 50 μM までの複数濃度で検討した。CYP1A2 の mRNA はアカラブルチニブ濃度依存的に増加した（ドナー別最大値は 50 μM で 32.9 倍）。一方、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA は最大 50 μM でそれぞれ最大 2.9 倍及び 2.44 倍の増加を示したが、10 μM（ヒトにアカラブルチニブ 100 mg 経口投与時の C_{max} [=1.45 μM]の約 6 倍）では CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA はほとんど又は全く誘導されなかった。CYP1A2 の mRNA は 1 μM（ヒト C_{max} と同程度）では約 2 倍、5 μM では 5.8 倍の増加であった（陽性対照オメプラゾールの 12%以下）。同じ試験条件下で CYP1A2 の mRNA はオメプラゾールにより 38 倍に増加したことから、アカラブルチニブによる CYP1A2 の誘導は強くないと考えられた。

ACP-5862 による CYP 誘導作用についても同様に検討した。ACP-5862 濃度 50 μM（ヒトにアカラブルチニブ 100 mg 経口投与時の ACP-5862 の C_{max} [=0.84 μM]の約 50 倍）で CYP1A2 及び CYP2B6 の mRNA は誘導されなかった。一方、CYP3A4 の mRNA は ACP-5862 濃度 10 μM で中程度の誘導作用（mRNA は 2.2～3.5 倍に増加、陽性対照リファンピシンの 2.3%～5.7%）を示したが、ACP-5862 濃度 10 μM はヒト C_{max} の約 10 倍である。したがって、ACP-5862 による臨床的に意味のある CYP 誘導作用はないと考えられた。

2.6.4.7.5 トランスポーターの基質となる可能性

2.6.4.7.5.1 P-gp 及び BCRP の基質となる可能性

概要表は 2.6.5.15.1 項、2.6.5.15.2 項及び 2.6.5.15.3 項参照。

アカラブルチニブ及び ACP-5862 が P-gp（MDR1）及び BCRP の基質かどうかを評価した（試験 XT138100、XT148083 及び XT168092）。MDCKII-MDR1 及び MDCKII-BCRP 細胞単層膜を用い、アカラブルチニブ及び ACP-5862 の基底膜側から頂端膜側（B-A）への膜透過性及び頂端膜側から基底膜側（A-B）への膜透過性を検討した。アカラブルチニブ（濃度 1、10、30 μM）及び ACP-5862（濃度 0.5、2、10、50 μM）の膜透過性を P-gp 及び BCRP 特異的阻害剤（それぞれ valspodar 及び Ko143）の存在又は非存在下で測定した。MDCKII-MDR1 及び MDCKII-BCRP 細胞における結果をそれぞれ表 26 及び表 27 に示す。

結果：

アカラブルチニブの MDCKII-MDR1 細胞における efflux ratio（B-A/ A-B 比）は、アカラブルチニブ濃度 1 μM で 42.4 と高い値を示し、阻害剤 valspodar（10 μM）存在下の efflux ratio は 0.935 に低下したことから、アカラブルチニブは P-gp の基質であることが示された。アカラブルチニブ濃度 10 及び 30 μM における efflux ratio も同程度であった。したがって、アカラブルチニブは

P-gp の基質であること、P-gp による排出は高濃度で飽和すること、P-gp 阻害剤でアカラブルチニブの排出は阻害されることが示された。

ACP-5862 の efflux ratio は、ACP-5862 濃度 10 μM で 57.0 であり、同濃度における阻害剤 valspodar（10 μM）存在下の efflux ratio は 1.92 に低下した。Valspodar 存在下の efflux ratio は検討したいずれの ACP-5862 濃度でも同程度であり、ACP-5862 は P-gp の基質であることが示された。

表 26　P-gp 基質：MDCKII-MDR1 細胞におけるアカラブルチニブ及び ACP-5862 の膜透過性

基質	基質濃度 (μM)	MDCKII-MDR1 細胞		
		P_{app} (1×10^{-6} cm/sec)		Efflux ratio (B-A/A-B)
		頂端膜→基底膜 (A-B)	基底膜→頂端膜 (B-A)	
アカラブルチニブ	1	1.86 ± 0.20	78.8 ± 3.2	42.4
	10	2.22 ± 0.09	80.7 ± 1.1	36.4
	30	1.96 ± 0.13	56.3 ± 0.8	28.7
	1 (+10 μM Valspodar)	24.1 ± 1.1	22.6 ± 1.6	0.935
	10 (+10 μM Valspodar)	18.0 ± 1.0	22.2 ± 1.6	1.24
	30 (+10 μM Valspodar)	16.5 ± 0.3	16.6 ± 1.7	1.01
ACP-5862	0.5	NA	67.8 ± 5.2	ND
	2	NA	60.3 ± 6.4	ND
	10	1.15 ± 0.00	65.4 ± 5.4	57.0
	50	2.28 ± 0.06	87.2 ± 6.2	38.3
	0.5 (+10 μM Valspodar)	18.1 ± 0.0	25.2 ± 2.5	1.39
	2 (+10 μM Valspodar)	13.5 ± 1.8	27.8 ± 2.0	2.05
	10 (+10 μM Valspodar)	15.3 ± 1.2	29.2 ± 2.9	1.92
	50 (+10 μM Valspodar)	23.7 ± 1.6	36.0 ± 4.1	1.52

P_{app}：見かけの透過係数
Source: XT138100, XT168092

アカラブルチニブの MDCKII-BCRP 細胞における efflux ratio は、アカラブルチニブ濃度 1、3 及び 10 μM でそれぞれ 6.36、8.44 及び 8.23 であった。阻害剤 Ko143（1 μM）存在下の efflux ratio はアカラブルチニブ濃度 1 μM で 2.25 に低下し、アカラブルチニブ濃度 10 及び 30 μM の efflux ratio も同程度であった。したがって、アカラブルチニブは BCRP の基質であり、BCRP 阻害剤でアカラブルチニブの排出は阻害されることが示された。

ACP-5862 の efflux ratio は、ACP-5862 濃度 0.5、2、10 及び 50 μM でそれぞれ 7.75、12.3、10.2 及び 3.23 であった。阻害剤 Ko143（1 μM）存在下の efflux ratio は 1.07～1.80 に低下した。したがって、ACP-5862 は BCRP の基質であることが示された。

表 27 BCRP 基質：MDCKII-BCRP 細胞におけるアカラブルチニブ及び ACP-5862 の膜透過性

基質	基質濃度 (μM)	MDCKII-BCRP 細胞		
		P_{app} (1×10^{-6} cm/sec)		Efflux ratio (B-A/A-B)
		頂端膜→基底膜 (A-B)	基底膜→頂端膜 (B-A)	
アカラブルチニブ	1	8.53 ± 0.49	54.2 ± 1.2	6.36
	3	5.36 ± 0.22	45.2 ± 2.4	8.44
	10	5.92 ± 0.38	48.7 ± 1.9	8.23
	1 (+1 μM Ko143)	19.0 ± 1.9	42.9 ± 8.7	2.25
	3 (+1 μM Ko143)	15.4 ± 1.3	35.0 ± 6.6	2.27
	10 (+1 μM Ko143)	16.9 ± 1.6	36.9 ± 8.5	2.18
ACP-5862	0.5	8.89 ± 1.59	68.9 ± 1.0	7.75
	2	4.67 ± 0.08	57.7 ± 1.3	12.3
	10	6.01 ± 0.16	61.2 ± 1.8	10.2
	50	22.9 ± 1.0	74.0 ± 4.8	3.23
	0.5 (+1 μM Ko143)	30.3 ± 1.7	44.4 ± 0.8	1.47
	2 (+1 μM Ko143)	24.5 ± 1.2	44.1 ± 1.7	1.80
	10 (+1 μM Ko143)	30.8 ± 1.5	40.6 ± 1.8	1.32
	50 (+1 μM Ko143)	46.2 ± 2.3	49.4 ± 3.7	1.07

Source: XT148083、XT168092

2.6.4.7.5.2 OATP1B1 及び OATP1B3 の基質となる可能性

概要表は 2.6.5.15.2 項及び 2.6.5.15.3 項参照。

アカラブルチニブ及び ACP-5862 が肝取り込みトランスポーターOATP1B1 及び OATP1B3 の基質かどうかを評価した（試験 XT148083 及び XT168092）。HEK293-OATP1B1 細胞、HEK293-OATP1B3 細胞及びコントロール（ベクター細胞）を用い、アカラブルチニブは濃度 1、10 及び 30 μM で 1、3 及び 10 分間インキュベーション、ACP-5862 は濃度 0.5、2、10 及び 50 μM で 1 及び 10 分間インキュベーションした。

結果：

HEK293-OATP1B1 細胞及び HEK293-OATP1B3 細胞におけるアカラブルチニブの最大取り込み比（コントロールに対する比）はそれぞれ 1.44 及び 0.918 であった。HEK293-OATP1B1 細胞における ACP-5862 の最大取り込み比は 1.66 であった。HEK293-OATP1B3 細胞における ACP-5862 の取り込み比は ACP-5862 濃度 10 μM の 10 分間インキュベーション（取り込み比 2.53）を除きいずれも 2 未満であった。したがって、薬物相互作用ガイドライン（EMA 2012、FDA 2017 及び MHLW 2018）に基づき、アカラブルチニブ及び ACP-5862 は OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないと考えられた。

2.6.4.7.5.3 OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質となる可能性

概要表は 2.6.5.15.2 項参照。

アカラブルチニブが腎取り込みトランスポーターOAT1、OAT3 及び OCT2 の基質かどうかを評価した（試験 XT148083）。HEK293-OAT1 細胞、HEK293-OAT3 細胞、HEK293-OCT2 細胞及

びコントロール（ベクター細胞）を用い、アカラブルチニブ濃度 1、10 及び 30 μM で 1 及び 2 分間インキュベーションした。

結果：

アカラブルチニブの HEK293-OAT1 細胞、HEK293-OAT3 細胞及び HEK293-OCT2 細胞における最大取り込み比はそれぞれ 1.26、1.83 及び 1.85 であった。薬物相互作用ガイドライン（EMA 2012、FDA 2017 及び MHLW 2018）に基づき、取り込み比はいずれも 2 未満であることから、アカラブルチニブは OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質ではないと考えられた。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1 安全性薬理試験における曝露量

概要表は 2.6.5.16.1 項参照。

イヌにおけるアカラブルチニブ経口投与後の心血管系への影響を評価した試験でアカラブルチニブの血漿中濃度を測定した（試験 594019）。アカラブルチニブ 3、10 及び 30 mg/kg を経口投与後 3 時間の血漿中濃度を表 28 に示す。

表 28　　イヌにアカラブルチニブ経口投与後 3 時間の血漿中濃度

投与量 (mg/kg)	血漿中濃度 (ng/mL)
3	188 ± 46
10	679 ± 37
30	3442 ± 792

平均値±SD（各群 n=4）
Source: 594019

2.6.4.9 考察及び結論

アカラブルチニブの薬物動態特性を *in vitro* 及び *in vivo* の非臨床薬物動態試験より評価した。

アカラブルチニブ単回投与後の薬物動態は、検討した全ての動物種で高いクリアランスを示し、クリアランス値は肝血流量の 95%～205%であった。経口投与後の $t_{½}$は短く、0.93 時間（マウス、絶食）～5.98 時間（サル、非絶食）であった。また吸収は速やかであり、大部分の t_{max} は 0.25～2 時間であった。経口投与時の絶食下における F は 9.9%（サル）～62%（マウス）であった。F に及ぼす食事の影響をイヌ及びサルで検討し、イヌにおける F は絶食時（53%）及び非絶食時（58%）で同程度であり、サルにおいても絶食時（9.9%）及び非絶食時（6.0%）で同程度であった。ヒト及び種々の動物種における血漿蛋白結合率はいずれも濃度非依存的でヒト血漿蛋白結合率は 97.5%であった。α1-AGP への結合率は高くなかった（41.1%）。

アカラブルチニブの主代謝酵素は CYP3A4/5 であった。主代謝経路並びに主代謝の逐次的又は組み合わせにより、二次代謝物及び三次代謝物が生成すると考えられた。主代謝経路は、2-アミノピリジン基が消失するアミド加水分解、ブチンアミド基の GSH 抱合、及び主にピロリジン環の水酸化であった。30 種類以上の代謝物がラット、イヌ及びヒトにおけるアカラブルチニブ経口投与後の血漿及び尿糞中に認められた。ヒト血漿中の主代謝物は ACP-5862（M27）であり、

ACP-5862 は CYP3A を介した酸化により生成した。ACP-5862 も主に CYP3A4/5 による代謝で消失した。

[^{14}C]-アカラブルチニブをラットに 100 mg/kg 及びイヌに 30 mg/kg 経口投与したとき、平均放射能回収率はそれぞれ 94%超及び 87%超であり、放射能の排泄は投与後 48 時間までにほぼ完了した。ラット及びイヌにおける投与後 96 時間の放射能の糞中排泄率はそれぞれ 88%超及び 69%超、尿中排泄率はそれぞれ約 3%及び 15%であった。

アカラブルチニブによる CYP 可逆的阻害の検討において、強く阻害される CYP 分子種はなかった。アカラブルチニブは CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5 を阻害したが、IC_{50} 値はそれぞれ 37 μM、28 μM 及び 69 μM/57 μM（ミダゾラム 1'-水酸化／テストステロン 6β-水酸化）であった。CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19 及び CYP2D6 に対する阻害作用は認められなかった（IC_{50} 値はいずれも 100 μM 超）。また、アカラブルチニブ代謝物は CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5 に対して弱い代謝依存的阻害作用を示し、CYP3A4/5 に対する阻害作用は不可逆的であった。しかしながら PBPK モデル解析では、併用する CYP3A4/5 基質の曝露量増加は臨床では生じないと予測された。

ヒト肝細胞を用いた CYP 誘導試験でアカラブルチニブは CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA をほとんど又は全く誘導しなかった。CYP1A2 については、アカラブルチニブ濃度 1 μM（ヒトにアカラブルチニブ 100 mg 経口投与時の C_{max} [1.45 μM]と同程度）で CYP1A2 mRNA が約 2 倍に増加したのみであり、アカラブルチニブによる CYP1A2 の誘導作用は強くないことが示唆された。

ヒト主代謝物 ACP-5862 は CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2D6 及び CYP3A4/5 に対して強い阻害作用を示さなかったが（IC_{50} 値はいずれも 20 μM 超）、CYP2C9（IC_{50} = 6.7 μM）及び CYP2C19（IC_{50} = 17 μM）には可逆的阻害作用を示した。ヒト肝細胞を用いた CYP 誘導試験から ACP-5862 による臨床的に意味のある CYP 誘導作用はないと考えられた。

アカラブルチニブによる AO の可逆的阻害は認められず（IC_{50} 値は 100 μM 超）、時間依存的阻害も認められなかった。

アカラブルチニブ及び ACP-5862 は UGT1A1 及び UGT2B7 の阻害剤ではなかった。

アカラブルチニブによる Caco-2 細胞のジゴキシン輸送阻害の IC_{50} 値は 98.3 μM であり、アカラブルチニブによる P-gp 阻害は強い阻害ではなかった。ヒトにアカラブルチニブ 100 mg 経口投与時の C_{max} に基づき、アカラブルチニブの血流を介した P-gp 阻害による相互作用は生じないと考えられた（C_{max}/IC_{50} = 0.015）。また、アカラブルチニブ 100 mg 経口投与では、消化管内の P-gp 阻害作用もないと考えられた（$[I]_g/IC_{50}$ = 8.75）。アカラブルチニブによる BCRP の強い阻害は認められず（IC_{50} 値は 40.9 μM）、血流を介した BCRP 基質の阻害はないと考えられた（C_{max}/IC_{50} = 0.04）。しかしながら、アカラブルチニブ 100 mg と BCRP 基質を併用経口投与した場合、消化管内の BCRP 阻害により BCRP 基質の曝露量は増加する可能性がある（$[I]_g/IC_{50}$ = 21.0）。OATP1B1 及び OATP1B3 に対する阻害作用はアカラブルチニブ濃度 20 μM でも認められなかった。OAT1 及び OAT3 に対する阻害作用は濃度 20 μM でも僅か（35%未満）であり、アカラブルチニブは OAT1 及び OAT3 を阻害しないと考えられた。OCT2 に対する阻害は、濃度 20 μM でも 59%であり、アカラブルチニブによる OCT2 阻害は強い阻害ではなかった。また、アカラブルチニブの MATE1 及び MATE2-K に対する阻害も強い阻害ではなかった。アカラブルチニブは OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 の基質ではなかった。アカラブルチニブは消化管内の BCRP 阻害により BCRP 基質の曝露量を増加させる可能性はあるが、他の併用薬（P-gp、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2 及び MATE2-K の基質）の薬物動態に影響はないと考えられた。

アカラブルチニブ 100 mg 投与で生成する ACP-5862 は、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2 又は MATE2-K の基質の薬物動態に影響しないと考えられた。ACP-5862 は MATE1 を阻害（IC_{50} = 0.2 μM）するが、ACP-5862 の尿中排泄量は投与量の 0.5%であることを考慮すると、相互作用の臨床的影響は限定的と考えられる。ACP-5862 は OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。

2.6.4.10 図表

図表は本文中に含めた。

2.6.4.11 参考文献

EMA 2012
European Medicines Agency (EMA). Guideline on the investigation of drug interactions [document on the internet]. Committee on Human Medicines Products (CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr.*); 2012, [cited 12 April 2017].
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/07/WC500129606.pdf

FDA 2017
Food and Drug Administration (FDA). Guidance for industry. In vitro metabolism- and transporter-mediated drug-drug interaction studies [draft document on the internet]. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration; October 2017 [cited 25 June 2019].
https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/vitro-metabolism-and-transporter-mediated-drug-drug-interaction-studies-guidance-industry

Podoll et al 2019
Podoll T, Pearson PG, Evarts J, Ingallinera T, Bibikova E, Sun H, et al. Bioavailability, biotransformation, and excretion of the covalent Bruton tyrosine kinase inhibitor acalabrutinib in rats, dogs, and humans. Drug Metab Dispos. 2019;47(2):145–154.

Yamazoe et al 1988
Yamazoe Y, Murayama N, Shimada M, Yamauchi K, Nagata K, Imaoka S, et al. A sex-specific form of cytochrome P-450 catalyzing propoxycoumarin O-depropylation and its identity with testosterone 6 beta-hydroxylase in untreated rat livers: reconstitution of the activity with microsomal lipids. J Biochem (Tokyo) 1988;104:785–790.

Zhou et al 2019
Zhou D, Podoll T, Xu Y, Moorthy G, Vishwanathan K, Ware J, et al. Evaluation of the drug-drug interaction potential of acalabrutinib and its active metabolite, ACP-5862, using a physiologically-based pharmacokinetic modeling approach. CPT Pharmacometrics Sys Pharmacol. 2019;8:489–499.

第 2 部　CTD の概要

一般名：アカラブルチニブ

版番号：[redacted]

2.6.5　薬物動態試験概要表
カルケンス®カプセル

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

目次 2
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 4
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 8
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 9
2.6.5.3.1 マウス 9
2.6.5.3.1.1 CD-1 マウス 9
2.6.5.3.1.2 BALB/c マウス 11
2.6.5.3.2 ラット 13
2.6.5.3.3 イヌ 15
2.6.5.3.4 サル 17
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 19
2.6.5.4.1 マウス 19
2.6.5.4.2 ラット 21
2.6.5.4.3 イヌ 24
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 27
2.6.5.5.1 組織内分布（白色ラット定量的全身オートラジオグラフィー） 27
2.6.5.5.2 組織内分布（有色ラット定量的全身オートラジオグラフィー） 32
2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合 35
2.6.5.6.1 血漿蛋白結合 35
2.6.5.6.2 血漿蛋白結合／血球移行 36
2.6.5.6.3 血漿蛋白結合（代謝物 ACP-5862） 39
2.6.5.6.4 血球移行（代謝物 ACP-5862） 40
2.6.5.6.5 血漿蛋白結合（ヒト） 41
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 42
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 44
2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 45
2.6.5.9.1 血漿中代謝物組成 45
2.6.5.9.2 血漿、尿及び糞中代謝物組成（ラット及びイヌ） 48
2.6.5.9.3 血漿、尿及び糞中代謝物組成（ヒト） 53
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 55
2.6.5.10.1 ヒト肝ミクロソームにおける *in vitro* 代謝 55
2.6.5.10.2 ヒト肝ミクロソーム及びヒト CYP 酵素における *in vitro* 代謝 56
2.6.5.10.3 ヒト肝細胞質及びヒトグルタチオン転移酵素による *in vitro* 代謝 59
2.6.5.10.4 代謝物 ACP-5862 生成に関与する CYP 65
2.6.5.10.5 代謝物 ACP-5862 の代謝に関与する CYP 68

2.6.5.10.6 *In vitro* 及び *in vivo* 代謝物組成 71
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 75
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 77
2.6.5.12.1 CYP 阻害 77
2.6.5.12.2 CYP 誘導 80
2.6.5.12.3 CYP 阻害（代謝物 ACP-5862） 82
2.6.5.12.4 CYP 誘導（代謝物 ACP-5862） 85
2.6.5.12.5 アルデヒドオキシダーゼ阻害 87
2.6.5.12.6 UGT1A1 及び UGT2B7 阻害 88
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 89
2.6.5.13.1 ラット 89
2.6.5.13.2 イヌ 91
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 93
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 95
2.6.5.15.1 各種トランスポーターの阻害剤及び P-gp(MDR1)の基質となる可能性 95
2.6.5.15.2 各種トランスポーターの基質となる可能性 99
2.6.5.15.3 各種トランスポーターの阻害剤及び基質となる可能性（代謝物 ACP-5862） . 107
2.6.5.15.4 MATE1 及び MATE2-K の阻害剤となる可能性 118
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 120
2.6.5.16.1 安全性薬理試験におけるアカラブルチニブの曝露量 120

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

被験物質：アカラブルチニブ、ACP-5862

Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	GLP	Study number	Location
Absorption single-dose						
Single-dose Pharmacokinetics	Mouse	Intravenous and oral gavage	[redacted], US	No	2219-002	4.2.2.2.1
Single-dose Pharmacokinetics	Mouse	Intravenous and oral gavage	[redacted], India	No	0112-0001	4.2.2.2.2
Single-dose Pharmacokinetics	Rat	Intravenous and oral gavage	[redacted], US	No	2219-003	4.2.2.2.3
Single-dose Pharmacokinetics	Dog	Intravenous and oral gavage	[redacted], US	No	2219-001	4.2.2.2.4
Single-dose Pharmacokinetics	Monkey	Intravenous and oral gavage	[redacted], US	No	2219-004	4.2.2.2.5
Absorption repeat-dose						
28-day toxicity/toxicokinetics study	Mouse	Oral gavage	[redacted], US	No	2219-053	4.2.3.2.1
6-month toxicity/toxicokinetics study	Rat	Oral gavage	[redacted], US	Yes	2219-084	4.2.3.2.9
9-month toxicity/toxicokinetics study	Dog	Oral capsule	[redacted], US	Yes	2219-098	4.2.3.2.12
Organ Distribution						
Tissue distribution	Rat (Sprague-Dawley)	Oral gavage	[redacted], UK	No	ESN0329	4.2.2.3.6
Tissue distribution	Rat (Long Evans)	Oral gavage	[redacted], US	No	8338525	4.2.2.5.1
Plasma Protein Binding						
In vitro protein binding: Preliminary	Mouse, rat, dog, monkey and human	*In vitro*	[redacted], Japan	No	XS-0478	4.2.2.3.1

Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	GLP	Study number	Location
In vitro protein binding/ blood cell partitioning	Mouse, rat, dog, monkey and human	*In vitro*	[redacted], Japan	No	XS-0850	4.2.2.3.2
In vitro protein binding Metabolite ACP-5862	Mouse, rat, dog, and human	*In vitro*	[redacted], Japan	No	XS-0912	4.2.2.3.3
In vitro blood cell partitioning Metabolite ACP-5862	Mouse, rat, dog, and human	*In vitro*	[redacted], Japan	No	XS-0947	4.2.2.3.4
In vitro protein binding: Preliminary	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	8320560	4.2.2.3.5
Study in Pregnant or Nursing Animals						
Maternal-fetal transfer and lactation transfer	Rat	Oral gavage	[redacted], US	No	R2017011	4.2.2.3.7
Other Distribution Study						
None						
Metabolism *In Vivo*						
In vivo plasma metabolite profiling	Rat, dog, human; pooled plasma by species	Intravenous (rat) Oral (dog and human)	[redacted], US	No	8320562	4.2.2.4.7
In vivo [^{14}C] metabolite profiling	Rat, dog	Oral	[redacted], US	No	8340639	4.2.2.4.8
In vivo [^{14}C] metabolite profiling	Human	Oral	[redacted], US	No	8341070	4.2.2.4.9
Metabolism *In Vitro*						
In vitro metabolite biosynthesis	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	8335668	4.2.2.4.2
In vitro metabolism: Cytochrome P450 reaction phenotyping	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT134082	4.2.2.4.3
In vitro metabolism: Glutathione S-transferase phenotyping	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT154040	4.2.2.4.6

Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	GLP	Study number	Location
In vitro metabolism: ACP-5862 enzyme kinetics	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT164038	4.2.2.4.4
In vitro metabolism: ACP-5862 phenotyping	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT164096	4.2.2.4.5
Possible metabolic pathways						
In vitro and *in vivo* metabolism: Hepatocyte incubations, plus rat and dog preliminary *in vivo* ADME	Mouse, rat, rabbit, dog, monkey and human	*In vitro*; and *in vivo*: intravenous and oral gavage	[redacted], UK	No	ESN0330	4.2.2.4.1
Induction/Inhibition of Drug-Metabolizing Enzymes						
In vitro metabolism: Reversible and time-dependent cytochrome P450 inhibition	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT135097	4.2.2.6.3
In vitro metabolism: Induction of cytochrome P450	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT133111	4.2.2.6.4
Reversible and time-dependent cytochrome P450 inhibition Metabolite ACP-5862	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT165071	4.2.2.6.6
Induction of cytochrome P450 Metabolite ACP-5862	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT163068	4.2.2.6.7
In vitro metabolism: Inhibition of aldehyde oxidase	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT145007	4.2.2.6.1
In vitro metabolism: Inhibition of UGT1A1 and UGT2B7	Human	*In vitro*	[redacted], China	No	BS001953-23	4.2.2.6.8
Excretion						
ADME following [^{14}C]acalabrutinib	Rat	Oral gavage	[redacted], US	No	8338525	4.2.2.5.1
ADME following [^{14}C]acalabrutinib	Dog	Oral gavage	[redacted], US	No	8338526	4.2.2.5.2
Excretion into Bile						

Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	GLP	Study number	Location
Radioactive recovery in plasma, urine, and bile	Rat and dog	Oral gavage and intravenous	[redacted], UK	No	ESN0330	4.2.2.4.1
Drug-Drug Interactions						
Evaluation of acalabrutinib as a substrate and an inhibitor of drug transporters	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT138100	4.2.2.6.2
Evaluation of acalabrutinib as a substrate of drug transporters	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT148083	4.2.2.6.5
Evaluation of ACP-5862 as a substrate and inhibitor of transporters	Human	*In vitro*	[redacted], US	No	XT168092	4.2.2.6.9
Evaluation of acalabrutinib and ACP-5862 as inhibitors of MATE1 and MATE2-K	Human	*In vitro*	[redacted], Japan	No	XS-1144	4.2.2.6.10
Other						
Acalabrutinib exposure in safety pharmacology study	Dog	Oral gavage	[redacted], US	Yes	594019	4.2.1.3.6

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

被験物質：アカラブルチニブ

Species/ Sample matrix	Analyte	Validation range	Type of assay	Noteworthy findings (Precision and accuracy validation)	Analytical method validation report number	Non-clinical study number (Protocol/ report[s])
Mouse plasma with sodium fluoride/ potassium oxalate	ACP-196	1-1000 ng/mL	LC-MS/MS	Precision ≤15.0% Accuracy ±15.0%	2219-051	2219-044 [a]
Supernatant of heparin rat blood	ACP-196	10-10,000 ng/mL	LC-MS/MS	Precision ≤15.0% Accuracy ±15.0%	502782	502513 [a] 503445
Rat plasma with sodium fluoride/ potassium oxalate	ACP-196	1-1000 ng/mL	LC-MS/MS	Precision ≤15.0% Accuracy ±15.0%	2219-012	2219-010 [a], 2219-041 2219-029, 2219-049 2219-050, 2219-084, 2219-088 [a]
Rabbit plasma with K_2 EDTA	ACP-196	1-1000 ng/mL	LC-MS/MS	Precision ≤15.0% Accuracy ±15.0%	2219-033	2219-075 [a]
Supernatant of heparin dog blood	ACP-196	10-10,000 ng/mL	LC-MS/MS	Precision ≤15.0% Accuracy ±15.0%	502793	502515 [a], 503445 594019
Dog plasma with K_2EDTA	ACP-196	5-5,000 ng/mL	LC-MS/MS	Precision ≤15.0% Accuracy ±15.0%	2219-017	2219-026, 2219-030, 2219-020 [a]

a. indicates incurred sample re-analysis performed

Abbreviations: LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3.1 マウス

2.6.5.3.1.1 CD-1 マウス

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：2219-002

Type of Study: Pharmacokinetics of ACP-196 following a single intravenous or oral administration to CD-1 mice	
Species and strain:	Mouse, Crl:CD1
Number of animals/Gender:	57 males (3 animals per time point per route); 30 males intravenous and 27 males oral
Feeding condition:	Fed
Test compound:	ACP-196
Route of administration:	Intravenous or oral
Dose:	2 mg/kg intravenous or 5 mg/kg oral
Vehicle/Formulation:	Intravenous: 5% DMSO (v/v), 15% PEG400 (v/v) in 5% mannitol in water for injection Oral: ACP-196 Free Base 0.4% hydroxypropyl methylcellulose (w/v) and 0.2% Tween 80 (v/v) in deionized water (pH 3-9)
Sample:	Plasma
Analyte:	ACP-196
Analytical method:	Plasma was analyzed by precipitating with acetonitrile and detection with LC-MS/MS.

Mean plasma ACP-196 PK parameters:

Parameter (Unit)	2 mg/kg (IV)	5 mg/kg (oral)	
T_{max} (h)	NA	0.25	
C_0/C_{max} (ng/mL)	1400	81.2	
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)	229	71.9	
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	228	71.8	
$t_{1/2}$ (h)	0.299	1.4	
CL (L/h/kg)	8.76	NA	
V_{ss} (L/kg)	1.83	NA	
Bioavailability (%)	NA	13	

Abbreviations: AUC_{0-24h}= area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$ = area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to infinity; CL = clearance; C_{max} = peak plasma concentration; h = hour; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not available/not determined; $t_{1/2}$ = terminal phase half-life; T_{max} = time to peak plasma concentration; V_{ss} = volume of distribution.

Additional information: Samples were collected from Group 1 pre-dose, and at 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 and 24 hours postdose. Samples were collected from Group 2 pre-dose and at 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 and 24 hours postdose (note the earliest oral collection time limits bioavailability).

Study conducted by: [redacted]

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.3.1.2 BALB/c マウス

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：0112-0001

Type of Study: Pharmacokinetics of ACP-196 following a single intravenous or oral administration to BALB/c mice	
Species and strain:	Mouse, BALB/c
Number of animals/Gender:	24 females (12 animals per route)
Feeding condition:	4 hours fasted
Test compound:	ACP-196
Route of administration:	Intravenous or oral
Dose:	2 mg/kg intravenous or 5 mg/kg oral
Vehicle/Formulation:	Intravenous: 5 % DMSO (v/v), 15% PEG400 (v/v) in 5% mannitol in MilliQ water Oral: 0.4% hydroxypropyl methylcellulose (w/v) and 0.2% Tween 80 (v/v) in MilliQ water
Sample:	Plasma
Analyte:	ACP-196
Analytical method:	Plasma was analyzed by precipitating with acetonitrile and detection with LC-MS/MS.

Mean plasma ACP-196 PK parameters:

Parameter (Unit)	2 mg/kg (IV)	5 mg/kg (oral)	
T_{max} (h)	NA	0.08	
C_{max} (ng/mL)	488	220	
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	137	206	
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	138	213	
$t_{1/2}$ (h)	0.16	0.93	
CL (L/hr/kg)	14.5	NA	
V_{ss} (L/kg)	1.99	NA	
Bioavailability (%)	NA	61.8	

Abbreviations: AUC_{0-t}= area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to time (t); $AUC_{0-\infty}$ = area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to infinity; CL = clearance; C_{max} = peak plasma concentration; h = hour; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not available/not determined; $t_{1/2}$ = terminal phase half-life; T_{max} = time to peak plasma concentration; V_{ss} = volume of distribution.

Additional information: Data are mean values and present time points for blood samples collected at the following time points:

PO: 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 and 24 hours (note the earliest oral collection time results in higher bioavailability relative to Study 2219-002)

IV: 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 and 24 hours

Study conducted by: [redacted]

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.3.2 ラット

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：2219-003

Type of Study: Pharmacokinetics of ACP-196 following a single intravenous or oral administration to rats	
Species and strain:	Rat, Sprague-Dawley
Number of animals/Gender:	9 males (3 animals per treatment group)
Feeding condition:	Fed
Test compound:	ACP-196 as free base (n=3 intravenous and n=3 oral) or maleate salt (n=3 oral)
Route of administration:	Intravenous or oral gavage
Dose:	2 mg/kg intravenous or 5 mg/kg oral
Vehicle/Formulation:	Intravenous: 5% DMSO (v/v), 15% PEG400 (v/v) in 5% mannitol in sterile water for injection Oral: 0.4% hydroxypropyl methylcellulose (w/v) and 0.2% Tween 80 (v/v) in deionized water (pH 3-9)
Sample:	Plasma
Analyte:	ACP-196
Analytical method:	Plasma was analyzed by precipitating with acetonitrile and detection with LC-MS/MS.

Mean plasma PK parameters:

Parameter (Unit)	ACP-196 free base 2 mg/kg (IV)	ACP-196 free base 5 mg/kg (oral)	maleate salt 5 mg/kg (oral)	
T_{max} (h)	NA	0.25	0.25	
C_0 or C_{max} (ng/mL)	1550	103	125	
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)	298	155	172	
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	300	154	170	
$t_{1/2}$ (h)	2.74	1.76	2.03	
CL (L/h/kg)	6.78	NA	NA	
V_{ss} (L/kg)	3.35	NA	NA	
Bioavailability (%)	NA	21	23	

Abbreviations: AUC_{0-24h}= area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$ = area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to infinity; CL = clearance; C_{max} = peak plasma concentration; h = hour; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not available/not determined; $t_{1/2}$ = terminal phase half-life; T_{max} = time to peak plasma concentration; V_{ss} = volume of distribution.

Additional information: PK parameters presented as mean. Plasma from 3 animals/time point were obtained in the IV arm at: 0, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, and 24 hours postdose. Plasma from 3 animals/time point were obtained in the oral arm at: 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 24 hours postdose.

Study conducted by: [redacted]

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.3.3 イヌ

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：2219-001

Type of Study: Pharmacokinetics of ACP-196 following a single intravenous or oral administration to dogs	
Species and strain:	Dog, Beagle
Number of animals/Gender:	9 males (3 animals per treatment group)
Feeding condition:	Group 1 and 2 animals were fasted for at least 8 hours prior to dosing and though the first 4 hours of blood sample collection (food was returned within 30 minutes following collection of the last blood sample at the 4 hours collection interval). Group 3 animals were not fasted prior to dosing.
Test compound:	ACP-196
Route of administration:	Intravenous or oral
Dose:	1 mg/kg intravenous or 2.5 mg/kg oral
Vehicle/Formulation:	Intravenous: 5% DMSO (v/v), 15% PEG400 (v/v) in 5% mannitol in water for injection Oral: 0.4% hydroxypropyl methylcellulose (w/v) and 0.2% Tween 80 (v/v) in deionized water (pH 3-9)
Sample:	Plasma
Analyte:	ACP-196
Analytical method:	Plasma was analyzed by precipitating with acetonitrile and detection with LC-MS/MS.

Mean plasma ACP-196 PK parameters:

Parameter (Unit)	Group 1 Fasted 1 mg/kg (IV)	Group 2 Fasted 2.5 mg/kg (oral)	Group 3 Fed 2.5 mg/kg (oral)	
T_{max} (h)	NA	0.5	0.5	
Co/C_{max} (ng/mL)	613	388	377	
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)	565	753	744	
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	566	751	823	
$t_{1/2}$ (h)	0.941	1.76	2.59	
CL (L/h/kg)	1.77	NA	NA	
V_{ss} (L/kg)	1.90	NA	NA	
Bioavailability (%)	NA	53	58	

Abbreviations: AUC_{0-24h}= area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$ = area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to infinity; CL = clearance; C_{max} = peak plasma concentration; DMSO = dimethylsulfoxide; h = hour; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not available/not determined; $t_{1/2}$ = terminal phase half-life; T_{max} = time to peak plasma concentration; V_{ss} = volume of distribution.

Additional information: PK parameters presented as mean. Plasma from 3 animals/time point were obtained in the IV arm at: 0, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, and 24 hours postdose. Plasma from 3 animals/time point were obtained in the oral arm at: 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, and 24 hours postdose.

Study conducted by: [redacted]

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.3.4 サル

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：2219-004

Type of Study: Pharmacokinetics of ACP-196 following a single intravenous or oral administration to monkeys	
Species and strain:	Monkey, cynomolgus
Number of animals/Gender:	9 males (3 animals per treatment group)
Feeding condition:	Fasted up to 12 hours (for intravenous dosing and oral dosing)
Test compound:	ACP-196
Route of administration:	Intravenous or oral
Dose:	1 mg/kg intravenous or 2.5 mg/kg oral
Vehicle/Formulation:	Intravenous: 5% DMSO (v/v), 15% PEG400 (v/v) in 5% mannitol in water for injection Oral: 0.4% hydroxypropyl methylcellulose (w/v) and 0.2% Tween 80 (v/v) in deionized water (pH 3-9)
Sample:	Plasma
Analyte:	ACP-196
Analytical method:	Plasma was analyzed by precipitating with acetonitrile and detection with LC-MS/MS.

Mean plasma ACP-196 PK parameters:

Parameter (Unit)	Fasted 1 mg/kg (IV)	Fasted 2.5 mg/kg (oral)	Fed 2.5 mg/kg (oral)
T_{max} (h)	-	0.5	2
C_{max} (ng/mL)	2440[a]	103	11.1
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)	485	123	68.6
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	484	119	72.4
$t_{1/2}$ (h)	0.61	0.79	5.98
CL (L/h/kg)	2.97	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	1.32	NA	NA
Bioavailability (%)	NA	9.9	6.0

a. Concentration calculated at time zero (C_0)

Abbreviations: AUC_{0-24h}= area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to 24 hours; $AUC_{0-\infty}$ = area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to infinity; CL = clearance; C_{max} = peak plasma concentration; h = hour; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M = male; NA = not available/not determined; $t_{1/2}$ = terminal phase half-life; T_{max} = time to peak plasma concentration; V_{ss} = volume of distribution.

Additional information: PK parameters presented as means. Plasma from 3 animals/time point were obtained in the IV arm at: 0, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, and 24 hours postdose. Plasma from 3 animals/time point were obtained in the oral arm at: 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 10, 12, and 24 hours postdose.

Study conducted by: [redacted]

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.5.4.1 マウス

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：2219-053

Type of Study: Pharmacokinetics of ACP-196 following repeat oral administration to mice for 28 days	
Species and strain:	Mouse, Crl:CD1
Number of animals/Gender:	162 (27 males and 27 females per dose level)
Feeding condition:	Fed
Test compound:	ACP-196
Route of administration:	Oral gavage
Dose:	10, 30, and 100 mg/kg
Vehicle/Formulation:	ACP-196 in 0.4% Hypromellose 2910 5 mPas (DOW, Methocel E5 Premium LV) (w:v) and 0.2% Polysorbate 80 (Tween 80) (w:v) in NANOpure Diamond UV Ultrapure water
Sample:	Plasma
Analyte:	ACP-196
Analytical method:	Plasma was analyzed by precipitating with acetonitrile and detection with LC-MS/MS.

Mean plasma ACP-196 PK parameters:

Dose (mg/kg)	10	30	100
Animals	Males + Females (n=27+27)	Males + Females (n=27+27)	Males + Females (n=27+27)
Parameter (Unit)			
Day 1			
T_{last} (h)	6	6	6
T_{max} (h)	0.25	0.25	0.25
C_{max} (ng/mL)	499	1490	6320
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	49.9	49.6	63.2
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	444	930	5470
AUC_{0-6h} (ng•h/mL)	444	930	5470
AUC_{all} (ng•h/mL)	444	930	5470
AUC_{all}/Dose (kg•ng•h/mL/mg)	44.4	31.0	54.7
Day 28			
T_{last} (h)	6	12	12
T_{max} (h)	0.25	0.25	0.25
C_{max} (ng/mL)	678	2100	8580
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	67.8	70.1	85.8
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	434	1660	7710
AUC_{0-6h} (ng•h/mL)	435	1590	7280
AUC_{all} (ng•h/mL)	459	1660	7710
R	0.98	1.71	1.33

Abbreviations: AUC_{last} = area under the concentration-time curve from 0 to last quantifiable time-point; AUC_{0-6}= area under the concentration-time curve from 0 to 6 hours; AUC_{all} = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 6 hours on Day 1 and 0 to 12 hours on Day 28; C_{max} = maximum observed concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not available/not determined; T_{last} = time of last quantifiable sample; T_{max} = time to maximum observed concentration

Note: R (accumulation ratio) = $AUC_{0-6h\ Day\ 28}/AUC_{0-6h\ Day\ 1}$;

Additional information: Pharmacokinetic parameters presented as mean values derived from blood (plasma) collection on Days 1 and 28 from 3 control animals/sex at approximately 0.5 hours postdose, and from 3 treated animals/sex/group at approximately 0.25, 0.5, 2, 6, and 12 (Day 28 only) hours postdose.

Study conducted by: [redacted]

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.4.2 ラット

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：2219-084

Type of Study: Pharmacokinetics of ACP-196 following repeat daily oral administration to rats for 26 weeks	
Species and strain:	Rat, Wistar Han
Number of animals/Gender:	84 (14 males and 14 females per dose level)
Feeding condition:	Fasted overnight
Test compound	ACP-196
Route of administration:	Oral gavage
Dose:	30, 100, and 300 mg/kg
Vehicle/Formulation:	Suspension of ACP-196 free base in 0.4 % Hypromellose 2910 5 mPas (DOW, Methocel E5 Premium LV) (w:v) and 0.2% Polysorbate 80 (Tween 80)
Sample:	Plasma
Analyte:	ACP-196
Analytical method:	Plasma was analyzed by precipitating with acetonitrile and detection with LC-MS/MS.

Mean plasma ACP-196 PK parameters:

Dose (mg/kg)	30		100		300/200	
Animals	Male (n=14)	Female (n=14)	Male (n=14)	Female (n=14)	Male (n=14)	Female (n=14)
Parameter (Unit)						
Day 1						
T_{last} (h)	24	24	24	24	24	24
T_{max} (h)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5
C_{max} (ng/mL)	948	1190	1470	2590	3070	6050
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	31.6	39.7	14.7	25.9	10.2	20.2
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	1250	2320	4280	9890	16200	26000
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	1250	2320	4280	9890	16200	26000
$AUC_{0\text{-}24h}$/Dose (kg•ng•h/mL/mg)	41.5	77.2	42.8	98.9	54.2	86.6
F:M	NA	1.86	NA	2.31	NA	1.60
Day 28						
T_{last} (h)	12	24	24	24	24	24
T_{max} (h)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.50
C_{max} (ng/mL)	841	1330	2900	4000	4180	6370
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	28.0	44.2	29.0	40.0	20.9	31.8
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	1220	2260	5160	8520	11600	17000
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	1300	2260	5160	8520	11600	17000
$AUC_{0\text{-}24h}$/Dose (kg•ng•h/mL/mg)	43.5	75.2	51.6	85.2	57.8	85.0
F:M	NA	1.73	NA	1.65	NA	1.47
R	1.05	0.974	1.21	0.862	NA	NA
Day 91						
T_{last} (h)	12	12	24	24	24	24
T_{max} (h)	0.25	0.25	0.25	0.30	0.25	0.25
C_{max} (ng/mL)	1120	1370	4160	6740	5690	7380
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	37.2	45.6	41.6	67.4	28.5	36.9
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	1170	1660	8130	10400	13300	15700
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	1200	1720	8130	10400	13300	15700

Dose (mg/kg)	30		100		300/200	
Animals	Male (n=14)	Female (n=14)	Male (n=14)	Female (n=14)	Male (n=14)	Female (n=14)
$AUC_{0\text{-}24h}$/Dose (kg•ng•h/mL/mg)	40.0	57.2	81.3	104	66.4	78.5
F:M	NA	1.43	NA	1.28	NA	1.18
R	0.964	0.741	1.90	1.05	NA	NA
Day 182						
T_{last} (h)	24	24	24	24	24	24
T_{max} (h)	0.32	0.32	0.25	0.31	0.50	0.57
C_{max} (ng/mL)	763	1640	2510	3820	3110	6920
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	25.4	54.7	25.1	38.2	15.6	34.6
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	1150	2010	4760	8130	7930	13100
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	1150	2010	4760	8130	7930	13100
$AUC_{0\text{-}24h}$/Dose (kg•ng•h/mL/mg)	38.5	67.2	47.6	81.3	39.6	65.4
F:M	NA	1.75	NA	1.71	NA	1.65
R	0.926	0.870	1.11	0.823	NA	NA

Abbreviations: AUC_{last} = area under the concentration-time curve from 0 to last quantifiable time-point; $AUC_{0\text{-}24}$= area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours; $AUC_{0\text{-}24h}$/D= area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours/Dose; C_{max} = maximum observed concentration; C_{max}/D = maximum observed concentration/dose; F:M = female to male AUC ratio ($AUC_{0\text{-}24F}$/$AUC_{0\text{-}24M}$); LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not applicable; T_{max} = time to maximum observed concentration

Note: R (accumulation ratio) =$AUC_{0\text{-}24h\ Day\ 28,\ 91,\ or\ 182}$/$AUC_{0\text{-}24h\ Day\ 1}$

Additional information: PK Parameters presented as mean values derived from blood (plasma) collection.

Study conducted by: [redacted]

Study in compliance with GLP: Yes

2.6.5.4.3 イヌ

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：2219-098

Type of Study: Pharmacokinetics of ACP-196 following repeat oral capsule administration to dogs for 9 months	
Species and strain:	Dog, Beagle
Number of animals/Gender:	28 (7 males and 7 females per dose level)
Feeding condition:	• Animals will be fasted overnight daily. • Food will be available in the morning for 1 hour +/-15 minutes. • Food will be removed 2 hours +/-15 minutes prior to dosing. • Food will be returned 2 hours +/-15 minutes postdose, except for toxicokinetic collection days when the food will be returned 4 hours +/-15 minutes postdose. • Food will be removed after at least 4 hours (eg at least 8 hours post dose). • The time at which food is available or removed will be based on the first animal's dose time.
Test compound	ACP-196
Route of administration:	Oral capsule
Dose:	10 and 30 mg/kg
Vehicle/Formulation:	Neat test article in gelatin capsules (size # 12)
Sample:	Plasma
Analyte:	ACP-196
Analytical method:	Plasma was analyzed by precipitating with acetonitrile and detection with LC-MS/MS.

Mean plasma ACP-196 PK parameters:

Dose (mg/kg)	10	30
Animals	Males + Females (n=14)	Males + Females (n=14)
Parameter (Unit)		
Day 1		
T_{last} [a] (h)	8 (8 – 8)	8 (8 – 8)
T_{max} [a] (h)	2 (0.5 – 4)	2 (1 – 4)
C_{max} (ng/mL)	1640	6810
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	164	227
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	3540	16300
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	4000	17500
$AUC_{0\text{-}24h}$/Dose (kg•ng•h/mL/mg)	400	584
Day24		
T_{last} [a] (h)	8 (8 – 24)	8 (8 – 24)
T_{max} [a] (h)	NA (0.5 – 24)	1 (0.5 – 2)
C_{max} (ng/mL)	1680	6610
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	168	220
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	3800	14800
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	4230	15500
$AUC_{0\text{-}24}$/Dose (kg•ng•h/mL/mg)	423	517
R [b]	1.11	0.907
Day 87		
T_{last} [a] (h)	8 (8 – 8)	8 (8 – 8)
T_{max} [a] (h)	NA (0.5 – 4)	2 (1 – 4)
C_{max} (ng/mL)	1780	6620
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	178	221
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	3860	16300
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	4170	17600
$AUC_{0\text{-}24h}$/Dose (kg•ng•h/mL/mg)	417	587
R [b]	1.09	1.02
Day 178		

Dose (mg/kg)	10	30
Animals	Males + Females (n=14)	Males + Females (n=14)
T_{last} [a] (h)	8 (6 – 24)	8 (6 – 24)
T_{max} [a] (h)	1 (0.5 – 4)	NA (0.5 – 2)
C_{max} (ng/mL)	2610	5560
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	261	185
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	4940	16200
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)	5320	16800
AUC_{0-24h}/Dose (kg•ng•h/mL/mg)	532	561
R [b]	1.40	0.998
Day 269		
T_{last} [a] (h)	8 (8 – 24)	8 (8 – 24)
T_{max} [a] (h)	1 (0.5 – 2)	2 (1 – 6)
C_{max} (ng/mL)	1880	4950
C_{max}/Dose (kg•ng/mL/mg)	188	165
AUC_{Tlast} (ng•h/mL)	4740	15700
AUC_{0-24h} (ng•h/mL)	5050	17400
AUC_{0-24h}/Dose (kg•ng•h/mL/mg)	505	580
R [b]	1.31	1.01

a Median (minimum – maximum), median value only reported if actual collection interval

b R (accumulation ratio) = $AUC_{0-24h\ Day\ 24\ or\ 87\ or\ 178\ or\ 269}/AUC_{0-24h\ Day\ 1}$

Abbreviations: AUC_{Tlast} = area under the concentration-time curve from 0 to last quantifiable time-point; AUC_{0-24h}= area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose; AUC_{0-24}/Dose = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, dose normalized to 1 mg/kg; C_{max} = maximum observed concentration; C_{max}/Dose = maximum observed concentration dose normalized to 1 mg/kg; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not applicable; T_{last} = time of final quantifiable sample; T_{max} = time to maximum observed concentration

Additional information: Pharmacokinetic parameters are presented as means from blood (plasma) collection on Days 1, 24, 87, 178, and 269 at approximately 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, and 24 hours postdose.

Study conducted by: [redacted]

Study in compliance with GLP: Yes

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1 組織内分布（白色ラット定量的全身オートラジオグラフィー）

被験物質：アカラブルチニブ

試験番号：ESN0329

Type of Study: Tissue distribution of total radioactivity in the rat following oral administration QWBA (quantitative whole body autoradiography)	
Species:	Sprague-Dawley rat
Gender (M/F) / No. of Animals:	5 males, 5 females
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.4% w/v hydroxypropylmethylcellulose and 0.2% w/v Tween 80
Method of Administration:	Oral gavage
Dose (mg/kg):	4 mg/kg
Radionuclide:	[^{14}C]ACP-196
Specific Activity:	1.84 GBq/mmol (49.6 mCi/mmol)
Sampling Time:	0.25, 1, 24, 72 and 168 hours postdose
Analyte / Assay:	[^{14}C]ACP-196; Liquid Scintillation Counting and Autoradiography

Concentrations of radioactivity (µg equivalents/g) in male rat tissues determined by quantitative whole body autoradiography

Tissue Type	Tissue Organ	0.25 h	1 h	24 h	72 h	168 h
Circulatory	Aorta	0.150	0.180	0.038	0.023	0.020
	Plasma [a]	0.179	0.187	0.009	BLQ	BLQ
	Whole-blood (cardiac)	0.172	0.110	0.100	0.099	0.071
	Vena cava	0.205	0.090	0.051	0.043	0.025
Nervous	Brain	BLQ	0.012	BLQ	BLQ	BLQ
	Pineal body	0.119	0.072	NS	NS	NS
	Spinal cord	BLQ	BLQ	0.010	BLQ	BLQ
Ocular	Eye (lens)	BLQ	BLQ	0.015	BLQ	BLQ
Visceral organs	Kidney cortex	0.629	0.608	0.125	0.081	0.045
	Kidney outer medulla	0.759	1.76	0.252	0.170	0.053
	Kidney inner medulla	0.296	0.219	0.030	0.025	0.017
	Liver	0.947	0.956	0.190	0.102	0.050
	Lung	0.140	0.069	0.032	0.023	0.029
	Myocardium	0.099	0.064	0.023	0.016	0.010
	Spleen	0.257	0.195	0.074	0.029	0.017
Glandular/ Secretory	Adrenal gland	0.286	0.328	0.046	0.032	0.019
	Exorbital lacrimal gland	0.153	0.371	0.060	0.014	BLQ
	Harderian gland	0.064	0.115	0.051	0.023	BLQ
	Intra-orbital lacrimal gland	0.119	0.431	0.064	BLQ	BLQ
	Mandibular lymph node	0.087	0.128	0.022	BLQ	BLQ
	Mesenteric lymph node	0.050	0.101	0.025	0.020	BLQ
	Nasal mucosa	0.053	0.041	0.019	BLQ	BLQ
	Pancreas	0.140	0.370	0.025	0.015	0.017
	Pituitary	0.091	0.107	0.028	BLQ	BLQ
	Salivary gland	0.128	0.097	0.016	BLQ	BLQ
	Thymus	0.038	0.034	0.014	BLQ	BLQ
	Thyroid	0.164	0.133	0.037	0.050	0.029
Reproductive	Prostate	0.061	0.073	0.012	BLQ	BLQ
	Testis	0.013	0.023	0.011	0.010	BLQ
Musculo-	Bone marrow	0.071	0.086	0.036	BLQ	BLQ

Tissue Type	Tissue Organ	0.25 h	1 h	24 h	72 h	168 h
skeletal	Bone surface [b]	0.043	0.044	0.029	BLQ	BLQ
	Fat (abdominal) [b]	0.028	0.029	BLQ	BLQ	BLQ
	Fat (brown)	0.071	0.075	0.027	BLQ	BLQ
	Muscle (skeletal)	0.049	0.034	0.016	0.010	BLQ
	Skin	0.044	0.068	0.048	0.057	0.051
	Tongue	0.077	0.086	0.015	BLQ	BLQ
Excretory	Stomach wall	0.264	0.225	0.023	0.020	BLQ
	Small intestine wall	3.22	7.07	0.198	0.021	BLQ
	Caecum wall	0.112	0.113	0.036	0.016	BLQ
	Large intestine wall	0.116	0.477	0.072	0.028	BLQ
	Urinary bladder wall	0.103	0.314	0.013	BLQ	BLQ

a Determined by direct liquid scintillation analysis

b Tissue corrected for quenching

Abbreviations: BLQ = tissue radioactivity concentration below the lower limit of quantification; QWBA = quantitative whole-body autoradiography

Note: For all QWBA measurements: Upper and lower limits of quantification = 58.4 and 0.010 µg equivalents ACP- 196/g of tissue, respectively

Concentrations of radioactivity (µg equivalents/g) in female rat tissues determined by quantitative whole body autoradiography

Tissue Type	Tissue Organ	0.25 h	1 h	24 h	72 h	168 h
Circulatory	Aorta	0.340	0.758	0.120	0.043	0.044
	Plasma [a]	0.305	0.497	0.025	BLQ	BLQ
	Whole-blood (cardiac)	0.293	0.401	0.167	0.142	0.121
	Vena cava	0.234	0.586	0.156	0.045	0.039
Nervous	Brain	0.011	0.016	0.011	BLQ	BLQ
	Pineal body	0.178	0.187	0.051	BLQ	BLQ
	Spinal cord	0.010	0.017	0.010	BLQ	BLQ
Ocular	Eye (lens)	BLQ	0.012	0.013	BLQ	BLQ
Visceral organs	Kidney cortex	0.971	1.16	0.407	0.117	0.056
	Kidney outer medulla	1.07	3.34	0.462	0.113	0.069
	Kidney inner medulla	0.488	0.518	0.081	0.037	0.019
	Liver	2.08	1.57	0.284	0.200	0.061
	Lung	0.102	0.327	0.077	0.025	0.027
	Myocardium	0.187	0.180	0.038	0.128	0.016
	Spleen	0.370	0.370	0.144	0.052	0.024
Glandular/ Secretory	Adrenal gland	0.683	0.551	0.150	0.063	0.033
	Exorbital lacrimal gland	0.257	1.89	0.253	0.030	0.017
	Harderian gland	0.197	0.341	0.077	0.033	BLQ
	Intra-orbital lacrimal gland	0.243	1.69	0.239	0.032	BLQ
	Mandibular lymph node	0.153	0.245	0.043	0.034	BLQ
	Mesenteric lymph node	0.114	0.264	0.053	0.022	BLQ
	Nasal mucosa	0.028	0.087	0.025	BLQ	0.041
	Pancreas	0.244	0.264	0.042	0.031	BLQ
	Pituitary	0.201	0.194	0.052	0.029	BLQ
	Salivary gland	0.265	0.296	0.043	0.037	BLQ
	Thymus	0.086	0.166	0.029	BLQ	BLQ
	Thyroid	0.328	0.435	0.113	0.126	0.033
Reproductive	Mammary gland	0.104	0.163	0.024	BLQ	BLQ
	Ovary	0.180	0.190	BLQ	BLQ	BLQ
	Uterus	0.154	0.268	0.033	BLQ	BLQ

Tissue Type	Tissue Organ	0.25 h	1 h	24 h	72 h	168 h
Musculo-skeletal	Bone marrow	0.139	0.213	0.045	0.019	BLQ
	Bone surface [b]	0.069	0.128	0.025	BLQ	BLQ
	Fat (abdominal) [b]	0.073	0.113	0.015	BLQ	BLQ
	Fat (brown)	0.220	0.211	0.048	BLQ	BLQ
	Muscle (skeletal)	0.090	0.107	0.016	BLQ	BLQ
	Skin	0.067	0.190	0.019	0.041	0.015
	Tongue	0.165	0.176	0.025	0.014	BLQ
Excretory	Stomach wall	1.80	1.31	0.046	0.102	BLQ
	Small intestine wall	8.26	11.0	0.509	0.067	BLQ
	Caecum wall	0.175	1.05	2.26	0.016	BLQ
	Large intestine wall	0.294	0.861	3.93	0.034	BLQ
	Urinary bladder wall	0.231	0.253	0.052	BLQ	BLQ

a Determined by direct liquid scintillation analysis

b Tissue corrected for quenching

Abbreviations: BLQ = tissue radioactivity concentration below the lower limit of quantification; QWBA = quantitative whole-body autoradiography

Note: For all QWBA measurements: Upper and lower limits of quantification = 58.4 and 0.010 µg equivalents ACP- 196/g of tissue, respectively

Study conducted by: [redacted]

Study in compliance with GLP: No

2.6.5.5.2 組織内分布（有色ラット定量的全身オートラジオグラフィー）

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：8338525

Type of Study: Concentrations of radioactivity in blood and tissues determined by quantitative whole-body autoradiography following a single oral administration of [^{14}C]ACP-196 (100 mg/kg) to male rats	
Species:	Long Evans rat
Gender (M/F) / No. of Animals:	7 males (from Group 3)
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.077 N hydrochloric acid in reverse osmosis water (final pH 2.8)
Method of Administration:	Oral gavage
Dose (mg/kg):	100 mg/kg (approximately 50 µCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]ACP-196
Specific Activity:	57 mCi/mmol
Sampling Time:	At sacrifice, and at 0.5, 4, 8, 24, 48, 72, and 168 hours postdose
Analyte / Assay:	[^{14}C]ACP-196; Liquid Scintillation Counting and Autoradiography

Concentrations of radioactivity (ng equivalents/g) in tissues determined by quantitative whole body autoradiography

Tissue	Time after administration (hours)						
	0.5	4	8	24	48	72	168
Adrenal gland	15300	ND [a]	2510	2220 [b]	ND	ND	ND
Arterial wall	6450	8960	ND	ND	ND	ND	ND
Bile	299000	139000	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	3020	6560	3800	2490	3030	2000	BLQ
Bone	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	BLQ	2670	BLQ	ND	ND	ND	ND
Brain cerebellum	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Brain cerebrum	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Brain medulla	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Brain olfactory lobe	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Bulbo-urethal gland	2800	5410	ND	ND	ND	ND	ND
Cecum	4990	12300	ND [c]	8530	ND	ND	ND
Diaphragm	2150	4030	BLQ	ND	ND	ND	ND
Epididymis	ND	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Esophagus	BLQ	4540 [b]	BLQ	ND	ND	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	3020	22200	18800	2300	ND	ND	ND
Eye lens	ND	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Eye uveal tract	4830	39500	32700	38000	32900	24800	21900
Eye(s)	BLQ	7420	6660	6710	6660	4230	6700
Fat (abdominal)	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Harderian gland	1960	4380	BLQ	ND	ND	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	ND	18700	19900	2740	ND	ND	ND
Kidney cortex	11900	27400	8320	4360	3500	3230	ND
Kidney medulla	8360	16500	11600	4710	3620	2380	ND
Kidney(s)	12200	15800	7560	3900	3920	2970	BLQ
Large intestine	2330	3930	58000	BLQ	ND	ND	ND

Tissue	Time after administration (hours)						
	0.5	4	8	24	48	72	168
Liver	29800	56900	25100	6930	5910	4290	BLQ
Lung(s)	2690	3790	BLQ	ND	ND	ND	ND
Lymph node(s)	ND	2410	ND	ND	ND	ND	ND
Muscle	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Myocardium	BLQ	2670	BLQ	ND	ND	ND	ND
Nasal turbinates	1970	2890	2400	ND	ND	ND	ND
Pancreas	BLQ	3240	BLQ	ND	ND	ND	ND
Pituitary gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Preputial gland	2870	2630	BLQ [b]	ND	ND	ND	ND
Prostate gland	BLQ	3170	ND	ND	ND	ND	ND
Salivary gland(s)	2930	3770	BLQ	ND	ND	ND	ND
Seminal vesicles	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (non-pigmented)	BLQ	2780	2980	ND	ND	ND	ND
Skin (Pigmented)	BLQ	3950	6050	5020	4950	BLQ	ND
Small intestine	3080	12200	5800	ND	ND	ND	ND
Spinal cord	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	BLQ	2650	BLQ	ND	ND	ND	ND
Stomach	4470	4060	2770	ND	ND	ND	ND
Testis	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Thyroid	ND	5960	2360	BLQ	ND	ND	ND
Urinary bladder	BLQ	2880	ND	ND	ND	ND	ND
Urine	42400	72500	9660	BLQ	ND	ND	ND
Limit of quantification	1950	1950	1950	1950	1950	1950	1950

a Tissue was not detectable due to smearing of gastrointestinal contents

b Tissue appeared to be fat-soaked

c Tissue was not detectable due to flare from gastrointestinal contents

Abbreviations: BLQ = below the limit of quantitation (< 1950 ng equivalents [^{14}C]ACP-196/g); ND = not detectable (sample shape not discernible from background or surrounding tissue)

2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合

2.6.5.6.1 血漿蛋白結合

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：XS-0478

Type of Study: *In vitro* investigation of the protein binding of ACP-196 in mouse, rat, dog, monkey, and human plasma					
Assessment:	Plasma protein binding (preliminary)				
Matrix:	Plasma				
Method:	Ultracentrifugation				
Species (strain, sex, number):	Crl:CD1 Mouse (n=15 males); Sprague Dawley rat (n=3 males); Beagle dog (n=3 males); Cynomolgus monkey (n=3 males); Mixed plasma human donors (n= 3 males)				
Analytes:	ACP-196				
Analytical method:	LC-MS/MS				
Replicates:	Determinations in Triplicate				
Test article	Concentration (µM)	Species	Unbound ratio (% Free)	Protein binding ratio (% Binding)	Recovery (%)
ACP-196	1	Mouse	17.0±0.9	83.0±0.9	73.2±0.9
	10		20.8±2.3	79.2±2.3	83.1±3.2
	1	Rat	13.4±2.2	86.6±2.2	79.7±6.5
	10		6.6±1.1	93.4±1.1	79.3±3.4
	1	Dog	26.2±4.3	73.8±4.3	90.5±2.1
	10		31.7±0.9	68.3±0.9	91.9±2.4
	1	Monkey	11.5±2.1	88.5±2.1	77.7±5.1
	10		14.0±0.7	86.0±0.7	89.4±4.5
	1	Human	2.5±0.2	97.5±0.2	89.7±3.9
	10		8.1±1.1	91.9±1.1	82.7±3.8
Warfarin	10	Human	0.9±0.0	99.1±0.0	-

Abbreviations: LC-MS/MS = liquid chromatography tandem mass spectrometry; SD = standard deviation

Additional information: Data are expressed as the mean value ± SD of 3 determinations. A stock solution of ACP-196 (10 mM) was prepared in DMSO and further diluted prior to addition to the plasma protein to provide a final concentration of 1 and 10 µM ACP-196. Incubations were performed in duplicate at 37ºC for 30 minutes then subjected to ultracentrifugation for 16 hours at 200,000xg at 4 ºC. ACP-196 was quantified by LC-MS/MS in aliquots of post-ultracentrifugation samples. ACP-196, was incubated in parallel in plasma for 16 hours to assess stability of ACP-196 under the conditions of the study. Warfarin was included as a highly-protein bound control compound for human.

2.6.5.6.2 血漿蛋白結合／血球移行

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：XS-0850

Type of Study: *In vitro* investigation of the protein binding of ACP-196 in mouse, rat, dog, monkey, human plasma, human serum albumin, and α-1 acid glycoprotein; and blood cell partitioning of ACP-196 in mouse, rat, dog, monkey and human blood	
Assessment:	Plasma protein binding
Matrix:	Plasma
Method:	Ultracentrifugation using low-binding polycarbonate tubes
Species (strain, sex, number):	Crl:CD1 mouse (n=24 males); Crl:CD rat (n=3 males); Beagle dog (n=4 males); Cynomolgus monkey (n=7 males); Mixed plasma human donors (n= 3 males)
Analytes:	[^{14}C]ACP-196
Analytical method:	Liquid scintillation counting (LSC)
Replicates:	Triplicate
Additional information:	ACP-196 was extensively bound to plasma proteins for rat, monkey, human plasma and HSA solution, and moderately bound to the mouse, dog plasma and alpha-1 acid glycoprotein solutions. There was no observed concentration dependency in protein binding in all species plasma and human plasma proteins examined. A moderate level of accumulation of ACP-196 in red blood cells was observed for preclinical species and humans. There was a slightly greater distribution of ACP-196 into blood cells of mouse when compared to blood cell partitioning of ACP-196 in other species.

Plasma protein binding of ACP-196 (1, 3 and 10 µM) in mouse, rat, dog, monkey, human plasma, HSA and alpha-1 acid glycoprotein

Matrix	Concentration (µM)	Unbound ratio (% Free) [a]	Protein binding ratio (% Binding) [a]
Mouse plasma [b]	1	25.1±0.3	74.9 ± 0.3
	3	23.7±0.2	76.3 ± 0.2
	10	25.0±0.5	75.0 ± 0.5
Rat plasma [b]	1	8.6±0.5	91.4 ± 0.5
	3	7.5±0.2	92.5 ± 0.2
	10	7.8±0.2	92.2 ± 0.2
Dog plasma	1	38.0±1.0	62.0 ± 1.0
	3	27.9±0.6	72.1 ± 0.6
	10	28.9±0.2	71.1 ± 0.2
Monkey plasma	1	5.6±0.1	94.4 ± 0.1
	3	5.7±0.1	94.3 ± 0.1
	10	6.1±0.1	93.9 ± 0.1
Human plasma	1	2.6±0.7	97.4 ± 0.7
	3	2.1±0.1	97.9 ± 0.1
	10	2.7±0.2	97.3 ± 0.2
HSA solution	1	6.5±0.4	93.5 ± 0.4
	3	6.1±0.2	93.9 ± 0.2
	10	6.2±0.1	93.8 ± 0.1
alpha-1 acid glycoprotein solution	1	56.8±0.6	43.2 ± 0.6
	3	56.9±1.0	43.1 ± 1.0
	10	62.9±0.2	37.1 ± 0.2

a Data are expressed as the mean value ± SD of 3 determinations

b Containing NaF as esterase inhibitor.

Abbreviations: HSA = human serum albumin; LSC = liquid scintillation counting; SD = standard deviation

Blood cell partitioning of ACP-196 (1, 3 and 10 µM) in mouse, rat, dog, monkey and human

Matrix	Concentration (µM)	Distribution into blood cells (%) [a]	Blood to plasma ratio [a]
Mouse blood [b]	1	57.9±2.3	1.43±0.08
	3	54.8±1.0	1.33±0.03
	10	55.8±2.0	1.34±0.06
Rat blood [b]	1	34.8±5.5	0.94±0.08
	3	24.6±1.8	0.81±0.02
	10	29.5±1.3	0.87±0.02
Dog blood [b]	1	49.8±3.6	1.08±0.08
	3	53.6±2.5	1.14±0.06
	10	45.3±1.9	0.97±0.03
Monkey blood [b]	1	29.5±3.8	0.85±0.05
	3	23.0±1.7	0.79±0.02
	10	29.8±0.8	0.86±0.01
Human blood [b]	1	26.2±3.3	0.79±0.03
	3	23.5±0.5	0.76±0.01
	10	29.4±1.0	0.81±0.01

a Data are expressed as the mean value ± SD of 3 determinations.
b Containing NaF as esterase inhibitor
Abbreviations: SD = standard deviation

2.6.5.6.3 血漿蛋白結合（代謝物 ACP-5862）

被験物質：ACP-5862
試験番号：XS-0912

Type of Study: *In vitro* assessment of ACP-5862 protein binding in mouse, rat, dog, and human plasma	
Assessment:	Plasma protein binding
Matrix:	Plasma
Method:	Ultracentrifugation
Species (strain, sex, number):	Crl:CD1 mouse (n= 24 males); Crl:CD(SD) rat (n=3 males); Beagle dog (n=8 males); Mixed plasma human donors (n= 3 males)
Analytes:	ACP-5862
Analytical method:	LC-MS/MS
Replicates:	Triplicate

Plasma protein binding of ACP-5862 (1 and 10 µM) in mouse, rat, dog, and human plasma

Matrix	Concentration (µM)	Unbound ratio (% Free) [a]	Protein binding ratio (% Binding) [a]
Mouse plasma	1	1.4±0.1	98.6±0.1
	10	1.3±0.1	98.7±0.1
Rat plasma	1	0.1±0.1	99.9±0.1
	10	0.2±0.1	99.8±0.1
Dog plasma	1	5.4±1.0	94.6±1.0
	10	6.0±0.8	94.0±0.8
Human plasma	1	1.3±0.1	98.7±0.1
	10	1.4±0.3	98.6±0.3

a Data are expressed as the mean value ± SD of 3 determinations.
Abbreviations: LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; SD = standard deviation

2.6.5.6.4 血球移行（代謝物 ACP-5862）

被験物質：ACP-5862
試験番号：XS-0947

Type of Study: *In vitro* assessment of ACP-5862 blood cell partitioning in mouse, rat, dog, and human blood	
Assessment:	Blood cell partitioning
Matrix:	Whole blood
Method:	Centrifugation
Species (strain, sex, number):	Crl:CD1 mouse (n=8 males); Crl:CD(SD) rat (n=3 males); Beagle dog (n=3 males); Mixed human donors (n= 3 males)
Analytes:	ACP-5862
Analytical method:	LC-MS/MS
Replicates:	Triplicate

Blood cell partitioning of ACP-5862 (1 and 10 µM) in rat, dog, and human

Matrix	Concentration (µM)	Distribution into blood cells (%) [a]	Blood to plasma ratio [a]
Mouse blood [b]	1	29.9±2.5	0.94±0.03
	10	16.7±7.4	0.80±0.07
Rat blood [b]	1	74.4±2.8	2.60±0.30
	10	72.9±4.5	2.47±0.38
Dog blood	1	69.1±1.2	1.49±0.06
	10	65.6±1.5	1.31±0.06
Human blood	1	10.7±5.6	0.65±0.04
	10	12.5±2.9	0.67±0.02

a Data are expressed as the mean value ± SD of 3 determinations.
b Containing NaF as esterase inhibitor
Abbreviations: LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; SD = standard deviation

2.6.5.6.5 血漿蛋白結合（ヒト）

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：8320560

Type of Study: *In vitro* investigation of the protein binding of ACP-196 in human plasma	
Assessment:	Plasma protein binding
Matrix:	Plasma
Method:	Ultrafiltration and equilibrium dialysis
Species (strain, sex, number):	Mixed plasma human donors (n= 3 males)
Analytes:	ACP-196
Analytical method:	LC-MS/MS
Replicates:	Quadruplicates

Additional information:

Protein binding of ACP-196 was assessed using ultrafiltration and equilibrium dialysis. Equilibrium was not attained by 7 hours using equilibrium dialysis, so ACP-196 protein binding measurements were not done. Overall, ACP-196 plasma protein binding determined by ultrafiltration recapitulated binding data at 1 µM determined by ultracentrifugation (95-96% bound in this study versus approximately 97.5% bound at 1 µM in Study XS-0478 and XS-0850). However, variable recovery and an out of specification warfarin control value render the ultrafiltration data unreliable. The plasma protein binding data from Study XS-0850 are the definitive and comprehensive plasma protein binding data sets for ACP-196 (Section 2.6.5.6.2).

Abbreviations: LC-MS/MS = liquid chromatography tandem mass spectrometry

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：R2017011

Type of Study: Pharmacokinetics of ACP-196 and ACP-5862 following repeat oral administration of ACP-196 to pregnant rats	
Species and strain:	Rat, Sprague-Dawley
Number of animals/Gender:	24 time-mated females (8 animals per dose level)
Feeding condition:	Fed
Test compound:	ACP-196
Route of administration:	Oral gavage
Dose:	100, 200, and 300 mg/kg daily from GD 6 through GD 18
Vehicle/Formulation:	0.4% Hypromellose 2910 5 cps (DOW, Methocel E5 Premium LV) (w:v) and 0.2% Polysorbate 80 (Tween 80) (w:v) in NANOpure Diamond Ultrapure water
Sample:	Maternal plasma, maternal milk, fetal plasma, and pup plasma
Analytes:	ACP-196 and ACP-5862
Analytical method:	Plasma was analyzed by precipitating with acetonitrile and detection with LC-MS/MS.

Mean ACP-196 and ACP-5862 plasma concentrations on GD 18 in maternal and fetal plasma and mean fetal:maternal ratios (Mean±SD)

Dose (mg/kg)	Study Day	Matrix	Time (h)	N	ACP-196		ACP-5862	
					Concentration (ng/mL)	Fetal:Maternal Ratio	Concentration (ng/mL)	Fetal:Maternal Ratio
0	GD 18	Maternal Plasma	1.0	4	BLQ	NA	BLQ	NA
		Fetal Plasma	1.0	4	BLQ		BLQ	
100	GD 18	Maternal Plasma	1.0	8	946±586	0.438±0.089	628±384	0.0216±0.0073
		Fetal Plasma	1.0	8	381±180		11.8±5.58	
200	GD 18	Maternal Plasma	1.0	8	3720±2710	0.450±0.145	1280±689	0.0261±0.0101
		Fetal Plasma	1.0	8	1500±1050		29.1±11.3	
300	GD 18	Maternal Plasma	1.0	8	4370±4040	0.523±0.232	1610±978	0.0365±0.0242
		Fetal Plasma	1.0	8	2110±1750		58.1±47.9	

Abbreviations: BLQ = below level of quantitation; GD = gestational day; NA = not applicable; SD = standard deviation
Study conducted by: [redacted]
Study in compliance with GLP: No

Mean ACP-196 and ACP-5862 maternal plasma and milk concentrations on Lactation Day 12 and mean milk:plasma ratios (Mean±SD)

Dose (mg/kg)	Study Day	Matrix	Time (h)	N	ACP-196		ACP-5862	
					Concentration (ng/mL)	Milk:Plasma Ratio	Concentration (ng/mL)	Milk:Plasma Ratio
0	LD 12	Maternal Milk	3.0	6	BLQ	NA	BLQ	NA
		Maternal Plasma	3.0	6	BLQ		BLQ	
100	LD 12	Maternal Milk	3.0	6	1460±898	13.5±7.6	1610±566	21.7±13.6
		Maternal Plasma	3.0	6	125±57		98.4±60.8	
200	LD 12	Maternal Milk	3.0	5	2530±1000	3.92±1.13	2500±1440	6.14±0.59
		Maternal Plasma	3.0	5	719±435		409±235	
300	LD 12	Maternal Milk	3.0	3	5050±4360	7.65±2.94	3160±159	8.65±2.47
		Maternal Plasma	3.0	4	913±655		435±144	

Abbreviations: BLQ = below level of quantitation; LD = lactation day; NA = not applicable; SD = standard deviation
Study conducted by: [redacted]
Study in compliance with GLP: No

2.6.5.8　　薬物動態試験：その他の分布試験

該当なし

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

2.6.5.9.1 血漿中代謝物組成

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：8320562

Type of Study: *In vivo* metabolite profiling	
Study systems:	Study number, species, matrix (anticoagulant) 2219-027, Rat, plasma (Sodium Fluoride/Potassium Oxalate) 2219-057, Dog, plasma (K_2EDTA) ACE-CL-001, Human, plasma (lithium heparin)
Test compound:	ACP-196
Dose:	Rat IV: 10 mg/kg Dog Oral: 100 mg Human Oral: 100 mg BID, daily for 8 days
Species (strain, sex, number):	Crl:CD(SD) rat (n=6/sex; n=2/time point; males and females); Beagle dog (n=3 males); Humans (n=6 males and females)
Analysis:	Liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC-HMS) with post-acquisition multiple mass defect filtering (MMDF).

Mean peak areas and metabolite ratios for ACP-196 and characterized metabolites in matrix-normalized AUC-representative pooled plasma samples obtained after doses of ACP-196 to rats, dogs, and humans

Designation	Mean Peak Area				Peak Area Ratio		
	Human	Dog	Male Rat	Female Rat	Dog/Human	Male Rat/Human	Female Rat/Human
M27	349000000	77400000	30800000	55000000	0.22	0.09	0.16
ACP-196	107000000	239000000	58200000	67100000	2.22	0.54	0.63
M25	43700000	18900000	3210000	2410000	0.43	0.07	0.06
M3	6790000	390000	955000	2970000	0.06	0.14	0.44
M2	6370000	14400000	ND	ND	2.25	0.00	0.00
M6	4320000	ND	ND	ND	0.00	0.00	0.00
M16	3630000	571000	ND	ND	0.16	0.00	0.00
ACP-5461B (M10)	3600000	12800000	3210000	5870000	3.55	0.89	1.63
M9	3080000	317000	ND	41900	0.10	0.00	0.01
M11	2750000	473000	ND	249000	0.17	0.00	0.09
ACP-5531 (M7) [a]	2710000	5220000	293000	432000	1.93	0.11	0.16
M22	2660000	993000	ND	88200	0.37	0.00	0.03
M24	2640000	24600	ND	ND	0.01	0.00	0.00
M14	2240000	32800	ND	ND	0.01	0.00	0.00
M21	1460000	605000	ND	ND	0.41	0.00	0.00
ACP-5134 (M23)	1410000	7240000	2150000	2570000	5.14	1.53	1.83
M8	1360000	390000	ND	ND	0.29	0.00	0.00
M26	1020000	ND	ND	ND	0.00	0.00	0.00
M19	835000	5990000	36000	1340000	7.18	0.04	1.60
M17	725000	ND	ND	ND	0.00	0.00	0.00
ACP-5530 (M5)	600000	3030000	3940000	5940000	5.05	6.57	9.91
M18	474000	ND	ND	30700	0.00	0.00	0.06
M4	419000	4510000	ND	ND	10.8	0.00	0.00
M13	300000	ND	ND	ND	0.00	0.00	0.00
ACP-5531 (M12) [a]	26300	170000	ND	ND	6.45	0.00	0.00
ACP-5197 (M1)	6720	12000000	1430000	1390000	1790	213	207
M15	ND	1260000	ND	36500	NA	NA	NA
ACP-1049 (M20)	ND	ND	181000	427000	NA	NA	NA

a ACP-5531 is the cysteinylglycine adduct on the 2-butynamide of ACP-196. Two configurational isomers (cis- and trans-) cannot be ruled out.

Abbreviations: IV = intravenous; NA = not applicable; ND = not detected

Additional information: Peak areas of metabolites were dependent on ionization characteristics of each metabolite. As such, the absolute concentration of an individual metabolite peak within a chromatogram could not be reliably compared to parent drug concentration without a synthetic metabolite standard, or similar benchmark. Therefore, comparisons of relative metabolite abundance within a given plasma sample were qualitative. Nonetheless, metabolite peaks with large peak areas relative to parent drug were of interest and were prioritized for future study

Interstudy Metabolite Number Alignment

Metabolite Identification	Metabolite Number Assignment	
	Covance	Huntingdon Study ESN0330
ACP-5197	M1	R04 [a]
Hydroxy-ACP-5197	M2	R06 [a]
ACP-196 cysteinylglycine conjugate	M7	R15 [b]
ACP-5461B (ACP-196 cysteine conjugate)	M10	R16 [c]
Dehydro-ACP-196	M25	R19
ACP-196	ACP-196	R20 [c]
Pyrrolidine oxidized-ACP-196	M27	R21 [d]
Conclusion: ACP-196 appeared to be extensively metabolized, based on the observation by LC-MS of at least 27 (M1-M27) distinct drug-related peaks. Structurally, primary metabolites representing carbon oxidation, glutathione conjugation, amide hydrolysis, N-dealkylation, and alkyne hydration were observed, along with secondary or tertiary metabolites arising from combinations thereof. Overall, peak areas indicated that pyrrolidine oxidation may be a major metabolic pathway. This observation is aligned with available preclinical and clinical data that indicate a quantitatively important role for CYP3A-mediated metabolism of ACP-196.		

a Identity confirmed by mass spectrometry in dog urine and bile under Huntingdon Life Sciences study ESN0330.

b Identity confirmed by mass spectrometry in rat urine and bile and dog bile under Huntingdon Life Sciences study ESN0330.

c Identity confirmed by mass spectrometry in rat and dog urine and bile under Huntingdon Life Sciences study ESN0330.

d R21 identity was based on ^{14}C retention time, identity was not established by mass spectrometry under Huntingdon Life Sciences study ESN0330

Abbreviations: LC-MS = liquid chromatography-mass spectrometry

Note: Similar chromatographic conditions enabled the cross-study alignment of metabolites by retention time.

2.6.5.9.2 血漿、尿及び糞中代謝物組成（ラット及びイヌ）

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：8340639

Type of Study: *In vivo* metabolite profiling	
Study systems:	Rat and dog plasma, urine and feces from studies 8338525 and 8338526
Test compound:	[^{14}C]ACP-196
Specific Activity:	57 mCi/mmol
Dose:	Rat Oral: 100 mg/kg (approximately 50 µCi/kg) Dog Oral: 30 mg/kg (approximately 10 µCi/kg)
Species (strain, sex, number):	Rat plasma: Group 1; Sprague-Dawley rat (n=15/sex; n=3/time point; males and females) Rat urine and feces: Group 2; Sprague-Dawley rat (n=3/sex; males and females) Dog plasma, urine, and feces: Group 1; Beagle dog (n=3/sex; males and females)
Analysis:	Samples were analyzed by LC-MS and/or LC-MS/MS with eluent fraction collection and TopCount radioanalysis to generate radio-chromatographic profiles and identify the associated metabolites.

Metabolite Designation	Retention Time (Minutes)	Proposed Identification	Matrix					
			Rat			Dog		
			P	U	F	P	U	F
M28	1.83	Unidentified	X		X			X
M29	2.33 - 2.50	Unidentified	X	X			X	
M30	2.67	Unidentified		X				
M31	3.00	Unidentified	X				X	
M32	3.83 - 4.00	Unidentified		X				
M33	5.50	Unidentified	X					
ACP-5197 (M1)	6.17 - 6.50	Amide hydrolysis, loss of 2-aminopyridine	X	X		X	X	
M34	9.00	Unidentified	X					
M2	10.67 - 10.83	Hydroxy-ACP-5197					X	X
M35	14.83 - 15.17	Unidentified			X		X	
M3	16.83	$[M + H]^+ = 431$	X					
M36	17.50	Unidentified			X			
M4	18.17 - 18.50	Oxy-ACP-196			X	X	X	X
M37	21.50 - 22.00	$[M + H]^+ = 442$	X		X			X
ACP-5530 (M5)	23.67 - 23.83	ACP-196 glutathione conjugate	X		X	X		
M38	24.67 - 25.00	Oxy-ACP-5461			X			
M39	25.83	Unidentified			X			
ACP-5531 (M7)	26.67 - 27.17	ACP-196 cysteinylglycine conjugate		X		X		
M40	27.17	Oxy-ACP-196				X		
ACP-5461B (M10)	27.17 - 27.67	ACP-196 cysteine conjugate	X	X	X	X	X	X
M41	27.67	Unidentified		X				
M42	28.00 - 28.17	Unidentified		X				
M43	28.5	Unidentified			X			
M15	29.50	Unidentified			X			
M17	30.83	Unidentified			X			
M44	31.00 - 31.33	Unidentified	X	X		X		
M45	32.50	$[M + H]^+ = 486$			X			
ACP-5134 (M23)	32.50 - 33.33	Hydrated alkyne	X	X	X	X		X

Metabolite Designation	Retention Time (Minutes)	Proposed Identification	Matrix					
			Rat			Dog		
			P	U	F	P	U	F
M46	33.33	$[M + H]^+ = 417$	X					
M25	35.00	Oxidation (pyrrolidine), dehydration	X			X		
M47	35.17	Unidentified			X			
ACP-196	37.67 - 38.17	ACP-196	X	X	X	X	X	X
M27 [a]	40.67 - 41.17	Pyrrolidine oxidized ACP-196	X		X	X		X
M48	48.17 - 48.33	Unidentified			X			
M49	50.67	Unidentified			X			

a Confirmed as ACP-5862 in Covance Study No. 8335668.

Abbreviations: F = feces; LC-MS and/or LC-MS/MS liquid chromatography-mass spectrometry; $[M + H]^+$ = protonated molecular ion; P = plasma; U = urine

Note: Retention time ranges are from profiling analyses of all matrices

Pharmacokinetic parameters for [^{14}C]acalabrutinib and metabolites in pooled plasma samples after a single oral dose of [^{14}C]acalabrutinib to rats (Group 1, 100 mg/kg)

Sex	Metabolite	C_{max} (ng eq/g)	T_{max} (h)	AUC_{0-t} (ng eq•h/g)	AUC_{0-inf} (ng eq•h/g)	$t_{1/2}$ (h)	% of Profile [a]	% of Parent [b]
Male n=3	M1 (ACP-5197)	1330	1	1740	NC2	NC2	4.3	38.1
	M5 (ACP-5530)	1230	1	3430	4920	2.13 [c]	8.5	75.1
	M10 (ACP-5461B)	536	1	NC1	NC2	NC2	NA	NA
	M23 (ACP-5134)	646	2	2050	NC2	NC2	5.1	44.9
	M25	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Acalabrutinib (parent)	1790	1	4570	5380	1.35 [c]	11.3	NA
	M27 (ACP-5862)	3510	2	23300	40400	9.61	57.4	510
	Total ^{14}C in profile	8690	1	40600	47100	3.64	NA	888
Female n=3	M1 (ACP-5197)	1700	0.25	2250	3150	1.14 [c]	4.2	37.1
	M5 (ACP-5530)	4050	1	6470	NC2	NC2	12.0	107
	M10 (ACP-5461B)	2140	2	3050	NC2	NC2	5.7	50.2
	M23 (ACP-5134)	759	2	NC1	NC2	NC2	NC1	NC1
	M25	277	1	NC1	NC2	NC2	NA	NA
	Acalabrutinib (parent)	4110	1	6070	11500	1.47 [c]	11.3	NA
	M27 (ACP-5862)	3770	2	22600	NC2	NC2	42.1	372
	Total ^{14}C in profile	17500	1	53700	57800	2.88 [c]	NA	885

a % of profile = (100/total ^{14}C in profile AUC0-t)•AUC0-t of parent or metabolite

b % of parent = (100/acalabrutinib AUC0-t)•AUC0-t of metabolite or total ^{14}C in profile

c C_{max} used in calculation; terminal profile may not be representative of true elimination phase.

Abbreviations: AUC_{0-t} = area under the concentration time curve from time 0 to the last quantifiable concentration (ng equivalent hours/g); $AUC_{0-inf.}$ = area under the concentration time curve from time 0 to infinity (ng equivalent hours/g); C_{max} = Maximum concentration (ng equivalent/g); NA = not applicable - entire profile not detectable; T_{max} = time maximum concentration (ng equivalent/g) observed

Note: NC1: Not calculated due to less than 3 available concentration values

Note: NC2: Not calculated due to the lack of a distinct elimination phase

Pharmacokinetic parameters for [^{14}C]acalabrutinib and metabolites in pooled plasma samples after a single oral dose to dogs (30 mg/kg)

Sex	Metabolite	C_{max} (ng eq/g)	T_{max} (h)	AUC_{0-t} (ng eq•h/g)	AUC_{0-inf} (ng eq•h/g)	$t_{1/2}$ (h)	% of Profile [a]	% of Parent [b]
Male	M1 (ACP-5197)	847	2	2230	4960	3.37 [c]	5.8	12.5
n=3	M5 (ACP-5530)	644	2	1780	2400	1.59 [c]	4.6	10.0
	M7 (ACP-5531)/M40	508	2	1580	4020	4.52 [c]	4.1	8.9
	M10 (ACP-5461B)	1890	4	7420	NC	NC	19.1	41.7
	M23 (ACP-5134)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	M25	318	3	612	NC	NC	1.6	3.4
	Acalabrutinib (parent)	6830	1	17800	21500	1.35	45.9	NA
	M27 (ACP-5862)	797	2	2350	3620	2.13 [c]	6.1	13.2
	Total ^{14}C in profile	10400	1	38800	40000	0.92	NA	218
Female	M1 (ACP-5197)	1050	2	2720	4930	2.52 [c]	5.9	14.1
N=3	M5 (ACP-5530)	991	1	1900	2770	1.52 [c]	4.1	9.8
	M7 (ACP-5531)/M40	743	2	1930	2650	1.61 [c]	4.2	10.0
	M10 (ACP-5461B)	2530	3	9990	15000	2.79 [c]	21.7	51.8
	M23 (ACP-5134)	454	3	227	NC	NC	0.5	1.2
	M25	540	2	1160	NC	NC	2.5	6.0
	Acalabrutinib (parent)	8370	1	19300	21600	1.01	41.9	NA
	M27 (ACP-5862)	1310	1	3750	5780	2.10	8.1	19.4
	Total ^{14}C in profile	13700	1	46100	48000	1.02	NA	239
Conclusion: ACP-5862 was the major single component in systemic circulation in rat and accounted for 57.4% and 29% of the AUC_{0-t} total radioactivity in male and female plasma, respectively. In a similar manner, ACP-5862 was a component in systemic circulation in dog and accounted for 6.1% and 8.1% of the AUC_{0-t} total radioactivity in male and female dog plasma, respectively.								

a % of profile = (100/total ^{14}C in profile AUC_{0-t})•AUC_{0-t} of parent or metabolite

b % of parent = (100/acalabrutinib AUC_{0-t})•AUC_{0-t} of metabolite or total ^{14}C in profile

c C_{max} used in calculation; terminal profile may not be representative of true elimination phase.

Abbreviations: AUC_{0-t} = area under the concentration time curve from time 0 to the last quantifiable concentration (ng equivalent hours/g); AUC_{0-inf}: = area under the concentration time curve from time 0 to infinity (ng equivalent hours/g); C_{max} = Maximum concentration (ng equivalent/g); NA = not applicable - entire profile not detectable; T_{max} = time maximum concentration (ng equivalent/g) observed

Note: NC: Not calculated due to the lack of a distinct elimination phase

2.6.5.9.3 血漿、尿及び糞中代謝物組成（ヒト）

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：8341070

Type of Study: Human plasma, urine, feces metabolite profiling	
Study systems:	Human plasma, urine and feces from clinical study ACE-HV-009
Test compound:	[^{14}C]ACP-196
Specific Activity:	57 mCi/mmol
Dose:	Oral: 100 mg acalabrutinib (containing a microtracer, <10 µg and ≤1 µCi, [^{14}C]ACP-196)
Analysis:	Plasma, urine, and feces samples were profiled for ^{14}C content by Xceleron Inc. (Germantown, MD) using HPLC, fraction collection, and accelerator mass spectrometry (Xceleron Study No. 160/004, appendix to 8341070). Metabolite structures were then confirmed in the same samples at Covance (Madison, WI) by using LC-MS and/or LC-MS/MS.

Quantitative radiometric profiling data for plasma, feces, and urine in healthy volunteers after a single 100 mg oral dose of [^{14}C]acalabrutinib

Component	Proposed Structure	r.t.	% of Excreted Dose		% of AUC
		(min)	Feces	Urine	Plasma
M3	Multiple oxidation, dealkylation	17.2 [a]	1.8	1.3	2.5
M5 (ACP-5530)	Glutathione adduct	24.3 [b]	ND	ND	2.2
M7 (ACP-5531)	Cysteinylglycine adduct	27.6 [b]	ND	2.7 [e]	10.8 [f]
M9	Oxidation, cysteinylglycine adduct	27.7 [b]	ND		
M10 (ACP-5461)	Cysteine adduct	28.1 [b]	Trace		
M11	Oxidation, cysteine adduct	28.3 [a]	Trace		
M16	Hydration	30.9 [a]	2.9	0.6	2.2
M17	Dehydrated, reduced ACP-5134	31.6 [a]	5.2 [g]	Trace	ND
M18	Two oxidations (+O_2)	31.4 [c]		ND	Trace
M22	Two oxidations (+O_2)	33.0 [a]	12.1 [h]	0.5	Trace
M45	Reduced ACP-5134	33.0 [c]		Trace	Trace
M23 (ACP-5134)	Hydrated alkyne	33.6 [a]		Trace	Trace
M24	Oxidation of reduced ACP-5134	34.2 [a]	7.5	Trace	Trace
M25	Pyrrolidine oxidation, dehydration	35.6 [a]	Trace	0.2	5.9
Parent	Acalabrutinib	38.5 [b]	1.2	0.5	8.6
M27 (ACP-5862)	Pyrrolidine oxidation, ring opening	41.6 [b]	3.5	0.5	34.7
Total			83.5 [d]	12.0 [d]	

a, b, c indicate retention times from urine, plasma, or feces chromatograms, respectively

d Total values are geometric means (n=6) of total ^{14}C excreted, Table 11-5 of HV-009 CSR

e components M7, M10, and M11 contribute to the % of excreted dose

f components M7, M8, M9, M10, and M11 contribute to the % of AUC

g components M17 and M18 contribute to the % of excreted dose

h components M22, M45, and M23 contribute to the % of excreted dose

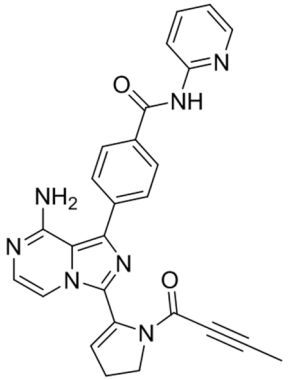
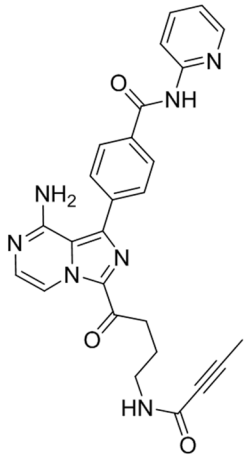
Abbreviations: r.t. = retention time; MS/MS = tandem mass spectrometry; Trace = component was observed via MS/MS, but ^{14}C was not above baseline

Conclusion: Metabolite profiling and identification data indicate that [^{14}C]acalabrutinib underwent extensive metabolism in humans. This occurred primarily by oxidation of its pyrrolidine ring, with one metabolite, M27 appearing in plasma at an exposure that was higher than parent acalabrutinib. Other pathways involved amide hydrolysis, glutathione conjugation and alkyne hydration. The relatively insignificant excretion of parent acalabrutinib in feces and urine indicates that metabolic clearance is the major route of acalabrutinib elimination in humans.

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

2.6.5.10.1 ヒト肝ミクロソームにおける *in vitro* 代謝

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：8335668

Type of Study: *In vitro* metabolites biosynthesis and identification by NMR (radio-labelled compound)		
Study systems:	Pooled human liver microsomes	
Test compound:	[^{14}C]ACP-196 (overall content 4280 µCi/mmol)	
Concentration:	10 µM	
Species (strain, sex, number):	Pooled human liver microsomes	
Incubation:	30 minutes at 37 °C, 10 replicates at 20 mL each, for a total incubation volume of 200 mL with 2 mM NADPH	
Analysis:	Liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS), with in-line radio-chromatographic detection	
Additional information:	Structures of M25 and M27 were confirmed by NMR following isolation and purification from incubations containing ACP-196 with pooled human liver microsomes and NADPH.	
Confirmed structures:	 M25	 M27 (ACP-5862)

Abbreviations: LC-MS = liquid chromatography mass spectrometry; NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase; NMR = nuclear magnetic resonance

2.6.5.10.2 ヒト肝ミクロソーム及びヒト CYP 酵素における *in vitro* 代謝

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：XT134082

Type of Study: *In vitro* cytochrome P450 reaction phenotyping of ACP-196 in human liver microsomes and recombinant human CYP enzymes	
Study systems:	Human liver microsomes from a pool of 200 individuals and recombinant human CYP isoforms
Test compound:	ACP-196
Concentration:	0.1, 1, and 10μM
Incubation:	Incubations were conducted at 37 ± 1 °C for 30 min
Analysis:	LC-MS/MS
Additional information:	ACP-196 human liver microsomal clearance was not significantly affected by specific inhibitors for CYP1A, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, or CYP2D6; however, metabolism was inhibited by the specific CYP3A4/5 inhibitors, ketoconazole and troleandomycin, indicating that CYP3A4/5 is the major CYP isoform involved in the metabolism of ACP-196. ACP-196 was metabolized in incubations of CYP3A4 Bactosomes™. Collectively, these data suggest that CYP3A4/5 is the major CYP isoform responsible for CYP-mediated metabolism of ACP-196.

Effect of direct-acting and metabolism dependent chemical inhibitors on the disappearance of ACP-196 (1 μM) after 60 min incubation with human liver microsomes (0.1 mg protein/mL)

CYP Isoform	Selective Competitive Inhibitors	Final Inhibitor Concentration (μM)	Preincubation Time (min.)	Extent of metabolism of ACP-196 (1 μM) in the presence of specific CYP450 inhibitors.	
				Rate of substrate disappearance (pmol/mg/min)	Percent Inhibition (%)
CYP2A6	Letrozole	10	-	71.1	6.1
CYP2D6	Quinidine	0.1	-	75.1	No Inhibition
		1		84.9	No Inhibition
		10		70.8	No Inhibition
CYP3A4/5	Ketoconazole	0.1	-	30.4	59.9
		0.5		11.2	85.3
		1		9.60	87.3
Metabolism-Dependent Inhibitors					
CYP1A2	Furafylline	10	30	64.9	6.8
CYP2B6	Phencyclidine	30		55.5	20.3
CYP2C8	Gemfibrozil glucuronide	100		45.5	21.6
CYP2C9	Tienilic acid	20		65.9	5.3
CYP2C19	Esomeprazole	10		45.8	27.2
CYP2E1	Diethyldithiocarbamate	10		69.4	0.3
CYP3A4/5	Troleandomycin	50		10.3	85.2

Metabolism of ACP-196 (1 and 10 μM) by a panel of recombinant human CYP enzymes (10 pmol CYP per incubation)

Test Systems	ACP-196 Concentration (1 μM)			ACP-196 Concentration (10 μM)		
	Substrate detected (pmol)	Substrate loss (%)	Substrate remaining (%)	Substrate detected (pmol)	Substrate loss (%)	Substrate remaining (%)
CYP1A2	201	0.1	99.9	1710	1.7	98.3
CYP2B6	199	4.7	95.3	1750	7.1	92.9
CYP2C8	187	12.9	87.1	1610	8.8	91.2
CYP2C9	194	8.3	91.7	1740	9.1	90.9
CYP2C19	204	No Loss	101	1820	7.5	92.5
CYP2D6	215	No Loss	101	1740	5.0	95.0
CYP3A4+ b_5	21.4	89.5	10.5	673	61.3	38.7

Abbreviations: LC-MS = liquid chromatography mass spectrometry

Note: Values are the average of duplicate determinations and are rounded to 3 significant figures. Percentages < 100% are rounded to one decimal place, percentages ≥ 100% are rounded to the nearest whole number

2.6.5.10.3 ヒト肝細胞質及びヒトグルタチオン転移酵素による *in vitro* 代謝

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：XT154040

Type of Study: *In vitro* metabolism of ACP-196 and determination of the role of glutathione S-transferase (GST) in the formation of glutathione related conjugates of ACP-196	
Study systems:	Human liver cytosol from a pool of 50 individuals and recombinant human glutathione S-transferase
Test compound:	ACP-196 and ACP-5197
Concentration:	1, 10, and 100 µM
Incubation:	Incubations were conducted at 37 ± 1 °C for 120 min
Analysis:	LC-MS/MS

Metabolism of ACP-196 (1, 10 and 100 µM) in incubations with human liver cytosol – Area ratio of formation of ACP-5197, cysteine conjugate, cysteine-glycine conjugate and glutathione conjugates of ACP-196.

ACP-196 (µM)	Protein concentration (mg/mL)	Incubation time (min)	GSH (+/-)	ACP-5197 Area ratio	ACP-196 cysteine conjugate area ratio	ACP-196 cysteine-glycine conjugate area ratio	ACP-196 glutathione conjugate area ratio
0	1	30	+	ND	ND	ND	ND
1	0	0	+	ND	ND	ND	ND
		30		ND	ND	ND	ND
	0.5	0		ND	ND	ND	ND
		30		ND	ND	ND	ND
	1	0		ND	ND	ND	ND
		15		ND	ND	ND	ND
		30		ND	ND	ND	ND
		60		ND	ND	ND	ND
		120		ND	ND	ND	0.00101
	2	0		ND	ND	ND	ND
		30		ND	ND	ND	ND
	1	30	−	ND	ND	ND	ND
10	0	0	+	ND	ND	ND	ND
		30		ND	ND	ND	ND
	0.5	0		ND	ND	ND	ND
		30		ND	0.000775	ND	ND
	1	0		ND	0.00258	ND	ND
		15		ND	0.00401	ND	0.00265
		30		ND	0.00367	ND	0.00294
		60		0.00236	0.00830	ND	0.00537
		120		0.00625	0.0111	0.00294	0.00750
	2	0		ND	0.00747	ND	ND
		30		ND	0.00849	ND	0.00799
	1	30	−	ND	0.00368	ND	ND
100	0	0	+	0.0174	ND	ND	ND
		30		0.0274	ND	ND	ND
	0.5	0		0.0182	0.0236	ND	ND

ACP-196 (μM)	Protein concentration (mg/mL)	Incubation time (min)	GSH (+/-)	ACP-5197 Area ratio	ACP-196 cysteine conjugate area ratio	ACP-196 cysteine-glycine conjugate area ratio	ACP-196 glutathione conjugate area ratio
		30		0.0265	0.0215	0.00211	0.00800
	1	0		0.0194	0.0503	0.00601	0.00132
		15		0.0243	0.0820	0.00724	0.0156
		30		0.0306	0.0691	0.00495	0.0154
		60		0.0403	0.118	0.0149	0.0253
		120		0.0599	0.205	0.0334	0.0360
	2	0		0.0225	0.154	0.0209	ND
		30		0.0265	0.170	0.0155	0.0285
	1	30	−	0.0298	0.0599	ND	ND

Abbreviations: GSH = glutathione; ND = not detected

\+ Presence of 0.6 mM GSH

− Absence of 0.6 mM GSH

Note: Values are rounded to 3 significant figures and are the mean of duplicate determinations

Metabolism of ACP-196 (1, 10 and 100 μM) in incubations with human liver cytosol without glutathione – Area ratio of formation of ACP-5197, cysteine conjugate, cysteine-glycine conjugate and glutathione conjugates of ACP-196

ACP-196 (μM)	Protein concentration (mg/mL)	Incubation time (min)	ACP-5197 Area ratio	ACP-196 cysteine conjugate area ratio	ACP-196 cysteine-glycine conjugate area ratio	ACP-196 glutathione conjugate area ratio
0	1	30	ND	ND	ND	ND
1	0	0	ND	ND	ND	ND
		30	ND	ND	ND	ND
	0.5	0	ND	ND	ND	ND
		30	ND	ND	ND	ND
	1	0	ND	ND	ND	ND
		15	ND	ND	ND	ND
		30	ND	ND	ND	ND
		60	ND	ND	ND	ND
		120	ND	ND	ND	ND
	2	0	ND	ND	ND	ND

ACP-196 (μM)	Protein concentration (mg/mL)	Incubation time (min)	ACP-5197 Area ratio	ACP-196 cysteine conjugate area ratio	ACP-196 cysteine-glycine conjugate area ratio	ACP-196 glutathione conjugate area ratio
		30	ND	ND	ND	ND
	1	30	ND	ND	ND	ND
10	0	0	ND	ND	ND	ND
		30	ND	ND	ND	ND
	0.5	0	ND	ND	ND	ND
		30	ND	0.00114	ND	ND
	1	0	ND	0.00203	ND	ND
		15	ND	0.00508	ND	ND
		30	ND	0.00466	ND	ND
		60	ND	0.00639	ND	ND
		120	ND	0.00943	ND	ND
	2	0	ND	0.0102	ND	ND
		30	ND	0.0127	ND	ND
	1	30	ND	0.00543	ND	ND
100	0	0	0.0184	ND	ND	ND
		30	0.0292	ND	ND	ND
	0.5	0	0.0218	0.0210	ND	ND
		30	0.0247	0.0225	ND	ND
	1	0	0.0222	0.0558	ND	ND
		15	0.0277	0.0684	ND	ND
		30	0.0276	0.0616	ND	ND
		60	0.0409	0.0844	ND	ND
		120	0.0637	0.113	ND	ND
	2	0	0.0188	0.150	ND	ND
		30	0.0347	0.160	ND	ND
	1	30	0.0302	0.0756	ND	ND

Abbreviations: ND = not detected.

Note: Values are rounded to 3 significant figures and are the mean of duplicate determinations

Metabolism of ACP-196 (1, 10 and 100 µM) in incubations with denatured human liver cytosol – Area ratio of formation of ACP-5197, cysteine conjugate, cysteine-glycine conjugate and glutathione conjugates of ACP-196

ACP-196 (µM)	Protein concentration (mg/mL)	Incubation time (min)	GSH (+/−)	ACP-5197 Area ratio	ACP-196 cysteine conjugate area ratio	ACP-196 cysteine-glycine conjugate area ratio	ACP-196 glutathione conjugate area ratio
1	1	0	+	ND	ND	ND	ND
		120		ND	ND	ND	ND
		0	−	ND	ND	ND	ND
		120		ND	ND	ND	ND
10	1	0	+	ND	0.00405	ND	ND
		120		ND	0.00775	ND	ND
		0	−	ND	0.00547	ND	ND
		120		ND	0.00626	ND	ND
100	1	0	+	0.0226	0.0618	0.00589	0.00427
		120		0.0470	0.142	0.0195	0.0118
		0	−	0.0203	0.0569	ND	ND
		120		0.0471	0.0934	ND	ND

Note:

+ Presence of 0.6 mM GSH

− Absence of 0.6 mM GSH

ND Not detected

Note: Values are rounded to 3 significant figures and are the mean of duplicate determinations

Metabolism of ACP-196 (100 µM) by a panel of recombinant human GST enzymes

Concentration of recombinant enzyme (mg/mL)	Recombinant enzyme	Incubation time (min)	Mean substrate detected (pmol)	Substrate loss (%)	Substrate remaining (%)
0.1	GSTA1	0	20500	NA	NA
	GSTA2		21300		
	GSTM1		21800		
	GSTM2		21000		
	GSTP1		21900		
	GSTT1		22100		
	GSTA1	120	19600	4.5	95.5
	GSTA2		18200	14.7	85.3
	GSTM1		17200	21.3	78.7
	GSTM2		16500	21.5	78.6
	GSTP1		21000	4.1	96.0
	GSTT1		21300	3.8	96.2
0.5	GSTA1	0	22100	NA	NA
	GSTA2		21100		
	GSTM1		22500		
	GSTM2		22000		
	GSTP1		21700		
	GSTT1		22000		
	GSTA1	120	18500	16.4	83.6
	GSTA2		17700	15.9	84.1
	GSTM1		14800	34.1	65.9
	GSTM2		13700	37.9	62.1
	GSTP1		21000	2.9	97.1
	GSTT1		21500	2.2	97.8

Abbreviations: NA = Not applicable

Note: Values are the mean of duplicate determinations rounded to 3 significant figures.

Note: Percentages are rounded to one decimal point. Percentages ≥ 100% are rounded to the nearest whole number.

2.6.5.10.4 代謝物 ACP-5862 生成に関与する CYP

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：XT164038

Type of Study: CYP Reaction Phenotyping of the Metabolism of ACP-196 to ACP-5862	
Study systems:	Human liver microsomes (HLM) from a pool of 200 individuals and recombinant human CYP3A4 (rCYP3A4)
Test compounds:	ACP-196 and ACP-5862
Concentration:	HLM: 0.7 to 70 µM ACP-196 rCYP3A4: 1.5 to 150 µM ACP-196
Incubation:	Acalabrutinib incubations were conducted at 37 ± 1 °C in HLM and rCYP3A4 to determine the conditions for Michaelis-Menten enzyme kinetics. Initial rates of formation were first determined by observing the formation of ACP-5862 relative to time of incubation and protein level. Acalabrutinib depletion was also monitored. ACP-5862 product formation rates were then measured in HLM and rCYP3A4 to determine the K_m and V_{max} of the reaction.
Analysis:	LC-MS/MS

Determination of the Michaelis-Menten enzyme kinetics for the formation of ACP-5862 after 6-min incubation with human liver microsomes (0.1 mg/mL) and for the formation of ACP-5862 after 4-min incubation with recombinant CYP enzyme CYP3A4 (12.5 pmol/mL)

Enzyme source	K_m (μM)	V_{max}
HLM	17.6 ± 1.8	920 ± 43 pmol/min/mg
rCYP3A4	2.78 ± 0.74	4.13 ± 0.23 pmol/min/pmol

Abbreviations: K_m = Michaelis-Menten constant; V_{max} = maximum velocity

Note: Values of individual rates at each substrate concentration were the average of triplicate determinations. Mean values at each substrate concentration were applied to the Michaelis-Menten model to determine the K_m and V_{max} parameters

Effect of direct-acting chemical inhibitors on the conversion of ACP-196 (10 μM) to ACP-5862 by human liver microsomes (0.1 mg protein/mL)

Targeted CYP enzyme	Inhibitor/ solvent	Inhibitor solvent conc	Incubation time (min)	ACP-5862 detected (pmol)	Rate of ACP-5862 formation (pmol/mg/min)	Percent of control	Percent inhibition
NA	Water (solvent control)	1.0% v/v	0	ND	NA	NA	NA
			6	44.8	373	100	
NA	Acetonitrile (solvent control)	0.5% v/v	0	ND	NA	NA	NA
			6	39.9	332	100	
CYP2A6	Letrozole in acetonitrile	10 μM	0	ND	ND	NA	NA
			6	30.2	252	75.8	24.2
CYP2D6	Quinidine in water	10 μM	0	ND	NA	NA	NA
			6	38.1	318	85.2	14.9
CYP3A4/5	Ketoconazole in acetonitrile	1 μM	0	ND	NA	NA	NA
			6	BLQ	NA	NC	100

Abbreviations: NA = not applicable; NC = not calculated; ND = not determined

Note: Values are the mean of duplicate determinations and are rounded to 3 significant figures

Effect of metabolism-dependent chemical inhibitors on the conversion of ACP-196 (10 μM) to ACP-5862 by human liver microsomes (0.1 mg protein/mL) with a 30-min preincubation

Targeted CYP enzyme	Inhibitor/solvent	Inhibitor solvent conc	Incubation time (min)	ACP-5862 detected (pmol)	Rate of ACP-5862 formation (pmol/mg/min)	Percent of control	Percent inhibition
NA	Water (solvent control)	1.0% v/v	0	ND	NA	NA	NA
			6	34.9	291	100	
NA	Acetonitrile (solvent control)	0.5% v/v	0	ND	NA	NA	NA
			6	31.1	284	100	
NA	Acetonitrile with 0.1% formic acid (solvent control)	1.0% v/v	0	ND	NA	NA	NA
			6	30.7	256	100	
NA	40/60 methanol/0.1M Tris pH 9.0 (solvent control)	0.5% v/v	0	ND	NA	NA	NA
			6	40.8	340	100	
CYP1A2	Furafylline in acetonitrile	10 μM	0	ND	NA	NA	NA
			6	31.1	259	91.3	8.71
CYP2B6	Phencyclidine in water	30 μM	0	ND	NA	NA	NA
			6	33.0	275	94.6	5.44
CYP2C8	Gemfibrozil glucuronide in acetonitrile with 0.1% formic acid	100 μM	0	ND	NA	NA	NA
			6	30.5	254	99.5	0.49
CYP2C9	Tienilic acid in acetonitrile	20 μM	0	ND	NA	NA	NA
			6	33.9	282	99.4	0.65
CYP2C19	Esomeprazole in 4/60 methanol/Tris pH 9.0	10 μM	0	ND	NA	NA	NA
			6	26.8	223	65.8	34.2
CYP2D6	Paroxetine in water	5 μM	0	ND	NA	NA	NA
			6	30.3	252	86.8	13.2
CYP2E1	Diethyldithio-carbamate in water	10 μM	0	ND	NA	NA	NA
			6	36.1	301	103	No inhibition
CYP3A4/5	Troleando-mycin in acetonitrile	50 μM	0	ND	NA	NA	NA
			6	BLQ	NA	NC	100

Abbreviations: NA = not applicable; NC = not calculated; ND = not determined

Note: Values are the mean of duplicate determinations and are rounded to 3 significant figures

2.6.5.10.5 代謝物 ACP-5862 の代謝に関与する CYP

被験物質：ACP-5862
試験番号：XT164096

Type of Study: CYP Reaction Phenotyping of the Metabolism of ACP-5862	
Study systems:	Human liver microsomes from a pool of 200 individuals and recombinant human CYP isoforms
Test compounds:	ACP-5862
Concentration:	0.1, 1 and 10 µM
Incubation:	Incubations were conducted at 37 ± 1 °C for 30 min
Analysis:	LC-MS/MS
Additional information:	The *in vitro* half-lives for the 0.1 and 1 µM ACP-5862 incubations conducted with 0.5 mg/mL microsomal protein were extrapolated beyond the longest incubation time and are reported as 55.9 and 97.6 min, respectively. Using the corresponding extrapolated half-life, the intrinsic clearance values for each concentration of ACP-5862 evaluated were calculated as 24.8 and 14.2 µL/min/mg protein, respectively. Disappearance of ACP-5862 at a 10 µM concentration in human liver microsomes was not sufficient for accurate extrapolation of the half-life and this concentration was not used in reaction phenotyping experiments. ACP-5862 human liver microsomal clearance was not significantly affected by specific inhibitors for CYP1A, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, or CYP2D6; however, metabolism was inhibited by the specific CYP3A4/5 inhibitors, ketoconazole and troleandomycin, indicating that CYP3A4/5 is the major CYP isoform involved in the metabolism of ACP-5862. ACP-5862 was metabolized in incubations of CYP3A4 BactosomesTM. Collectively, these data suggest that CYP3A4/5 is the major CYP isoform responsible for CYP mediated metabolism of ACP-5862.

Effect of direct-acting and metabolism dependent chemical inhibitors on the disappearance of ACP-5862 (1 μM) after 30 min incubation with human liver microsomes (0.5 mg protein/mL)

CYP Isoform	Selective Competitive Inhibitors	Final Inhibitor Concentration (μM)	Preincubation Time (min.)	Extent of metabolism of ACP-5862 (1 μM) in the presence of specific CYP450 inhibitors.	
				Rate of substrate disappearance (pmol/mg/min)	Percent Inhibition (%)
CYP2A6	Letrozole	10	-	13.5	No inhibition
CYP2D6	Quinidine	10	-	14.0	No inhibition
CYP3A4/5	Ketoconazole	1	-	NA	100
Metabolism-Dependent Inhibitors					
CYP1A2	Furafylline	10	30	13.6	No inhibition
CYP2B6	Phencyclidine	30		10.8	No inhibition
CYP2C8	Gemfibrozil glucuronide	100		8.18	No inhibition
CYP2C9	Tienilic acid	20		8.81	29.9
CYP2C19	Esomeprazole	10		8.29	19.7
CYP2D6	Paroxetine	5		12.5	No inhibition
CYP2E1	Diethyldithiocarbamate	10		11.3	No inhibition
CYP3A4/5	Troleandomycin	50		2.94	76.6

Metabolism of ACP-5862 (0.1 and 1 μM) by a panel of recombinant human CYP enzymes (2.5 pmol CYP per incubation)

	ACP-5862 Concentration (0.1 μM)			ACP-5862 Concentration (1 μM)		
Test Systems	Substrate detected (pmol)	Substrate loss (%)	Substrate remaining (%)	Substrate detected (pmol)	Substrate loss (%)	Substrate remaining (%)
CYP1A2	15.4	16.0	84.0	165	7.87	92.1
CYP2B6 + b_5	18.5	No loss	105	181	2.27	97.7
CYP2C8 + b_5	16.3	8.89	91.1	166	8.22	91.8
CYP2C9 + b_5	18.9	4.26	95.7	152	18.5	81.5
CYP2C19 + b_5	14.9	21.9	78.1	168	12.1	87.9
CYP2D6	15.6	16.5	83.5	162	3.93	96.1
CYP3A4 + b_5	12.7	29.2	70.8	135	21.1	78.9

Metabolism of ACP-5862 (0.1 and 1 μM) by human liver microsomes (0.5 mg protein/mL)

	ACP-5862 Concentration (0.1 μM)			ACP-5862 Concentration (1 μM)		
Incubation Time (min)	Substrate detected (pmol)	Substrate loss (%)	Substrate remaining (%)	Substrate detected (pmol)	Substrate loss (%)	Substrate remaining (%)
0	18.7	NA	100	187	NA	100
5	17.5	6.3	93.7	182	2.6	97.4
15	14.4	23.2	76.8	161	13.7	86.3
30	12.4	33.4	66.6	163	12.4	87.6
45	11.0	40.9	59.1	130	30.5	69.5
Cl_{int} (μL/min/mg protein)	24.8			14.2		

Abbreviations: NA = not applicable; Cl_{int} = intrinsic clearance

Note: Values are the average of duplicate determinations and are rounded to 3 significant figures. Percentages < 100% are rounded to one decimal place, percentages ≥ 100% are rounded to the nearest whole number

2.6.5.10.6 *In vitro* 及び *in vivo* 代謝物組成

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：ESN0330

Type of Study: Metabolic profiling for ACP-196 in mouse, rat, rabbit, dog, cynomolgus monkey, and human hepatocytes and metabolic profiling in rat and dog plasma, bile and urine	
Study systems:	Incubation with hepatocytes from mouse, Sprague-Dawley rat, rabbit, beagle dog, cynomolgus monkey, and human Metabolic profiling in rat and dog plasma, bile and urine
Species and strain:	Rat, Sprague-Dawley and Beagle dog
Route of administration:	Oral and intravenous
Dose:	Rat intravenous (2 and 5 mg/kg), rat oral (5 mg/kg), dog intravenous (1 mg/kg)
Feeding condition:	Rat: Fed Dog: Fasted overnight
Test compound:	[^{14}C]Org 300196 ([^{14}C]ACP-196)
Incubation:	Hepatocyte incubations were conducted at 37 ± 0.5 C for 30 min (60 min for rat)
Analysis:	LC-MS
Additional information:	This study was conducted to determine 1) the *in vitro* metabolic profile of ACP-196 following incubations with hepatocytes from mouse, Sprague-Dawley rat, rabbit, beagle dog, cynomolgus monkey, and human; and 2) the profile of ACP-196 metabolites in rat and dog plasma, bile and urine following IV or oral administration of ACP-196.

Percentage of sample radioactivity in each region in the metabolite profiles obtained following the *in vitro* incubation of [^{14}C]Org 300196 with hepatocytes at a target concentration of 20 µM

Region	Typical retention time (mm:ss) [a]	Percent of sample radioactivity in region					
		Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Cynomolgus monkey	Human
R01	2:00	5.0	10.5	3.0	1.4	5.7	0.9
R03	3:40	ND	0.8	0.5	ND	ND	ND
R04	5:40	1.1	1.8	ND	ND	ND	ND
R05	7:20	1.1	2.7	0.7	ND	ND	ND
R08	13:30	ND	1.7	ND	ND	ND	ND
R09	14:40	1.9	4.0	ND	ND	ND	0.6
R10	17:00	5.6	15.5	6.1	ND	3.6	1.1
R11	19:20	ND	3.6	0.9	ND	ND	ND
R13	24:10	5.0	11.2 [d]	5.4	ND	3.9	ND
R14	26:00	1.9	2.7	2.0	3.6	1.7	1.5
R15	27:50	2.9	3.4	1.8	ND	4.1	3.6
R16	29:10	1.9	3.7	ND	ND	3.0	ND
R17	31:00	ND	ND	ND	ND	4.3	2.6
R18	36:00	2.5	5.8	4.9	2.9	4.9	2.8
R19	38:00	1.0	ND	2.0	1.1	5.2	2.5
R20 [b]	41:00	68.1	28.2 [e]	64.0	86.8 [e]	49.6	75.0
R21	43:40	0.7	0.7	2.7	2.6	12.0	6.6
R23	51:30	1.0	1.9	2.9	1.4	1.1	1.9
Rem [c]	NA	0.3	1.6	3.1	0.3	0.9	0.8

a Estimated by comparison of chromatograms from each species (*in vivo* & *in vitro*)

b Co-eluted with Org 300196 reference material

c Remainder of radioactivity allocated to diffuse areas on the chromatogram

d Identified as a glutathione conjugate by mass spectrometry

e Identified as unchanged Org 300196 by mass spectrometry

Abbreviations: NA = not applicable; ND = not detected

Note: duration of all incubations was 30 min, except for rat which was 60 min

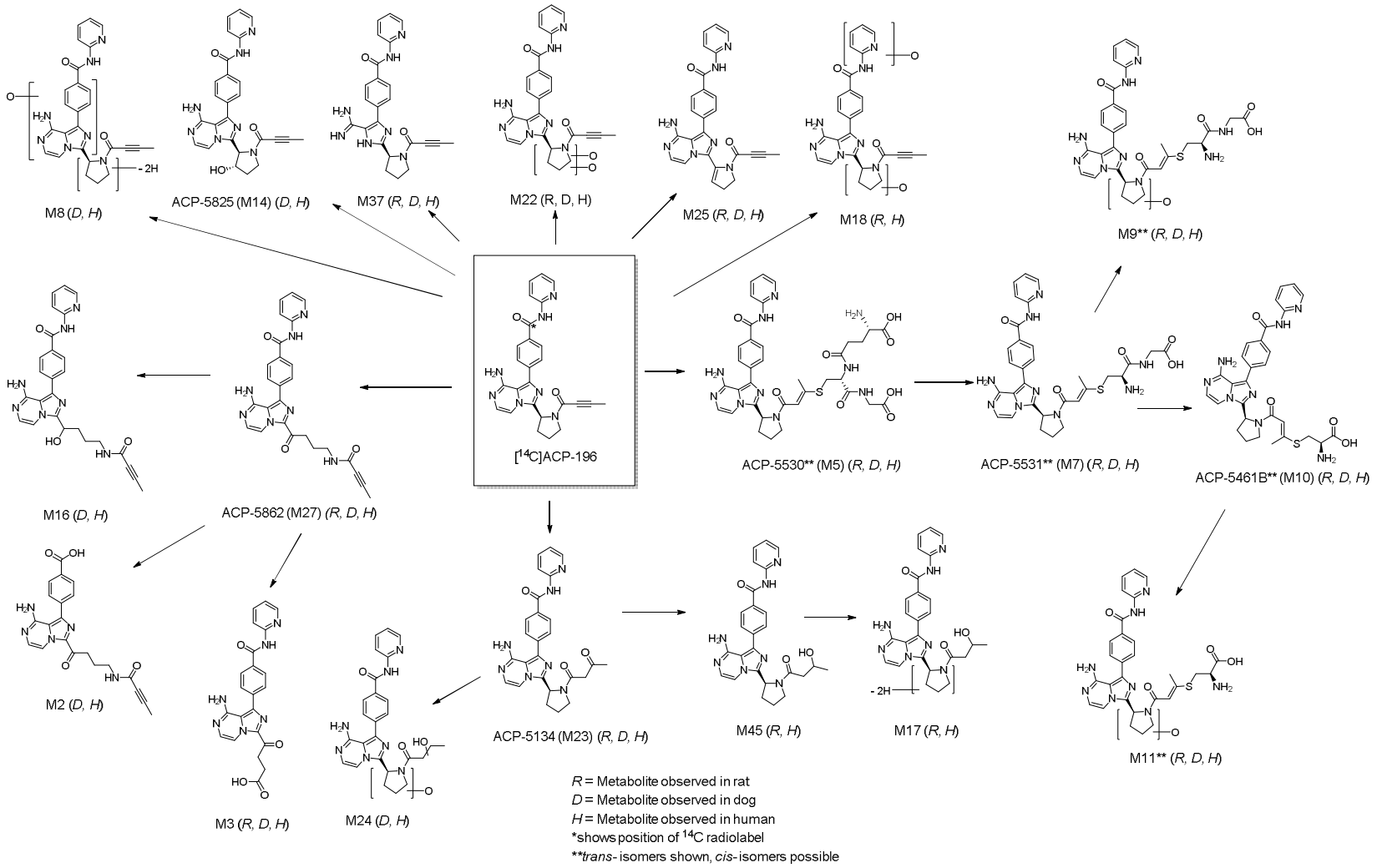
Summary of metabolite profiles and characterisation in plasma, urine and bile following single administration of [^{14}C]Org 300196 to male rats and a male dog

Region	Typical r.t. (mm:ss)		Rat intravenous			Rat oral		Dog intravenous			Characterization/identity
			5 mg/kg Group 1	2 mg/kg Group 2		5 mg/kg Group 3		1 mg/kg Group 4	1 mg/kg Group 5		
	LC-rad	LC-MS	Plasma	Urine	Bile	Urine	Bile	Plasma	Urine	Bile	
R01	2:00	-	○	□	□	□□	□	□	□	□	-
R02	2:40	-	□	□	□	□□	□	□	□	□	-
R03	3:40	-	○	□	□	□□	□	□	□□	□	-
R04	5:40	5:40	○	□	□	□□	□	○	■■	■	Hydrolysis product
R05	7:20	-	○	□	□	○	□	○	□	□	-
R06	9:00	9:40	○	□	□	○	□	○	■	■	Oxidized hydrolysis product
R07	11:10	-	○	○	□	○	○	○	○	○	-
R08	13:30	-	○	○	□	○	□	○	○	○	-
R09	14:40	-	○	○	□	○	□	□	○	□	-
R10	17:00	-	○	○	□	○	□	□	○	○	-
R11	19:20	18:10	□	□	■■■	○	■■	□□	□□	□	Hydroxylated glutathione conjugate
R12	23:00	-	○	□	□	○	□	○	○	□	-
R13	24:10	24:10	○	□	■■■	○	■■■	○	□	□	Glutathione conjugate
R14	26:00	-	□□	□□	□	□□	□□	□□	□□	□□	-
R15	27:50	27:50	□□	■■■	■■	■■■	■■	□□	□□	■■	Glycine-cysteine conjugate
R16	29:10	29:00	□□□	■■	■■	■■	■■	□□□	■■■	■■■	Cysteine conjugate
R17	31:00	-	○	□□	□□	□□	□□	○	□□	□□	-
R18	36:00	-	○	□□	□	□□	□	□	□□	□	-
R19	38:00	-	○	□	□	○	□	□	□	□	-
R20	41:00	42:10	□□	■■	○	■■	■	□□□	■	■	Org 300196
R21	43:40	-	□	○	○	○	○	□	○	□	-
R22	47:30	-	○	□	○	○	○	○	○	○	-
R23	51:30	-	□□□	□	□	○	○	□□	○	□	-

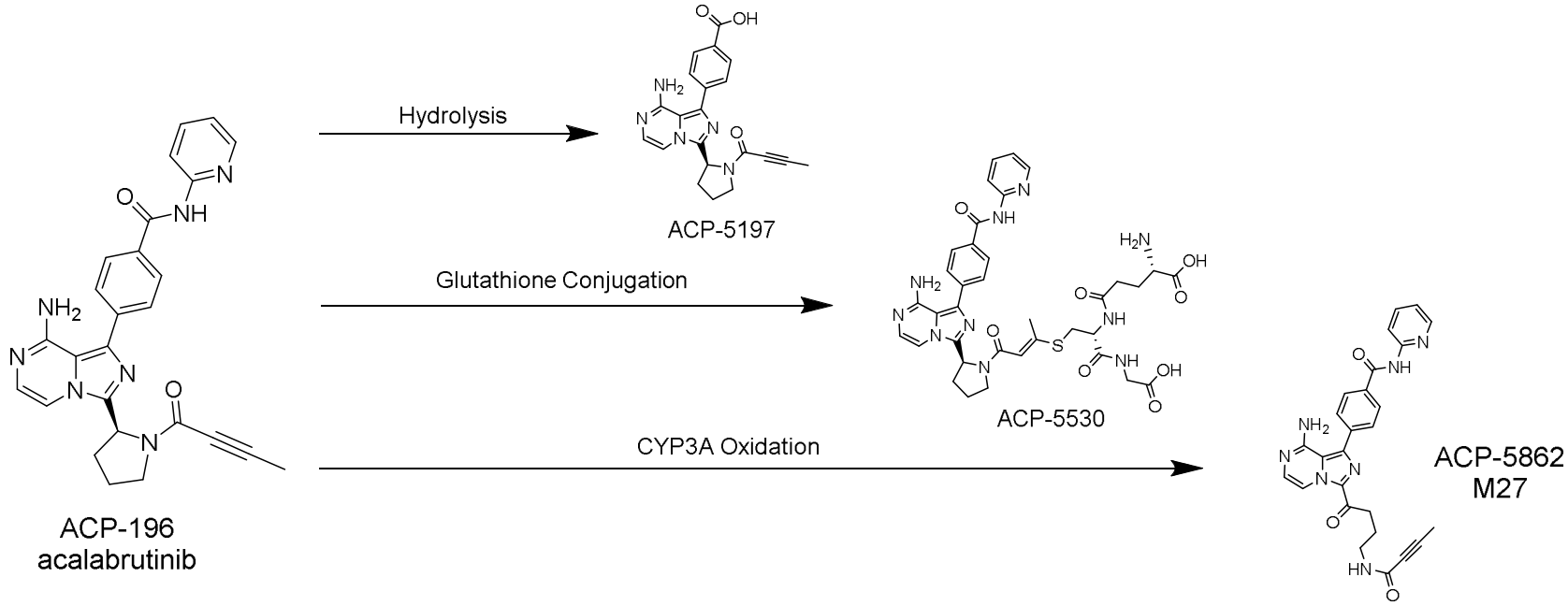
Symbols: □ Minor region (<5% of sample radioactivity); □□ Moderate region (5-15% of sample radioactivity); □□□ Major region (>15% of sample radioactivity) ○ Not detected; - Not applicable/identified; Solid ■ symbols indicate identity of major component in region confirmed by mass spectrometry (identification of other components was tentative; based on chromatographic properties only)	
Conclusion:	1) No metabolites were formed by human hepatocytes that were not observed in hepatocytes from at least one other species. 2) Conjugation of ACP-196 with glutathione was the dominant mechanism for metabolic elimination of ACP-196 in the rat and dog *in vivo* studies, which reflected observations in hepatocytes in all species tested.
Additional Information:	The characteristics of R21, observed as the largest metabolite region of sample radioactivity in cynomolgus monkey and human hepatocytes, prompted further investigations in studies 8320562, 8335668, 8340639, and 8341070.

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：8320562, 8340639, 8341070



Metabolism of acalabrutinib: primary metabolic routes



2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12.1 CYP 阻害

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：XT135097

Type of Study: Inhibition of cytochrome P450 enzymes *in vitro*	
Study systems:	Human liver microsomes
Method:	ACP-196 was evaluated as a reversible inhibitor of the seven major human CYP isoforms in human liver microsomal incubations (XT135097). ACP-196 was incubated at eight concentration levels (0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, and 100 µM in the final incubation) with pooled human liver microsomes. The probe substrates and metabolic reactions for individual CYP isoforms are listed in table below. The enzyme activity was expressed as the concentration of the probe metabolite measured by LC-MS-MS. Known reversible chemical inhibitors were used as positive controls for IC_{50} determinations: alpha-Naphthoflavone (0.5 µM; CYP1A2), orphenadrine (750 µM; CYP2B6), montelukast (0.05 µM; CYP2C8), sulfaphenazole (2 µM; CYP2C9), modafenil (250 µM; CYP2C19), quinidine (0.5 µM; CYP2D6), ketoconazole (0.075 µM; CYP3A4).

CYP enzyme	Specific reaction	% Enzyme Activity of Control [a]								IC_{50} (µM) [b]
		0	0.1	0.3	1	3	10	30	100	
1A2	phenacetin O-dealkylation	100	93.1	96.6	95.9	99.9	90.7	92.7	103	> 100
2B6	Efavirenz-8-hydroxylation	100	99.0	97.1	97.6	97.2	88.5	86.2	80.2	> 100
2C8	amodiaquine dealkylation	100	90.0	86.1	88.7	81.0	71.5	49.6	24.4	37
2C9	diclofenac 4'-hydroxylation	100	104	104	99.9	87.7	73.0	52.8	26.3	28
2C19	S-mephenytoin 4'-hydroxylation	100	93.4	102	96.3	92.3	90.1	78.7	60.4	> 100
2D6	Dextramethorphan O-demethylation	100	99.7	98.7	98.8	95.5	96.6	93.0	85.5	> 100
3A4/5	testosterone 6β-hydroxylation	100	106	105	108	99.3	87.3	72.7	36.2	57
3A4/5	midazolam 1'-hydroxylation	100	99.7	101	97.1	90.9	80.7	66.0	42.7	69

a Percent enzyme activity of control = 100 x (Enzyme activity in the presence of test compound / Enzyme activity in the absence of test compound). Enzyme activity was calculated based on the peak area ratio of the CYP probe metabolite to the internal standard by LC-MS/MS.

b When the percent enzyme activity of control was greater than 50% at the maximum incubation concentration, the IC_{50} was expressed as greater than the highest incubation concentration.

Abbreviations: IC_{50} = half the maximal inhibitory concentration

Additional Information: ACP-196 was not a strong direct inhibitor of CYPs 1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 and CYP3A4.

CYP enzyme	Specific Substrate Reaction	IC_{50} (μM) No preincubation	IC_{50} (μM) Preincubation minus NADPH	IC_{50} (μM) Preincubation plus NADPH
1A2	phenacetin O-dealkylation	> 100	> 100	> 100
2B6	Efavirenz-8-hydroxylation	> 100	> 100	> 100
2C8	amodiaquine N-dealkylation	37	45	18
2C9	diclofenac 4'-hydroxylation	28	29	14
2C19	S-mephenytoin 4'-hydroxylation	> 100	> 100	> 100
2D6	Dextramethorphan O-demethylation	> 100	> 100	> 100
3A4/5	testosterone 6β-hydroxylation	57	58	13
3A4/5	midazolam 1'-hydroxylation	69	76	16

Abbreviations: IC_{50} = half the maximal inhibitory concentration

Additional Information: There was little or no evidence of direct inhibition of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19 or CYP2D6 by ACP-196 with IC_{50} values greater than 100 μM. ACP-196 was a weak metabolism-dependent inhibitor of CYP3A4/5, CYP2C8 and CYP2C9. For CYP3A4/5 a shift in IC_{50} vales from 69 μM to 16 μM (midazolam as substrate) or 57 μM to 13 μM (testosterone as substrate) upon pre-incubation of ACP-196. ACP-196 is a metabolism-dependent inhibitor of CYP2C8 and CYP2C9 isoforms with a shift in IC_{50} values from 37 μM to 18 μM, and a shift in IC_{50} values from 28 μM to 14 μM, respectively

Method: This sub-study was designed to evaluate the ability of ACP-196 (30 μM) to inhibit CYP3A4/5 in human liver microsomes. Experiments were performed to determine if metabolism-dependent inhibition of CYP3A4/5 is reversible by microsomal re-isolation (ultracentrifugation) or treatment with potassium ferricyanide (2 mM) prior to re-isolation. Known mechanism based inhibitors, troleandomycin and mibefradil were used as positive controls. Metabolism-dependent inhibition was further evaluated to determine the rate (*k*inact) and the extent (*K*I) of inactivation of CYP3A4/5 by ACP-196.

Time-dependent inhibition of CYP3A4 in human liver microsomes

	Midazolam 1′-hydroxylation		Testosterone-hydroxylation	
	Activity (pmol/mg protein/min)	% Control	Activity (pmol/mg protein/min)	% Control
Solvent Control (no re-isolation)	1310	100	3170	100
Solvent Control + re-isolation	1310	100	3620	100
Solvent Control + $K_3Fe(CN)_6$ + re-isolation	1320	100	3360	100
30 μM ACP-196 [a] (no re-isolation)	757	58.0	1390	43.7
30 μM ACP-196 [a] + re-isolation	780	59.7	2180	60.1
30 μM ACP-196 [a] + $K_3Fe(CN)_6$ + re-isolation	923	70.0	2470	73.5

a ACP-196 was dissolved in methanol (1% v/v final concentration).

Evaluation of ACP-196 as a metabolism-dependent inhibitor of CYP3A4/5: determination of k_{inact} and K_I values

CYP Inhibition Parameter	Value (testosterone as substrate)	Value (midazolam as substrate)
K_I (μM)	9.2	11
k_{inact} (min^{-1})	0.018	0.019
k_{inact} / K_I (min^{-1} mM^{-1})	2.0	1.8

Abbreviations: K_I = affinity constant for inactivator; K_{inact} = inactivation rate constant

Additional information: ACP-196 appears to be an irreversible metabolism-dependent inhibitor of CYP3A4/5 (testosterone 6β-hydroxylation and midazolam 1´-hydroxylation); the inhibition observed upon preincubation was not reversible by either microsome re-isolation, or treatment with potassium ferricyanide prior to re-isolation. ACP-196 inactivated CYP3A4/5 (testosterone-hydroxylation) with a K_I of 9.2 μM and a k_{inact} of 0.018 min^{-1}. The efficiency of CYP3A4/5 inactivation by ACP-5 was 2 min^{-1} mM^{-1}

2.6.5.12.2 CYP 誘導

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：XT133111

Type of Study: Induction of cytochrome P450 enzymes *in vitro*	
Study systems:	Human hepatocytes
Method:	Hepatocytes from 3 human donors were incubated for 48 hours with ACP-196 (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 or 50 µM) once daily for 3 days, or one of 3 known human CYP enzyme inducers, namely, omeprazole (50 µM), phenobarbital (750 µM) and rifampin (20 µM), positive controls or flumazenil (25 µM), negative control. Following which mRNA for the respective isoforms was quantitated by qRT-PCR.

Treatment	CYP1A2 mRNA fold increase				CYP1A2 increase % of positive control
	HC10-1	HC3-22	HC5-25	(mean±SD)	(mean±SD)
0.1% DMSO	1.00	1.00	1.00	1.00±0	0±0
0.01 µM ACP-196	1.05	1.10	0.742	0.96±0.19	-0.211±0.685
0.05 µM ACP-196	1.02	1.16	0.660	0.95±0.26	-0.295±0.901
0.1 µM ACP-196	0.800	0.901	0.743	0.81±0.08	-0.559±0.387
0.5 µM ACP-196	2.15	1.71	0.836	1.57±0.67	1.22±1.64
1 µM ACP-196	1.48	3.16	1.08	1.91±1.10	2.28±2.79
5 µM ACP-196	7.63	7.27	2.50	5.80±2.86	12.0±5.4
10 µM ACP-196	13.2	13.9	3.39	10.16±5.88	22.8±12.2
50 µM ACP-196	12.0	24.2	32.9	23.03±10.50	68.7±50.5
25 µM Flumazenil	1.12	1.73	0.806	1.22±0.47	0.454±1.307
50 µM Omeprazole	47.2	40.5	26.9	38.20±10.34	100±0
Treatment	CYP2B6 mRNA fold increase				CYP2B6 increase % of positive control
	HC10-1	HC3-22	HC5-25	(mean±SD)	(mean±SD)
0.1% DMSO	1.00	1.00	1.00	1.00±0	0±0
0.01 µM ACP-196	1.21	0.908	0.892	1.00±0.18	0.103±2.212

0.05 µM ACP-196	1.05	0.928	0.820	0.93±0.12	-0.841±1.675
0.1 µM ACP-196	0.944	0.803	0.913	0.89±0.07	-1.17±0.42
0.5 µM ACP-196	1.89	1.24	0.904	1.34±0.50	3.92±6.59
1 µM ACP-196	1.13	1.35	1.07	1.18±0.15	1.82±0.85
5 µM ACP-196	1.30	1.52	1.17	1.33±0.18	3.43±0.83
10 µM ACP-196	1.81	1.23	1.21	1.42±0.34	5.05±4.56
50 µM ACP-196	2.90	1.89	2.36	2.38±0.51	17.0±9.0
25 µM Flumazenil	0.895	1.31	0.831	1.01±0.26	-0.469±2.554
750 µM Phenobarbital	8.86	13.9	7.82	11.38±3.56	100±0
Treatment	CYP3A4 mRNA fold increase				CYP3A4 increase % of positive control
	HC10-1	HC3-22	HC5-25	(mean±SD)	(mean±SD)
0.1% DMSO	1.00	1.00	1.00	1.00±0	0±0
0.01 µM ACP-196	1.24	0.937	0.823	1.00±0.22	-0.733±2.351
0.05 µM ACP-196	1.31	1.10	0.76	1.06±0.28	0.186±3.460
0.1 µM ACP-196	1.24	0.921	0.769	0.98±0.24	-1.13±2.76
0.5 µM ACP-196	2.05	0.989	0.863	1.30±0.65	1.82±5.31
1 µM ACP-196	1.30	0.898	1.01	1.07±0.21	0.154±2.120
5 µM ACP-196	1.11	0.936	1.14	1.06±0.11	0.613±1.746
10 µM ACP-196	1.21	0.993	1.51	1.24±0.26	3.17±4.31
50 µM ACP-196	0.886	0.414	2.44	1.25±1.06	3.56±17.51
25 µM Flumazenil	1.16	1.37	0.822	1.12±0.28	1.83±4.99
20 µM Rifampin	14.3	6.18	7.31	9.26±4.40	100±0

Abbreviations: SD = standard deviation

Additional information: Under the conditions where positive controls caused anticipated and appropriate increases in CYP mRNA. Treatment of human hepatocytes with up to 50 µM ACP-196 caused concentration-dependent increases (>2.0-fold and >20% of the positive control, up to 32.9-fold change) in CYP1A2 mRNA levels, and in at least one of the 3 hepatocyte preparations tested, treatment at 50 µM ACP-196 increased (>2.0-fold and/or ≥20% of the positive control) CYP2B6 and 3A4 mRNA levels (up to 2.9- and 2.44-fold, respectively). ACP-196 caused little, or no induction of CYP2B6 or CYP3A4 mRNA at concentrations (10 µM) that are > 6-fold the estimated C_{max} of ACP-196 (1.45 µM) in humans following an oral dose of 100 mg. ACP-196 caused an approximately 2-fold induction of CYP1A2 mRNA at concentrations (1 µM) that are similar to the estimated C_{max} of ACP-196 (1.45 µM) in humans following an oral dose of 100 mg. Therefore, ACP-196 is not anticipated to be a strong inducer of CYP isoforms.

2.6.5.12.3 CYP 阻害（代謝物 ACP-5862）

被験物質：ACP-5862
試験番号：XT165071

Type of Study: *In vitro* evaluation of ACP-5862 as an inhibitor of cytochrome P450 (CYP) enzymes in human liver microsomes	
Study systems:	Human liver microsomes
Method:	ACP-5862 was evaluated as a reversible inhibitor of the seven major human CYP isoforms in human liver microsomal incubations. ACP-5862 was incubated at eight concentration levels (0, 0.02, 0.06, 0.2, 0.6, 2, 6, and 20 µM in the final incubation) with pooled human liver microsomes. The probe substrates and metabolic reactions for individual CYP isoforms are listed in table below. The enzyme activity was expressed as the concentration of the probe metabolite measured by LC-MS-MS. Known reversible chemical inhibitors were used as positive controls for IC_{50} determinations: alpha-Naphthoflavone (0.5 µM; CYP1A2), orphenadrine (750 µM; CYP2B6), montelukast (0.05 µM; CYP2C8), sulfaphenazole (2 µM; CYP2C9), modafenil (250 µM; CYP2C19), quinidine (0.5 µM; CYP2D6), ketoconazole (0.075 µM; CYP3A4).

CYP enzyme	Specific reaction	% Enzyme Activity of Control [a]								IC_{50} (μM) [b]
		0 μM	0.02 μM	0.06 μM	0.2 μM	0.6 μM	2 μM	6 μM	20 μM	
1A2	phenacetin O-dealkylation	100	93.0	95.5	98.2	89.8	92.8	93.8	88.3	> 20
2B6	Efavirenz-8-hydroxylation	100	93.9	97.4	99.1	92.4	96.4	94.7	90.1	> 20
2C8	amodiaquine dealkylation	100	100	96.7	99.8	92.7	92.0	83.1	68.5	> 20
2C9	diclofenac 4'-hydroxylation	100	103	101	100	86.9	76.2	49.5	29.5	6.7
2C19	S-mephenytoin 4'-hydroxylation	100	103	100	105	91.5	92.9	72.4	45.9	17
2D6	Dextramethorphan O-demethylation	100	98.2	97.3	102	95.7	95.3	88.2	84.9	> 20
3A4/5	midazolam 1'-hydroxylation	100	95.7	97.7	93.0	89.5	92.7	92.9	93.6	> 20
3A4/5	testosterone 6β-hydroxylation	100	90.9	92.8	96.0	91.3	90.1	85.0	89.5	> 20

a Percent enzyme activity of control = 100 x (Enzyme activity in the presence of test compound / Enzyme activity in the absence of test compound). Enzyme activity was calculated based on the peak area ratio of the CYP probe metabolite to the internal standard by LC-MS/MS.

b When the percent enzyme activity of control was greater than 50% at the maximum incubation concentration, the IC_{50} was expressed as greater than the highest incubation concentration.

Abbreviations: IC_{50} = half the maximal inhibitory concentration

Additional information: ACP-5862 was not a strong direct inhibitor of CYPs 1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 and CYP3A4/5.

CYP enzyme	Specific Substrate Reaction	IC_{50} (μM) No preincubation	IC_{50} (μM) Preincubation minus NADPH	IC_{50} (μM) Preincubation plus NADPH
1A2	phenacetin O-dealkylation	>20	>20	>20
2B6	Efavirenz-8-hydroxylation	>20	>20	>20
2C8	amodiaquine N-dealkylation	>20	>20	3.9
2C9	diclofenac 4′-hydroxylation	6.7	10	6.5
2C19	S-mephenytoin 4′-hydroxylation	17	15	15
2D6	Dextramethorphan O-demethylation	>20	>20	>20
3A4/5	testosterone 6β-hydroxylation	>20	>20	>20
3A4/5	midazolam 1′-hydroxylation	>20	>20	>20

Abbreviations: IC_{50} = half the maximal inhibitory concentration

Additional information: There was little or no evidence of direct inhibition of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2D6, or CYP3A4/5 by ACP-5862 with IC_{50} values greater than 20 μM. ACP-5862 was a weak metabolism-dependent inhibitor of CYP2C8 indicated by a shift in IC_{50} vales from > 20 μM to 3.9 μM upon preincubation of ACP-5862.

Method: This sub-study was designed to evaluate the ability of ACP-5862 (up to 20 μM) to inhibit CYP2C8 in human liver microsomes. Experiments were performed to determine if metabolism-dependent inhibition of CYP2C8 is reversible by microsomal re-isolation (ultracentrifugation) or treatment with potassium ferricyanide (2 mM) prior to re-isolation. Known mechanism based inhibitors, troleandomycin and mibefradil were used as positive controls. Metabolism-dependent inhibition was further evaluated to determine the rate (k_{inact}) and the extent (K_I) of inactivation of CYP2C8 by ACP-5862.

Time-dependent inhibition of CYP2C8 in human liver microsomes

	Amodiaquine N-dealkylation		
	Activity (pmol/mg protein/min)	% of Control	
Solvent Control (no re-isolation)	1070	100	
Solvent Control + re-isolation	521	100	
Solvent Control + $K_3Fe(CN)_6$ + re-isolation	455	100	
20 μM ACP-5862 (no re-isolation)	298	28.0	
20 μM ACP-5862[3] + re-isolation	202	38.8	
20 μM ACP-5862 + $K_3Fe(CN)_6$ + re-isolation	178	39.1	

Evaluation of ACP-5862 as a metabolism-dependent inhibitor of CYP2C8: Determination of k_{inact} and K_I values

CYP Inhibition Parameter	Value	
K_I (μM)	4.0	
k_{inact} (min^{-1})	0.012	
k_{inact} / K_I ($min^{-1}mM^{-1}$)	3.1	

Abbreviations: K_I = affinity constant for inactivator; k_{inact} = inactivation rate constant

Additional information: ACP-5862 appears to be an irreversible metabolism-dependent inhibitor of CYP2C8 (amodiaquine N-dealkylation); the inhibition observed upon preincubation was not reversible by either microsome re-isolation, or treatment with potassium ferricyanide prior to re-isolation. ACP-5862 inactivated CYP2C8 with a K_I of 4.0 μM and a k_{inact} of 0.012 min^{-1}. The efficiency of CYP2C8 inactivation by ACP-5862 was 3.1 min^{-1} mM^{-1}

2.6.5.12.4 CYP 誘導（代謝物 ACP-5862）

被験物質：ACP-5862
試験番号：XT163068

Type of Study: *In vitro* evaluation of ACP-5862 as an inducer of cytochrome P450 expression in cultured human hepatocytes	
Study systems:	Human hepatocytes
Method:	Hepatocytes from 3 human donors were incubated for 48 hours with ACP-5862 (0.1, 0.5, 1, 5, 10 or 50 µM) once daily for 3 days, or one of 3 known human CYP enzyme inducers, namely, omeprazole (50 µM), phenobarbital (750 µM) and rifampin (20 µM), positive controls or flumazenil (25 µM), negative control. Following which mRNA for the respective isoforms was quantitated by qRT-PCR.

Treatment	CYP1A2 mRNA fold change				CYP1A2 increase % of positive control
	H1249	H1252	HC7-12	(mean ± SD)	(mean ± SD)
0.1% DMSO	1.00	1.00	1.00	1.00±0	0±0
0.1 µM ACP-5862	1.01	1.06	0.646	0.91±0.23	-0.163±0.484
0.5 µM ACP-5862	0.908	0.318	0.647	0.62±0.30	-0.949±0.241
1 µM ACP-5862	0.522	1.44	1.02	0.99±0.46	-1.33±3.04
5 µM ACP-5862	1.03	1.10	0.642	0.92±0.25	-0.085±0.561
10 µM ACP-5862	0.465	1.12	0.805	0.80±0.33	-1.85±3.07
50 µM ACP-5862	0.505	0.335	1.05	0.63±0.37	-2.02±2.64
25 µM Flumazenil	0.997	1.48	0.647	1.04±0.42	0.031±0.784
50 µM Omeprazole	10.9	57.8	50.0	39.57±25.13	100±0

Treatment	CYP2B6 mRNA fold change				CYP2B6 increase % of positive control
	H1249	H1252	HC7-12	(mean ± SD)	(mean ± SD)
0.1% DMSO	1.00	1.00	1.00	1.00±0	0±0
0.1 µM ACP-5862	1.05	1.12	0.551	0.91±0.31	-2.85±7.85
0.5 µM ACP-5862	1.09	0.416	0.544	0.68±0.36	-4.84±7.96
1 µM ACP-5862	0.614	1.35	0.659	0.87±0.41	-6.99±9.79
5 µM ACP-5862	1.25	1.71	0.730	1.23±0.49	3.40±9.22

Treatment	CYP2B6 mRNA fold change				CYP2B6 increase % of positive control
	H1249	H1252	HC7-12	(mean ± SD)	(mean ± SD)
10 μM ACP-5862	0.678	1.55	0.908	1.05±0.45	-3.23±9.40
50 μM ACP-5862	0.920	0.943	1.13	1.00±0.12	-0.095±3.42
25 μM Flumazenil	1.10	1.81	0.698	1.20±0.56	1.49±8.51
750 μM Phenobarbital	3.47	10.6	4.78	6.28±3.80	100±0

Treatment	CYP3A4 mRNA fold change				CYP3A4 increase % of positive control
	H1249	H1252	HC7-12	(mean ± SD)	(mean ± SD)
0.1% DMSO	1.00	1.00	1.00	1.00±0	0±0
0.1 μM ACP-5862	1.54	1.45	1.37	1.45±0.09	0.624±0.247
0.5 μM ACP-5862	1.97	1.29	1.20	1.49±0.42	0.518±0.138
1 μM ACP-5862	1.68	2.01	1.41	1.70±0.30	0.950±0.475
5 μM ACP-5862	3.20	1.47	1.75	2.14±0.93	1.32±0.58
10 μM ACP-5862	3.47	2.23	2.48	2.73±0.66	2.30±1.01
50 μM ACP-5862	7.68	4.25	3.73	5.22±2.15	5.20±1.06
25 μM Flumazenil	1.35	3.33	0.768	1.82±1.34	0.988±2.015
20 μM Rifampin	146	72.2	43.5	87.2±52.9	100±0

Abbreviations: SD = standard deviation

Additional information: Under the conditions where positive controls caused anticipated and appropriate increases in CYP mRNA, ACP-5862 caused no induction of CYP1A2 and CYP2B6 mRNA at concentrations (50 μM) that are approximately 50-fold greater than the C_{max} of ACP-5862 (0.84 μM) in humans following an oral dose of 100 mg of acalabrutinib. ACP-5862 caused some modest induction of CYP3A4 mRNA (2.2 to 3.5 fold, that were 2.3 – 5.7 % of positive control, rifampin) at concentrations (10 μM) that are approximately 10-fold greater than the C_{max} of ACP-5862 (0.84 μM). Under the conditions of this assay, the positive control, rifampin, caused a 43.5 - 146-fold increase in CYP3A4 mRNA. Therefore, ACP-5862 is not anticipated to be strong inducer of CYP isoforms.

2.6.5.12.5 アルデヒドオキシダーゼ阻害

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：XT145007

Type of Study: Inhibition of aldehyde oxidase	
Study systems:	Human liver S9 and cytosol
Method:	The ability of ACP-196 at concentrations ranging from 0.1 to 100 µM to inhibit AO was examined in pooled human liver S9 and cytosol prepared from non-transplantable, donated livers from 50 individuals. The kinetic constants (K_m) used to select marker substrate concentrations and incubation conditions were determined. Phthalazine and p-vanillin were used as reference aldehyde oxidase substrates. Raloxifene and hydralazine were used as aldehyde oxidase inhibitors. ACP-196 was a direct inhibitor of AO-mediated phthalazine oxidation and p-vanillin oxidation with a maximum of 41% inhibition of either aldehyde oxidase activity observed in incubations containing 100 µM ACP-196. IC_{50} values are reported as >100 µM. There was little or no evidence that ACP-196 was a time-dependent inhibitor of either AO activity.

Enzyme activity	Direct inhibition		Time-dependent inhibition		
	Zero-minute preincubation		30-minute preincubation		Potential for time-dependent inhibition [c]
	IC_{50} (µM) [a]	Inhibition observed at 100 µM (%) [b]	IC_{50} (µM) [a]	Inhibition observed at 100 µM (%) [b]	
Phthalazine oxidation	> 100	35	> 100	40	No
p-Vanillin oxidation	> 100	28	> 100	41	No

a Average data (i.e., percent of control activity) obtained from duplicate samples for each test article concentration were used to calculate IC_{50} values. IC_{50}

b Inhibition observed (%) is calculated with the following formula (results are rounded to two significant figures): Inhibition observed (%) = 100% − Percent solvent control.

c Time-dependent inhibition was determined by comparison of IC_{50} values both with and without pre-incubation, by comparison of the observed inhibition (%) for all preincubation conditions and by visual inspection of the IC_{50} plots.

Abbreviations: IC_{50} = half the maximal inhibitory concentration

2.6.5.12.6 UGT1A1 及び UGT2B7 阻害

被験物質：アカラブルチニブ、ACP-5862
試験番号：BS001953-23

Type of Study: Inhibition of UGT 1A1 and 2B7	
Study systems:	Human liver microsomes
Method:	The objectives of this study were to determine the inhibition of ACP-196 and ACP-5862 on selected UGT activities (UGT1A1 and UGT2B7) in human liver microsomes and to determine and report the IC_{50} value, where applicable. Estradiol was used as a marker substrate for UGT1A1-mediated activity and AZT (zidovudine) for UGT2B7. No inhibition of UGT1A1 and UGT2B7 activity by ACP-196 were observed over the concentration range from 0.003 to 3 µM. Inhibition of UGT1A1 activity by metabolite ACP-5862 was observed at 3 µM (34.7%) but was not sufficient to determine an IC_{50} (IC_{50} >3 µM). No inhibition of UGT2B7 activity by metabolite ACP-5862 was observed over the concentration range from 0.003 to 3 µM.

Compound	Human Isozyme	IC_{50} (µM)	Percent Inhibition from Solvent Control of Reference Inhibitor (%)
Acalabrutinib	UGT1A1	N/A	0.00
	UGT2B7	N/A	1.19
ACP-5862	UGT1A1	>3	34.7
	UGT2B7	N/A	4.80

Results: Neither ACP-196 nor ACP-5862 were potent inhibitors of UGT1A1 and UGT2B7.

Abbreviations: IC_{50}=inhibitory concentration causing half-maximal inhibition, N/A=not applicable; UGT=UDP-glucuronosyl transferase.

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1 ラット

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：8338525

Type of Study: Pharmacokinetics, distribution, metabolism, and excretion of [^{14}C]ACP-196 following oral administration to rats	
Species:	Sprague-Dawley rat
Gender (M/F) / No. of Animals:	3 males, 3 females
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.077 N hydrochloric acid in reverse osmosis water (final pH 2.8)
Method of Administration:	Oral gavage
Dose (mg/kg):	100 mg/kg (approximately 50 μCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]ACP-196
Specific Activity:	57 mCi/mmol
Analyte / Assay:	[^{14}C]ACP-196; Liquid Scintillation Counting

Type of Sample	Time of Collection (h)	Cumulative percentage of administered dose recovered (%)	
		Mean Male (± SD, n=3)	Mean Female (± SD, n=3)
Urine	0-8	1.92±0.66	1.95±0.15
	0-24	2.51±0.78	3.02±0.38
	0-48	2.65±0.77	3.40±0.31
	0-72	2.68±0.77	3.51±0.23
	0-96	2.70±0.77	3.61±0.25
Feces	0-24	83.1±9.1	36.1±28.8
	0-48	90.8±6.0	87.2±3.8
	0-72	91.1±6.0	88.0±3.7
	0-96	91.2±6.0	88.3±3.6
Cage Rinse	0-24	0.188±0.018	0.474±0.216
	0-48	0.229±0.034	0.707±0.350
	0-72	0.246±0.034	0.820±0.398
Carcass (residual)	96	0.667±0.063	0.992±0.494
Total	NA	96.8±3.5	94.3±2.6
Summary: Following a single-dose administration of [^{14}C]ACP-196, radioactivity was rapidly eliminated in feces, essentially complete by 48 hours postdose, with a small percentage of the administered dose also recovered in urine. The overall recoveries from urine, feces, and total recovered were approximately 3%, >88%, and >94%, respectively, indicating the fecal route was the main route of elimination of drug related radioactivity, and renal clearance was limited. There was no difference between genders in the route nor rate of eliminated radioactivity.			

Abbreviations: NA = not applicable; SD = standard deviation

2.6.5.13.2 イヌ

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：8338526

Type of Study: Absorption, metabolism, and excretion of [^{14}C]ACP-196 following oral administration to dogs	
Species:	Beagle dog
Gender (M/F) / No. of Animals:	3 males, 3 females
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.058 N hydrochloric acid in reverse osmosis water (final pH 2.9)
Method of Administration:	Oral gavage
Dose (mg/kg):	30 mg/kg (approximately 10 μCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]ACP-196
Specific Activity:	57 mCi/mmol
Analyte / Assay:	[^{14}C]ACP-196; Liquid Scintillation Counting

Type of Sample	Time of Collection (h)	Cumulative percentage of administered dose recovered (%)	
		Male (Mean ± SD, n=3)	Female (Mean ± SD, n=3)
Urine	0-4	0.00±0.00	3.60±3.44
	0-8	3.68±5.79	11.5±4.3
	0-24	14.2±1.5	13.4±3.7
	0-48	14.8±1.6	14.1±3.4
	0-72	15.1±1.4	14.3±3.3
	0-96	15.2±1.4	14.6±3.0
Feces	0-24	64.8±1.6	56.5±12.8
	0-48	70.5±0.2	67.7±8.7
	0-72	71.4±0.7	68.8±8.1
	0-96	71.8±0.7	69.3±7.9
Cage Rinse	0-24	1.52±0.75	0.972±1.22
	0-48	2.19±0.89	1.48±1.79
	0-72	2.53±0.93	1.63±1.94
Total	N/A	91.1±0.5	87.5±6.3
Summary: Following a single oral dose administration of [^{14}C]ACP-196, radioactivity was rapidly eliminated though urine and feces. The overall mean recoveries from urine, feces, and total recovered were 14.9±2.12%, 70.6 ±5.20%, and 89.3±4.41%, respectively, indicating the fecal route was the main route of elimination of drug related radioactivity. There was no difference between genders in the route or rate of eliminated radioactivity.			

Abbreviations: NA = not applicable; SD = standard deviation

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：ESN0330

Type of Study: Excretion of [^{14}C]ACP-196 into bile and urine following oral administration to rats and dogs	
Species:	Sprague-Dawley rat and Beagle dog
Gender (M/F) / No. of Animals:	2 male rats, 1 male dogs
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	DMSO, Solutol® HS15 and 5% w/v aqueous mannitol solution (5:10:85 v/v/v) to give a target [^{14}C]Org 300196 concentration of 1 mg/mL or 2.5 mg/mL.
Method of Administration:	Intravenous and oral
Dose (mg/kg):	Rat intravenous (2 mg/kg), rat oral (5 mg/kg), dog intravenous (1 mg/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]Org 300196 ([^{14}C]ACP-196)
Specific Activity:	49.6 mCi/mmol
Analyte / Assay:	[^{14}C]ACP-196; Liquid Scintillation Counting

Type of Sample	Time of Collection (h)	Recovery of Radioactivity (% of dose)		
		Rat 201M Intravenous (2 mg/kg)	Rat 301 M Oral (5 mg/kg)	Dog 501M Intravenous (1 mg/kg)
Urine	0-4	14.5	1.6	<0.1
	4-8	1.0	1.2	23.5
	8-24	0.6	0.7	8.4
	0-24	16.1	3.4	31.8
Bile	0-4	66.4	22.3	15.3
	4-8	1.4	11.3	1.9
	8-24	1.1	5.1	1.6
	0-24	69.0	38.8	18.8
Total	0-24	85.1	42.2	50.7
Summary: Following a single-dose administration of [^{14}C]ACP-196, radioactivity was rapidly eliminated in bile. The overall 0-24 hours recovery of radioactivity from the rat following intravenous administration was 85.1% of dose, with 69.0% of dose in bile and 16.1% of dose in urine (mostly between 0-4 hours postdose). Following oral administration, the overall 0-24 hours recovery of radioactivity from the rat was reduced to 42.2% of dose, principally in bile which contained 38.8% of dose (mostly between 0-8 hours postdose). For the dog, the overall 0-24 hours recovery of radioactivity was 50.7%, but unlike for rats, urinary excretion accounted for the majority of this (31.8% of dose, mostly between 4-8 hours postdose), whilst biliary excretion was lower (18.8% of dose, mostly between 0-4 hours postdose). Metabolites excreted in bile were separated and quantitated by radiochemical HPLC and characterized by LC-MS/MS. Acalabrutinib was metabolized extensively, the principal routes were hydrolysis of the pyridine amine group to form a carboxylic acid metabolite, glutathione conjugation, and oxidation on the pyrrolidine ring.				

Abbreviations: HPLC = high performance liquid chromatography

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1 各種トランスポーターの阻害剤及び P-gp(MDR1)の基質となる可能性

被験物質：アカラブルチニブ

試験番号：XT138100

Type of Study: Evaluation of ACP-196 as a substrate for P-glycoprotein (MDR1)
Study systems: MDCKII, Caco-2 and HEK293 cells
Method: MDCKII-MDR1 cells (Madin-Darby Canine Kidney cells overexpressing human MDR1) were used in experiments to determine if ACP-196 (1, 10 and 30 μM) was a substrate of human P-gp (MDR1). Substrate determination was evaluated for P-gp in MDCKII cells by measuring the bidirectional permeability of ACP-196.

Substrate	Substrate concentration (μM)	MDR1-expressing cells			Net efflux ratio
		P_{app} (1×10^{-6} cm/sec)		Efflux ratio	
		Apical to basal	Basal to apical		
ACP-196	1	1.86±0.20	78.8±3.2	42.4	NA
	10	2.22±0.09	80.7±1.1	36.4	25.1
	30	1.96±0.13	56.3±0.8	28.7	NA
	1 (+10 μM Valspodar)	24.1±1.1	22.6±1.6	0.935	NA
	10 (+10 μM Valspodar)	18.0±1.0	22.2±1.6	1.24	NA
	30 (+10 μM Valspodar)	16.5±0.3	16.6±1.7	1.01	NA
Results: ACP-196 (10 μM) was a good substrate for MDR1 with a basolateral to apical (B-A) and apical to basolateral (A-B) corrected efflux ratio of 25.1 in MDCKII-MDR1 cells over-expressing MDR1					

Abbreviations: MDR1 = multi-drug resistance gene 1; NA = not applicable

Type of Study: Evaluation of ACP-196 as an inhibitor of P-glycoprotein (MDR1)						
Method: Caco-2 cells were used in the P-glycoprotein inhibition analysis. The bidirectional permeability of digoxin (10 µM) across Caco-2 cell monolayers in the presence of ACP-196 (0, 3, 10, 30, 100, 300 and 400 µM) was measured to determine if ACP-196 was an inhibitor of P-gp. Valspodar (1 µM) and verapamil (60 µM) were used as positive controls.						
Inhibitor	Inhibitor concentration (µM)	Digoxin P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Net flux	Relative transport (Percent of control, %)	IC_{50} parameters
		Apical to basal	Basal to apical			
ACP-196	0	0.721±0.188	25.6±4.2	24.9	100.0	IC_{50}: 98.3 µM Slope: 1.43 Min: 0 % Max: 95.7%
	3	0.974±0.448	21.8±4.3	20.8	83.8	
	10	0.702±0.139	23.9±4.5	23.2	93.5	
	30	1.34±0.45	24.4±2.3	23.0	92.7	
	100	5.93±0.30	14.7±3.1	8.74	35.2	
	300	2.17 (n=2)	8.88±2.33	6.72	27.0	
	400	2.60±1.01	5.42 (n=2)	2.82	11.3	
Valspodar	0	0.721±0.188	25.6±4.2	24.9	100.0	NA
	1	6.84±1.21	10.0±0.9	3.16	12.7	
Verapamil	0	0.721±0.188	25.6±4.2	24.9	100.0	NA
	60	4.37±1.28	8.07±0.55	3.70	14.9	
Results: ACP-196 was not a strong inhibitor of P-gp at clinically relevant systemic or gastrointestinal concentrations						

Abbreviations: IC_{50} = half the maximal inhibitory concentration; max = maximum; min = minimum; NA = not applicable; P-gp = permeability glycoprotein

Type of Study: Evaluation of ACP-196 as an Inhibitor of Breast Cancer Resistance Protein (BCRP)						
Method: MDCKII-BCRP cells were used in the BCRP inhibition analysis. The bidirectional permeability of prazosin (1 μM) in MCDKII-BCRP cells across monolayer cell cultures of MDCKII-BCRP was measured to determine if ACP-196 (0, 0.4, 1.2, 12, 40, 120, 400 μM) was an inhibitor of BCRP. Ko143 (1 μM) and ritonavir (50 μM) were used as positive controls.						
Inhibitor	Inhibitor concentration (μM)	Digoxin P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Corrected Efflux Ratio	Relative transport (Percent of control, %)	IC_{50} parameters
		Apical to basal	Basal to apical			
ACP-196	0	13.4 ± 1.5	57.5 ± 15.9	4.90	100	IC_{50}: 40.9 μM Slope: 1.00 Min: 0 % Max: 100%
	0.4	14.8 ± 1.6	65.9 ± 3.1	4.35	86.0	
	1.2	18.1 ± 4.6	67.3 ± 5.7	3.69	69.0	
	12	16.8 ± 0.4	62.9 ± 3.8	4.00	76.9	
	40	23.1 ± 3.0	59.8 ± 3.5	3.08	53.4	
	120	25.8 ± 1.4	53.1 ± 1.8	2.06	27.1	
	400	29.7 ± 5.2	37.1 ± 0.4	1.34	8.7	
Ko143	0	13.4 ± 1.5	57.5 ± 15.9	4.90	100	NA
	1	35.1 ± 2.2	31.2 ± 3.4	0.94	-1.5	
Ritonavir	0	13.4 ± 1.5	57.5 ± 15.9	4.90	100	NA
	50	34.2 ± 3.7	49.8 ± 4.3	2.02	26.2	
Results: ACP-196 was an inhibitor of BCRP at clinically relevant systemic concentrations see 2.6.4.7.3.						

Abbreviations: BCRP=breast cancer resistance protein; conc.=concentration; IC_{50}=inhibitory concentration causing half-maximal inhibition; max=maximum; min=minimum; NA=not applicable; Papp=apparent permeability.

Type of Study: Evaluation of ACP-196 as an inhibitor of OAT1, OAT3, OATP1B1, OATP1B3 and OCT2

Methods: HEK293 (Human embryonic kidney 293) cells expressing transporters (HEK293 cells transfected with vectors containing human transporter cDNA for OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3 and OCT2) and control cells (HEK293 cells transfected with only vectors) were used to assess inhibition of these transporters by ACP-196 (0, 2, and 20 µM). The following substrates were used: estradiol glucuronide (50 nM; OATP1B1 and OATP1B3), p-aminohippurate (1 µM; OAT1), estrone sulfate (50 nM; OAT3) and metformin (10 µM; OCT2). The following positive control inhibitors were used: rifampin (10 µM; OATP1B1 and OATP1B3), probenecid (100 µM; OAT1 and OAT3) and quinidine (300 µM; OCT2)

Inhibitor	Inhibitor concentration (µM)	OAT1 uptake		OAT3 uptake	
		OAT1 uptake rate (pmol/mg/min)	Percent of control (%)	OAT3 uptake rate (pmol/mg/min)	Percent of control (%)
ACP-196	0	66.8	100	2.06	100
	2	58.8	87.9	1.79	86.7
	20	53.1	79.5	1.33	64.4
Probenecid	100	4.96	7.4	0.0737	3.6

Inhibitor	Inhibitor concentration (µM)	OATP1B1 uptake		OATP1B3 uptake	
		OATP1B1 uptake rate (pmol/mg/min)	Percent of control (%)	OATP1B3 uptake rate (pmol/mg/min)	Percent of control (%)
ACP-196	0	1.38	100	0.315	100
	2	1.61	117	0.357	113
	20	1.43	104	0.288	91.5
Rifampin	10	0.101	7.3	0.00591	1.9

Inhibitor	Inhibitor concentration (µM)	OCT2 uptake	
		OCT2 uptake rate (pmol/mg/min)	Percent of control (%)
ACP-196	0	288	100
	2	261	90.8
	20	117	40.7
Quinidine	300	4.58	1.6

Results: ACP-196 was not an inhibitor of OATP1B1 and OATP1B3 at concentrations up to 20 µM. ACP-196 was not an inhibitor of OAT1 and OAT3 with minimal (< 36%) inhibition at concentrations of ACP-196 up to 20 µM. ACP-196 was not a potent inhibitor of OCT2 with 60% inhibition at concentrations of ACP-196 up to 20 µM. In conclusion, ACP-196 is not anticipated to alter the pharmacokinetics of other therapeutic agents that are substrates for OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3 or OCT2.

2.6.5.15.2 各種トランスポーターの基質となる可能性

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：XT148083

Type of Study: Evaluation of ACP-196 as a substrate for BCRP and to determine if ACP-196 is a substrate of human SLC transporters OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, and OCT2	
Study systems:	MDCKII and HEK293 cells
Methods:	To determine if ACP-196 (1, 3 and 10 μM) is a substrate of the human ABC transporter BCRP, the bidirectional permeability of ACP-196 across MDCKII-BCRP cells was measured in the presence and absence of a BCRP inhibitor. To determine if ACP-196 (1, 3 and 10 μM) is a substrate of human SLC transporters (namely, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3 and OCT2), the accumulation of ACP-196 (1, 3 and 10 μM) in transporter-expressing and control HEK293 cells was measured in the presence and absence of a known transporter inhibitor.

BCRP substrate determination: Bidirectional permeability of ACP-196 across MDCKII-BCRP and control cells

Substrate	Incubation time (min)	Transported (pmol)		P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux ratio	Recovery (%)	
		Apical to basal	Basal to apical	Apical to basal	Basal to apical		Apical to basal	Basal to apical
ACP-196 (1 μM)	15	1.08(n=2)	13.9±4.6	8.53±0.49	54.2±1.2	6.36	86.6	94.4
	30	3.09±2.19	28.0±1.1					
	120	16.4±8.2	99.9±2.2					
ACP-196 (1 μM) (+) Ko143 (1 μM)	15	2.46±0.27	8.45±0.61	19.0±1.9	42.9±8.7	2.25	103	99.5
	30	14.5(n=2)	43.2±2.7					
	120	37.2±7.2	74.4±1.9					
ACP-196 (3 μM)	15	2.67±1.34	37.2±5.3	5.36±0.22	45.2±2.4	8.44	100	101
	30	8.77±1.45	82.5(n=2)					
	120	29.0±8.0	250±42					
ACP-196 (3 μM) (+) Ko143 (1 μM)	15	12.7±6.6	30.4±2.6	15.4±1.3	35.0±6.6	2.27	94.7	86.4
	30	31.5±4.3	115±5					
	120	83.0±14.1	207±17					
ACP-196 (3 μM) in control cells	15	13.2±2.7	23.1±0.5	15.2±0.3	31.7±0.5	2.09	100	104
	30	22.1±2.4	48.0±3.6					
	120	88.2±22.0	176±11					
ACP-196 (10 μM)	15	11.7±5.4	117±15	5.92±0.38	48.7±1.9	8.23	94.7	103
	30	37.7±5.1	275±17					
	120	108±25	892±85					
ACP-196 (10 μM) (+) Ko143 (1 μM)	15	65.7±40.4	106±10	16.9±1.6	36.9±8.5	2.18	92.1	101
	30	126±12	410±32					
	120	329±32	652±14					

Substrate	[Ko143] (μM)	Control cells			BCRP cells			Net efflux ratio	Percent of control (%)	Recovery (%)			
		P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux ratio	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)		Efflux ratio			Control cells		BCRP cells	
		A to B	B to A		A to B	B to A				A to B	B to A	A to B	B to A
Prazosin (1 μM)	0	30.8 (n=2)	44.5±4.9	1.45	10.9±1.8	71.8±3.7	6.60	4.56	100	98.7	99.9	98.4	95.5
	1	45.7±4.2	44.3±3.6	0.968	38.3±0.4	48.7±3.3	1.27	1.31	8.8				

Note: Values are triplicate determinations rounded to 3 significant figures with standard deviations rounded to the same degree of accuracy.
Note: Percentages are rounded to one decimal place except percentages ≥ 100, which are rounded to the nearest whole number.

OATP1B1 substrate determination: Accumulation of ACP-196 in OATP1B1 and control cells

Substrate	Substrate concentration (μM)	Incubation time (min)	Transported (pmol)		Uptake (pmol/mg protein)		Uptake ratio
			Control	OATP1B1	Control	OATP1B1	
ACP-196	1	1	3.60±0.11	4.26±0.31	19.8±0.6	28.5±2.1	1.44
		3	4.97±0.54	5.18±0.33	27.3±3.0	34.6±2.2	1.27
		10	4.97±0.30	4.93±0.49	27.3±1.6	32.9±3.3	1.21
	3	1	8.95±0.98	8.24±0.75	49.2±5.4	55.0±5.0	1.12
		3	14.2±1.6	11.3±0.5	77.8±8.8	75.3±3.3	0.968
		10	13.4±0.3	10.4±1.0	73.8±1.9	69.6±6.9	0.944
	10	1	29.8±0.6	25.2±0.4	164±3	168±3	1.03
		3	41.3±2.7	34.4±2.0	227±15	230±13	1.01
		10	41.3±4.8	33.8±4.2	227±26	225±28	0.995
ACP-196 (+) Rifampin (10 μM)	1	1	4.10±0.28	4.29±1.05	22.5±1.6	28.7±7.0	1.27
		3	4.86±0.27	5.15±0.41	26.7±1.5	34.4±2.7	1.29
		10	5.23±0.82	5.01±0.26	28.7±4.5	33.5±1.7	1.16
	3	1	11.4±0.8	8.86±0.67	62.7±4.2	59.2±4.5	0.943
		3	12.5±0.6	11.0±0.2	68.9±3.3	73.6±1.4	1.07
		10	13.0±1.0	12.1±0.4	71.3±5.8	80.9±2.5	1.13
	10	1	32.7±0.8	25.1±2.8	180±4	168±19	0.933
		3	39.3±1.0	35.2±3.3	216±6	235±22	1.09
		10	35.3±1.4	32.5±2.2	194±8	217±15	1.12

Probe substrate	Inhibitor	Uptake (pmol/mg)		Background corrected uptake rate (pmol/mg/min)	Percent of control (%)
		Control	OATP1B1		
Estradiol-17β-glucuronide (50 nM)	Solvent control	0.0353±0.0076	5.81±0.23	2.89	100
	Rifampin (10 μM)	0.0630±0.0229	0.254±0.038	0.0957	3.3

Note: Values are triplicate determinations rounded to 3 significant figures with standard deviations rounded to the same degree of accuracy.

Note: Percentages are rounded to one decimal place except percentages ≥ 100, which are rounded to the nearest whole number.

OATP1B3 substrate determination: Accumulation of ACP-196 in OATP1B3 and control cells

Substrate	Substrate concentration (μM)	Incubation time (min)	Transported (pmol)		Uptake (pmol/mg protein)		Uptake ratio
			Control	OATP1B3	Control	OATP1B3	
ACP-196	1	1	3.60±0.11	2.72±0.15	19.8±0.6	15.7±0.9	0.793
		3	4.97±0.54	3.93±0.29	27.3±3.0	22.6±1.7	0.829
		10	4.97±0.30	3.71±0.32	27.3±1.6	21.4±1.9	0.784
	3	1	8.95±0.98	6.64±0.60	49.2±5.4	38.2±3.5	0.777
		3	14.2±1.6	10.4±0.6	77.8±8.8	59.7±3.7	0.768
		10	13.4±0.3	10.6±0.8	73.8±1.9	61.2±4.3	0.830
	10	1	29.8±0.6	21.7±2.2	164±3	125±12	0.762
		3	41.3±2.7	36.2±1.6	227±15	208±9	0.918
		10	41.3±4.8	34.5±1.2	227±26	199±7	0.877
ACP-196 (+) Rifampin (10 μM)	1	1	4.10±0.28	3.60±0.86	22.5±1.6	20.8±4.9	0.922
		3	4.86±0.27	3.97±0.24	26.7±1.5	22.8±1.4	0.856
		10	5.23±0.82	4.92±0.51	28.7±4.5	28.3±3.0	0.986
	3	1	11.4±0.8	8.41±0.18	62.7±4.2	48.4±1.1	0.772
		3	12.5±0.6	10.2±0.6	68.9±3.3	59.0±3.3	0.857
		10	13.0±1.0	14.8±0.8	71.3±5.8	85.4±4.4	1.20
	10	1	32.7±0.8	27.3±3.2	180±4	157±18	0.875
		3	39.3±1.0	33.1±4.7	216±6	190±27	0.882
		10	35.3±1.4	46.8±1.2	194±8	270±7	1.39

Probe substrate	Inhibitor	Uptake (pmol/mg)		Background corrected uptake rate (pmol/mg/min)	Percent of control (%)
		Control	OATP1B3		
Estradiol-17β-glucuronide (50 nM)	Solvent control	0.0353±0.0076	0.779±0.059	0.372	100
	Rifampin (10 μM)	0.0630±0.0229	0.0663±0.0264	0.00166	0.4

Note: Values are triplicate determinations rounded to 3 significant figures with standard deviations rounded to the same degree of accuracy.

Note: Percentages are rounded to one decimal place except percentages ≥ 100, which are rounded to the nearest whole number

OAT1 substrate determination: Accumulation of ACP-196 in OAT1 and control cells

Substrate	Substrate concentration (μM)	Incubation time (min)	Transported (pmol)		Uptake (pmol/mg protein)		Uptake ratio
			Control	OAT1	Control	OAT1	
ACP-196	1	1	3.96±0.49	4.39±0.31	18.4±2.3	21.0±1.5	1.14
		3	4.90±0.13	5.98±0.36	22.7±0.6	28.6±1.7	1.26
		10	5.89±1.59	5.66±0.58	27.4±7.4	27.1±2.8	0.990
	3	1	11.0±0.1	12.1±0.9	50.9±0.7	57.7±4.1	1.13
		3	13.9±0.4	15.2±0.2	64.4±1.8	72.7±1.1	1.13
		10	13.9±2.2	16.0±0.8	64.6±10.2	76.5±3.7	1.18
	10	1	36.4±0.9	37.5±2.1	169±4	180±10	1.06
		3	43.3±4.1	47.0±4.9	201±19	225±23	1.12
		10	47.7±6.6	48.9±1.4	222±31	234±7	1.06
ACP-196 (+) Probenecid (100 μM)	1	1	4.65±0.39	4.41±0.34	21.6±1.8	21.1±1.6	0.978
		3	6.01±0.59	5.32±0.79	27.9±2.7	25.4±3.8	0.911
		10	7.25±0.65	5.79±0.61	33.7±3.0	27.7±2.9	0.822
	3	1	12.4±1.8	10.1±0.9	57.6±8.1	48.1±4.2	0.835
		3	17.0±0.5	15.2±1.3	79.0±2.1	72.8±6.3	0.921
		10	18.7±1.3	12.7±0.5	87.1±6.2	60.8±2.3	0.698
	10	1	39.3±2.7	35.2±2.3	183±12	168±11	0.922
		3	50.2±0.8	44.0±3.1	233±4	210±15	0.902
		10	60.6±2.0	43.5±2.3	282±9	208±11	0.738

Probe substrate	Inhibitor	Uptake (pmol/mg)		Background corrected uptake rate (pmol/mg/min)	Percent of control (%)
		Control	OAT1		
p-Aminohippurate (1 μM)	Solvent control	0.138±0.172	56.4±5.0	56.3	100
	Probenecid (100 μM)	0.189±0.117	3.05±0.30	2.86	5.1

Note: Values are triplicate determinations rounded to 3 significant figures with standard deviations rounded to the same degree of accuracy.

Note: Percentages are rounded to one decimal place except percentages ≥ 100, which are rounded to the nearest whole number.

OAT3 substrate determination: Accumulation of ACP-196 in OAT3 and control cells

Substrate	Substrate concentration (μM)	Incubation time (min)	Transported (pmol)		Uptake (pmol/mg protein)		Uptake ratio
			Control	OAT3	Control	OAT3	
ACP-196	1	1	3.96±0.49	5.66±0.19	17.4±2.1	25.9±0.9	1.49
		3	4.90±0.13	7.84±0.49	21.5±0.6	35.9±2.2	1.67
		10	5.89±1.59	8.70±1.11	25.8±7.0	39.9±5.1	1.54
	3	1	11.0±0.1	13.7±0.7	48.1±0.6	62.6±3.2	1.30
		3	13.9±0.4	21.9±1.2	60.8±1.7	100±5	1.65
		10	13.9±2.2	24.3±1.5	61.0±9.6	111±7	1.83
	10	1	36.4±0.9	44.5±3.0	160±4	204±14	1.28
		3	43.3±4.1	63.8±4.4	190±18	292±20	1.54
		10	47.7±6.6	74.4±3.2	209±29	341±15	1.63
ACP-196 (+) Probenecid (100 μM)	1	1	4.65±0.39	5.01±0.24	20.4±1.7	22.9±1.1	1.12
		3	6.01±0.59	5.98±0.42	26.4±2.6	27.4±1.9	1.04
		10	7.25±0.65	6.71±0.73	31.8±2.8	30.7±3.4	0.966
	3	1	12.4±1.8	13.4±0.8	54.4±7.7	61.2±3.6	1.12
		3	17.0±0.5	16.2±0.8	74.6±2.0	74.2±3.7	0.994
		10	18.7±1.3	16.3±1.5	82.2±5.9	74.7±7.0	0.909
	10	1	39.3±2.7	37.2±2.8	172±12	170±13	0.987
		3	50.2±0.8	50.5±0.5	220±4	231±2	1.05
		10	60.6±2.0	57.6±4.0	266±9	264±19	0.991

Probe substrate	Inhibitor	Uptake (pmol/mg)		Background corrected uptake rate (pmol/mg/min)	Percent of control (%)
		Control	OAT3		
Estrone-3-sulfate (50 nM)	Solvent control	0.0205±0.0032	3.18±0.16	1.58	100
	Probenecid (100 μM)	0.0430±0.0112	0.191±0.004	0.0742	4.7

Note: Values are triplicate determinations rounded to 3 significant figures with standard deviations rounded to the same degree of accuracy.

Note: Percentages are rounded to one decimal place except percentages ≥ 100, which are rounded to the nearest whole number.

OCT2 substrate determination: Accumulation of ACP-196 in OCT2 and control cells

Substrate	Substrate concentration (μM)	Incubation time (min)	Transported (pmol)		Uptake (pmol/mg protein)		Uptake ratio
			Control	OCT2	Control	OCT2	
ACP-196	1	1	3.02±0.33	5.04±0.22	15.3±1.7	23.5±1.0	1.54
		3	4.28±0.41	8.61±0.64	21.6±2.1	40.1±3.0	1.85
		10	4.82±0.88	7.94±0.18	24.3±4.5	37.0±0.8	1.52
	3	1	7.32±0.67	11.7±1.2	36.9±3.4	54.6±5.8	1.48
		3	12.1±1.3	18.7±1.9	61.1±6.7	87.3±8.7	1.43
		10	12.9±0.6	17.1±0.9	65.2±3.1	79.7±4.3	1.22
	10	1	23.3±0.5	36.3±5.4	118±3	169±25	1.44
		3	34.4±4.8	54.6±4.3	174±24	254±20	1.46
		10	40.1±0.9	53.8±1.4	202±5	251±6	1.24
ACP-196 (+) Quinidine (300 μM)	1	1	2.95±0.26	4.98±0.44	14.9±1.3	23.2±2.0	1.56
		3	3.43±0.14	5.75±0.15	17.3±0.7	26.8±0.7	1.55
		10	3.52±0.37	5.85±0.29	17.7±1.9	27.2±1.3	1.54
	3	1	7.43±0.52	10.6±0.9	37.5±2.6	49.4±4.1	1.32
		3	10.3±0.4	13.2±1.4	52.1±1.8	61.5±6.3	1.18
		10	8.22±0.93	13.0±0.8	41.5±4.7	60.7±3.8	1.46
	10	1	24.4±1.1	31.5±4.0	123±6	147±19	1.19
		3	32.8±0.5	39.0±3.0	165±3	181±14	1.10
		10	28.4±1.2	37.4±1.3	143±6	174±6	1.21

Probe substrate	Inhibitor	Uptake (pmol/mg)		Background corrected uptake rate (pmol/mg/min)	Percent of control (%)
		Control	OCT2		
Metformin (10 μM)	Solvent control	4.70±1.32	539±53	267	100
	Quinidine (300 μM)	2.04±0.70	8.20±0.84	3.08	1.2

Note: Values are triplicate determinations rounded to 3 significant figures with standard deviations rounded to the same degree of accuracy.

Note: Percentages are rounded to one decimal place except percentages ≥ 100, which are rounded to the nearest whole number.

Conclusions: The efflux ratio of ACP-196 (1, 3 and 10 μM) on MDCKII-BCRP cells was 6.36, 8.44 and 8.23, respectively. In the presence of the BCRP inhibitor Ko143 (1 μM) the efflux ratio of ACP-196 (1, 3 and 10 μM) was reduced to 2.25, 2.27 and 2.18, respectively, suggesting that ACP-196 is a substrate of BCRP.

The uptake ratio of ACP-196 (1, 3 and 10 μM) in OATP1B1, OATP1B3, OAT1, and OCT2-expressing cells compared to control cells was less than two at all concentrations tested and was not affected by the respective positive control inhibitors, suggesting that ACP-196 is not a substrate of these transporters. The uptake of ACP-196 (1, 3 and 10 μM) in OAT3-expressing cells was time-dependent and was reduced in the presence of the OAT3 inhibitor probenecid suggesting ACP-196 interacts with OAT3. However, the uptake ratio of ACP-196 in OAT3-expressing cells compared to control cells was less than two at all concentrations tested suggesting ACP-196 is not a substrate of OAT3

2.6.5.15.3 各種トランスポーターの阻害剤及び基質となる可能性（代謝物 ACP-5862）

被験物質：ACP-5862
試験番号：XT168092

Type of Study: Evaluation of ACP-5862 as a Substrate for P-gp (MDR1) and BCRP, to Determine if ACP-5862 is a Substrate of Human SLC Transporters OATP1B1 and OATP1B3, and Assess Whether ACP-5862 is an Inhibitor of P-gp (MDR1), BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, and OCT2

Type of Study: Evaluation of ACP-5862 as a Substrate for P-Glycoprotein (MDR1)	
Study systems:	MDCKII-MDR1 cells
Methods:	MDCKII-MDR1 cells (Madin-Darby Canine Kidney cells overexpressing human MDR1) were used in experiments to determine if ACP-5862 (0.5, 2, 10, and 50 µM) was a substrate of human P-gp (MDR1). Substrate determination was evaluated for P-gp in MDCKII cells by measuring the bidirectional permeability of ACP-5862.

Substrate	Time (h)	ACP-5862 Transported (pmol) in Receiver Wells		P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Efflux Ratio	Recovery (%)	
		Apical to Basal	Basal to Apical	Apical to Basal	Basal to Apical		Apical to Basal	Basal to Apical
ACP-5862 (0.5 µM)	0.25	NC	9.20 ± 0.35	NA	67.8 ± 5.2	NC	79.2	93.5
	0.5	NC	22.1 ± 1.7					
	2	NC	60.2 ± 3.6					
ACP-5862 (0.5 µM) (+) Valspodar (10 µM)	0.25	NC	4.61 ± 0.77	18.1 ± 0.0	25.2 ± 2.5	1.39	76.2	79.7
	0.5	NC	8.68 ± 0.44					
	2	17.1 ± 4.3	22.5 ± 2.2					
ACP-5862 (2 µM)	0.25	NC	29.9 ± 1.1	NA	60.3 ± 6.4	NC	79.4	84.3
	0.5	NC	89.4 ± 8.2					
	2	NC	215 ± 17					
ACP-5862 (2 µM) (+) Valspodar (10 µM)	0.25	11.5 (n=1)	16.5 ± 2.6	13.5 ± 1.8	27.8 ± 2.0	2.05	72.2	86.5
	0.5	20.8 ± 0.8	35.4 ± 1.8					
	2	48.5 ± 3.5	100 ± 7					
ACP-5862 (10 µM)	0.25	NC	195 ± 27	1.15 ± 0.00	65.4 ± 5.4	57.0	77.3	90.8
	0.5	NC	461 ± 27					
	2	23.3 ± 3.8	1220 ± 40					

Substrate	Time (h)	ACP-5862 Transported (pmol) in Receiver Wells		P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Efflux Ratio	Recovery (%)	
		Apical to Basal	Basal to Apical	Apical to Basal	Basal to Apical		Apical to Basal	Basal to Apical
ACP-5862 (10 µM) (+) Valspodar (10 µM)	0.25	31.5 (n=2)	102 ± 1	15.3 ± 1.2	29.2 ± 2.9	1.92	75.3	89.8
	0.5	107 ± 24	219 ± 12					
	2	294 ± 49	552 ± 42					
ACP-5862 (50 µM)	0.25	20.7 ± 6.5	924 ± 151	2.28 ± 0.06	87.2 ± 6.2	38.3	98.0	100
	0.5	47.5 ± 7.8	2230 ± 350					
	2	164 ± 17	6210 ± 510					
ACP-5862 (50 µM) (+) Valspodar (10 µM)	0.25	45.9 ± 24.8	494 ± 47	23.7 ± 1.6	36.0 ± 4.1	1.52	89.5	68.8
	0.5	441 ± 81	1030 ± 20					
	2	1750 ± 280	2480 ± 170					

NC=not calculated.

Substrate	Valspodar (µM)	P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Efflux Ratio	Percent Control	Recovery (%)	
		Apical to Basal	Basal to Apical			Apical to Basal	Basal to Apical
Digoxin (10 µM)	0	0.493 ± 0.041	31.7 ± 3.0	64.4	100	91.2	94.7
	10	6.14 (n=2)	6.29 ± 0.91	1.02	0.0		
Results: ACP-5862 (10 µM) was a good substrate for MDR1 with a basolateral to apical (B-A) and apical to basolateral (A-B) corrected efflux ratio of 57.0 in MDCKII-MDR1 cells over-expressing MDR1							

MDR1=multi-drug resistance gene 1; NA=not applicable; P_{app}=apparent permeability; pmol=pmoles.

Type of Study: Evaluation of ACP-5862 as an Inhibitor of P-Glycoprotein (MDR1)					
Study systems: Caco-2 cells					
Method: Caco-2 cells were used in the P-glycoprotein inhibition analysis. The bidirectional permeability of digoxin (10 µM) across Caco-2 cell monolayers in the presence of ACP-5862 (0, 2, and 20 µM) was measured to determine if ACP-5862 was an inhibitor of P-gp. Valspodar (1 µM) was used as positive controls.					
Inhibitor	Inhibitor Concentration (µM)	Digoxin P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Net Flux	Relative Transport (Percent of Control, %)
		Apical to Basal	Basal to Apical		
ACP-5862	0	0.408 (n=2)	29.9 ± 3.3	29.5	100
	2	0.248 (n=1)	29.0 ± 4.7	28.8	97.6
	20	0.860 (n=2)	27.8 ± 4.6	27.0	91.4
Valspodar	1	9.69 ± 2.05	12.1 ± 1.3	2.39	8.1
Results: ACP-5862 was not an inhibitor of P-gp at the clinically relevant concentrations tested see 2.6.4.7.3.					

P_{app}=apparent permeability; P-gp=p-glycoprotein.

Type of Study: Evaluation of ACP-5862 as a Substrate for BCRP
Study systems: MDCKII-BCRP cells
Method: MDCKII-BCRP cells (Madin-Darby Canine Kidney cells overexpressing human BCRP) were used in experiments to determine if ACP-5862 (0.5, 2, 10, and 50 µM) was a substrate of human BCRP. Substrate determination was evaluated for BCRP in MDCKII cells by measuring the bidirectional permeability of ACP-5862.

Substrate	Time (h)	ACP-5862 Transported (pmol) in Receiver Wells		P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Efflux Ratio	Recovery (%)	
		Apical to Basal	Basal to Apical	Apical to Basal	Basal to Apical		Apical to Basal	Basal to Apical
ACP-5862 (0.5 µM)	0.25	2.82 ± 0.33	7.39 ± 0.73	8.89 ± 1.59	68.9 ± 1.0	7.75	90.1	88.4
	0.5	3.69 ± 0.07	18.3 ± 1.6					
	2	8.29 ± 0.86	70.2 ± 8.1					
ACP-5862 (0.5 µM) (+) Ko143 (1 µM)	0.25	4.87 ± 1.55	5.44 ± 0.34	30.3 ± 1.7	44.4 ± 0.8	1.47	97.8	79.9
	0.5	10.1 ± 1.1	12.8 ± 1.4					
	2	30.5 ± 6.4	46.6 ± 4.9					
ACP-5862 (2 µM)	0.25	2.83 (n = 2)	31.0 ± 4.7	4.67 ± 0.08	57.7 ± 1.3	12.3	82.1	82.7
	0.5	5.08 ± 1.68	72.5 ± 11.3					
	2	19.2 ± 2.0	256 ± 42					
ACP-5862 (2 µM) (+) Ko143 (1 µM)	0.25	15.8 ± 2.5	25.7 ± 2.7	24.5 ± 1.2	44.1 ± 1.7	1.80	91.9	75.6
	0.5	31.3 ± 2.1	53.7 ± 5.1					
	2	97.6 ± 5.3	176 ± 21					
ACP-5862 (10 µM) on control cells	0.25	84.7 ± 1.8	87.7 ± 18.4	31.3 ± 0.5	32.8 ± 0.9	1.05	95.5	74.8
	0.5	185 ± 13	210 ± 40					
	2	680 ± 56	720 ± 118					
ACP-5862 (10 µM)	0.25	12.7 ± 4.2	177 ± 33	6.01 ± 0.16	61.2 ± 1.8	10.2	100	83.6
	0.5	34.3 ± 7.9	387 ± 50					
	2	120 ± 35	1310 ± 190					
ACP-5862 (10 µM) (+) Ko143 (1 µM)	0.25	83.8 ± 38.7	132 ± 15	30.8 ± 1.5	40.6 ± 1.8	1.32	105	73.4
	0.5	191 ± 82	278 ± 28					
	2	595 ± 61	883 ± 115					

Substrate	Time (h)	ACP-5862 Transported (pmol) in Receiver Wells		P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Efflux Ratio	Recovery (%)	
		Apical to Basal	Basal to Apical	Apical to Basal	Basal to Apical		Apical to Basal	Basal to Apical
ACP-5862 (50 µM)	0.25	166 ± 56	721 ± 38	22.9 ± 1.0	74.0 ± 4.8	3.23	127	80.9
	0.5	383 ± 73	1380 ± 70					
	2	1210 ± 90	4080 ± 260					
ACP-5862 (50 µM) (+) Ko143 (1 µM)	0.25	390 ± 161	538 ± 40	46.2 ± 2.3	49.4 ± 3.7	1.07	138	73.3
	0.5	976 ± 231	1130 ± 50					
	2	2980 ± 360	3150 ± 180					

P_{app}=apparent permeability.

Substrate	Ko143 (µM)	Control Cells			BCRP cells			Corrected Efflux Ratio	Percent of Control
		P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Efflux Ratio	P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Efflux Ratio		
		Apical to Basal	Basal to Apical		Apical to Basal	Basal to Apical			
Prazosin (1 µM)	0	39.7 ± 2.9	37.8 ± 4.3	0.951	14.0 ± 1.3	93.0 ± 10.3	6.65	6.69	100
	1	34.6 ± 1.5	36.9 ± 3.1	1.07	34.7 ± 2.4	39.1 ± 3.8	1.13	1.05	0.9
Results: Based on these data, ACP-5862 is considered a substrate for BCRP									

BCRP=breast cancer resistance protein; h=hour(s).

Type of Study: Evaluation of ACP-5862 as an Inhibitor of BCRP
Study systems: MDCKII-BCRP cells
Method: MDCKII-BCRP cells were used in the BCRP inhibition analysis. The bidirectional permeability of prazosin (1 μM) in MCDKII-BCRP cells across monolayer cell cultures of MDCKII-BCRP was measured to determine if ACP-5862 (0, 0.3, 1, 3, 10, 30, and 50 μM) was an inhibitor of BCRP. Ko143 (1 μM) and ritonavir (30 μM) were used as positive controls.

Inhibitor	Inhibitor Concentration (μM)	Prazosin P_{app} (10^{-6} cm/sec)		Corrected Efflux Ratio	Relative Transport (Percent of Control, %)	IC_{50} Parameters
		Apical to Basal	Basal to Apical			
ACP-5862	0	5.14 ± 2.50	43.0 ± 3.5	8.37	100	IC_{50}: 5.99 μM Slope: 2.51 Min: 0 % Max: 107%
	0.3	5.00 ± 2.56	44.9 ± 6.8	8.98	108	
	1	4.98 ± 1.77	42.9 ± 6.3	8.61	103	
	3	5.23 ± 3.13	40.9 ± 1.0	7.81	92.4	
	10	18.0 ± 1.7	46.4 ± 2.5	2.58	21.4	
	30	19.2 ± 5.0	27.8 ± 3.8	1.45	6.1	
	50	9.85 ± 11.17	19.2 ± 3.2	1.95	12.8	
Ko143	1	16.5 ± 9.9	22.5 ± 2.0	1.36	4.9	NA
Lopinavir	30	18.8 (n=2)	30.0 ± 4.1	1.59	8.1	NA
Results: ACP-5862 was an inhibitor of BCRP at clinically relevant systemic concentrations see 2.6.4.7.3.						

BCRP=breast cancer resistance protein; IC_{50}=inhibitory concentration causing half-maximal inhibition; max=maximum; min=minimum; NA=not applicable; P_{app}=apparent permeability; sec=second.

Type of Study: Evaluation of ACP-5862 as an Inhibitor of OAT1, OAT3, OATP1B1, OATP1B3, and OCT2
Study systems: HEK293 cells
Methods: HEK293 cells expressing transporters (HEK293 cells transfected with vectors containing human transporter cDNA for OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, and OCT2) and control cells (HEK293 cells transfected with only vectors) were used to assess inhibition of these transporters by ACP-5862. The following substrates were used: estradiol glucuronide (0.05 µM; OATP1B1 and OATP1B3), p-aminohippurate (1 µM; OAT1), estrone sulfate (0.05 µM; OAT3), and metformin (10 µM; OCT2). The following positive control inhibitors were used: rifampin (10 µM; OATP1B1 and OATP1B3), probenecid (100 µM; OAT1 and OAT3), and quinidine (300 µM; OCT2).

		OAT3 Uptake	
Inhibitor	Inhibitor Concentration (µM)	OAT3 Uptake Rate (pmol/mg/minute)	Percent of Control (%)
ACP-5862	0	0.409	100
	2	0.525	128
	20	0.485	119
Probenecid	100	0.103	25.2

HEK=human embryonic kidney; OAT=organic anion transporter; OCT=organic cation transporter.

		OAT1 Uptake		
Inhibitor	[Inhibitor] (µM)	OAT1 Uptake Rate (pmol/mg/minute)	Percent of Control	IC_{50} Parameters
ACP-5826	0	27.6	100	IC_{50}: 12.1 µM Slope: 2.13 Min: 0% Max: 112%
	0.1	30.3	110	
	0.3	30.9	112	
	1	30.2	109	
	3	30.5	111	
	10	18.0	65.2	
	30	4.32	15.7	
	50	1.55	5.6	
Probenecid	100	4.86	17.6	NA

IC_{50}=inhibitory concentration causing half-maximal inhibition; OAT=organic anion transporter; max=maximum; min=minimum; NA=not applicable.

		OATP1B3 Uptake	
Inhibitor	Inhibitor Concentration (μM)	OATP1B3 Uptake Rate (pmol/mg/min)	Percent of Control (%)
ACP-5862	0	0.175	100
	2	0.168	96.5
	20	0.103	58.7
Rifampin	10	0.000617	0.4

min=minute; OAT=organic anion transporter.

Inhibitor	Inhibitor Concentration (μM)	OATP1B1 Uptake		
		OATP1B1 Uptake Rate (pmol/mg/minute)	Percent of Control	IC_{50} Parameters
ACP-5826	0	1.62	100	IC_{50}: 10.1 μM Slope: 1.60 Min: 0% Max: 99.0%
	0.1	1.57	96.4	
	0.3	1.65	102	
	1	1.59	97.8	
	3	1.39	85.8	
	10	0.824	50.7	
	30	0.230	14.1	
	50	0.124	7.6	
Rifampin	10	0.0995	6.1	NA

IC_{50}=inhibitory concentration causing half-maximal inhibition; OAT=organic anion transporter; max=maximum; min=minimum; NA=not applicable.

		OCT2 Uptake	
Inhibitor	Inhibitor Concentration (μM)	OCT2 Uptake Rate (pmol/mg/minute)	Percent of Control (%)
ACP-5862	0	69.9	100
	2	70.3	101
	20	47.5	68.0
Quinidine	300	1.95	2.8

Results: ACP-5862 was not a potent inhibitor of OATP1B3 at concentrations up to 20 µM. ACP-5862 was not an inhibitor of OAT3 at concentrations up to 20 µM. ACP-5862 was not a potent inhibitor of OCT2 at concentrations of ACP-5862 up to 20 µM. ACP-5862 was an inhibitor of OATP1B1 with and IC_{50} of 10.1 µM. In these studies, ACP-5862 was an inhibitor of OAT1 with a measured IC_{50} of 12.1 µM. In conclusion, ACP-5862 (after a dose of acalabrutinib) is not anticipated to alter the pharmacokinetics of other therapeutic agents that are substrates for OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, or OCT2 (see 2.6.4.7.3).

OCT=organic cation transporter.

Study Type: OATP1B1 Substrate Determination: Accumulation of ACP-5862 in OATP1B1 and Control Cells
Study systems: HEK293 cells
Methods: HEK293 cells expressing transporters (HEK293 cells transfected with vectors containing human transporter cDNA for OATP1B1 or OATP1B3) and control cells (HEK293 cells transfected with only vectors) were used to assess inhibition of these transporters by ACP-5862. Estradiol-17β-glucuronide was used as the positive control substrate and rifampin (10 µM) was used as an inhibitor to test uptake.

Substrate	Substrate Concentration (µM)	Incubation Time (min)	Uptake (pmol/mg Protein)		Uptake Ratio
			Control	OATP1B1	
ACP-5862	0.5	1	6.73 ± 1.87	7.89 ± 0.42	1.17
		10	6.31 ± 0.23	10.5 ± 0.3	1.66
	2	1	10.5 ± 1.5	16.0 ± 1.6	1.53
		10	13.5 ± 0.3	21.4 ± 0.5	1.59
	10	1	30.1 ± 2.0	39.9 ± 1.1	1.32
		10	41.1 ± 4.3	60.8 ± 6.2	1.48
	50	1	459 ± 54	712 ± 575	1.55
		10	5270 ± 960	5140 ± 650	0.976
ACP-5862 (+) Rifampin (10 µM)	0.5	1	5.38 ± 0.50	9.12 ± 1.63	1.70
		10	7.66 ± 0.21	11.4 ± 0.5	1.49
	2	1	11.5 ± 0.4	18.3 ± 1.1	1.59
		10	16.6 ± 1.7	23.9 ± 2.3	1.44
	10	1	30.7 ± 1.2	52.7 ± 9.0	1.72
		10	55.3 ± 13.9	72.6 ± 7.0	1.31
	50	1	1250 ± 800	539 ± 131	0.433
		10	10000 ± 600	10300 ± 2400	1.02

Substrate	Inhibitor	Uptake (pmol/mg)		Background Corrected Uptake Rate (pmol/mg/min)	Percent of Control
		Control	OATP1B1		
[^{3}H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 nM)	Solvent control	0.0164 ± 0.0027	1.57 ± 0.09	0.778	100
	Rifampin (10 µM)	0.0160 ± 0.0057	0.0687 ± 0.0227	0.0264	3.4
Results: The data from these studies demonstrate uptake ratios less than 2 at all concentrations and time points and suggest ACP-5862 is not a substrate of OATP1B1.					

HEK=human embryonic kidney; OAT=organic anion transporter.

Note: Values are triplicate determinations rounded to 3 significant figures with standard deviations rounded to the same degree of accuracy.

Note: Percentages are rounded to one decimal place except percentages ≥100, which are rounded to the nearest whole number.

Study Type: OATP1B3 Substrate Determination: Accumulation of ACP-5862 in OATP1B3 and Control Cells					
Substrate	Substrate Concentration (µM)	Incubation Time (min)	Uptake (pmol/mg Protein)		Uptake Ratio
			Control	OATP1B3	
ACP-5862	0.5	1	6.73 ± 1.87	7.78 ± 2.68	1.16
		10	6.31 ± 0.23	10.8 ± 1.3	1.71
	2	1	10.5 ± 1.5	12.6 ± 0.5	1.21
		10	13.5 ± 0.3	26.3 ± 3.4	1.96
	10	1	30.1 ± 2.0	40.5 ± 2.6	1.34
		10	41.1 ± 4.3	104 ± 19	2.53
	50	1	459 ± 54	377 ± 35	0.822
		10	5270 ± 960	1680 ± 170	0.319
ACP-196 (+) Rifampin (10 µM)	0.5	1	5.38 ± 0.50	7.00 (n=2)	1.30
		10	7.66 ± 0.21	14.0 ± 1.1	1.83
	2	1	11.5 ± 0.4	15.5 ± 0.6	1.34
		10	16.6 ± 1.7	33.3 ± 1.9	2.01
	10	1	30.7 ± 1.2	53.9 ± 2.6	1.76
		10	55.3 ± 13.9	122 ± 10	2.22
	50	1	1250 ± 800	368 (n = 2)	0.295
		10	10000 ± 600	2570 ± 240	0.256

Probe Substrate	Inhibitor	Uptake (pmol/mg)		Background Corrected Uptake Rate (pmol/mg/min)	Percent of Control
		Control	OATP1B3		
[^{3}H]-Estradiol-17β-glucuronide (50 nM)	Solvent control	0.0164 ± 0.0027	0.644 ± 0.009	0.314	100
	Rifampin (10 μM)	0.0160 ± 0.0057	0.0575 ± 0.0094	0.0208	6.6
Results: The data from these studies show that in general the uptake ratio is less than 2 (with one time point/concentration exception) and suggest that ACP-5862 (when dosed as acalabrutinib) is not a substrate of OATP1B3.					

OAT=organic anion transporter.

Note: Values are triplicate determinations rounded to 3 significant figures with standard deviations rounded to the same degree of accuracy.

Note: Percentages are rounded to one decimal place except percentages ≥100, which are rounded to the nearest whole number.

2.6.5.15.4 MATE1 及び MATE2-K の阻害剤となる可能性

被験物質：アカラブルチニブ、ACP-5862
試験番号：XS-1144

Type of Study: Evaluation of ACP-196 and ACP-5862 as an Inhibitor of MATE1 and MATE2-K	
Study systems:	HEK293 cells
Methods:	HEK293 cells expressing transporters (HEK293 cells transfected with vectors containing human transporter cDNA for MATE1 or MATE2-K) and control cells (HEK293 cells transfected with only vectors) were used to assess inhibition of these transporters by ACP-196 or ACP-5862. Metformin was used as the substrate to test inhibition of both MATE1 and MATE2-K. Cimetidine (10 µM for MATE1 and 100 µM for MATE2-K) and pyrimethamine (0.3 µM) served as positive control inhibitors in these studies.

Test Compound	Concentration (µM)	Cleared volume (µL/mg protein)		Percent of control (%)	IC_{50} (µM)
		Control	MATE1		
ACP-196	0	0.859 ± 0.134	28.4 ± 1.9	100.0	NA
	0.01	0.672 ± 0.072	28.9 ± 1.6	102.5	
	0.03	0.678 ± 0.068	29.6 ± 3.0	105.0	
	0.1	0.740 ± 0.070	30.3 ± 1.8	107.3	
	0.3	0.708 ± 0.023	29.3 ± 2.2	103.8	
	1	0.696 ± 0.047	26.5 ± 1.8	93.7	
	3	0.599 ± 0.158	18.3 ± 1.4	64.3	
ACP-5862	0	0.668 ± 0.066	15.9 ± 2.4	100.0	0.2
	0.01	0.854 ± 0.259	20.0 ± 1.3	125.7	
	0.03	0.601 ± 0.057	14.3 ± 5.4	89.9	
	0.1	0.631 ± 0.031	12.9 ± 3.2	80.5	
	0.3	0.492 ± 0.034	4.39 ± 2.56	25.6	
	1	0.438 ± 0.019	3.75 ± 1.41	21.7	
	3	0.339 ± 0.027	2.50 ± 0.23	14.2	
Cimetidine	10	0.370 ± 0.033	2.76 ± 0.10	8.7	NA
Pyrimethamine	0.3	0.307 ± 0.060	0.897 ± 0.167	3.9	NA

HEK=human embryonic kidney; IC_{50}=inhibitory concentration causing half-maximal inhibition; MATE1=multidrug and toxin extrusion transporter-1; MATE2-K=multidrug and toxin extrusion transporter 2-K; NA=not applicable.

Test compound	Concentration (μM)	Cleared Volume (μL/mg Protein)		Percent of control (%)	IC_{50} (μM)
		Control	MATE2-K		
ACP-196	0	0.765 ± 0.201	10.7 ± 0.0	100.0	NA
	0.01	0.715 ± 0.056	13.5 ± 2.2	128.7	
	0.03	0.615 ± 0.107	10.9 ± 1.1	103.5	
	0.1	0.651 ± 0.010	13.4 ± 2.0	128.3	
	0.3	0.627 ± 0.045	10.6 ± 1.6	100.4	
	1	0.766 ± 0.095	13.7 ± 0.5	130.2	
	3	0.619 ± 0.055	10.7 ± 2.7	101.5	
ACP-5862	0	0.704 ± 0.029	11.3 ± 2.6	100.0	NA
	0.01	0.713 ± 0.021	15.4 ± 3.6	138.6	
	0.03	0.641 ± 0.022	11.5 ± 2.0	102.5	
	0.1	0.531 ± 0.131	14.0 ± 0.5	127.1	
	0.3	0.625 ± 0.041	9.41 ± 1.22	82.9	
	1	0.466 ± 0.047	9.89 ± 0.77	88.9	
	3	0.464 ± 0.085	7.29 ± 2.13	64.4	
Cimetidine	100	0.504 ± 0.050	4.27 ± 1.31	37.9	NA
Pyrimethamine	0.3	0.406 ± 0.015	3.58 ± 0.64	30.0	NA
Results: ACP-196 is not an inhibitor MATE2-K under the conditions examined in this study. In this study, ACP-196 is a weak inhibitor of MATEl, and ACP-5862 is also a weak inhibitor of MATE2-K. Additionally, in this study, ACP-5862 is an inhibitor of MATEl with an IC_{50} of 0.2 μM.					

IC_{50}=inhibitory concentration causing half-maximal inhibition; MATE1=multidrug and toxin extrusion transporter-1; MATE2-K=multidrug and toxin extrusion transporter 2-K; NA=not applicable.

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

2.6.5.16.1 安全性薬理試験におけるアカラブルチニブの曝露量

被験物質：アカラブルチニブ
試験番号：594019

Type of Study: Plasma concentration of ACP-196 at 3 hours following a single oral dose of 0, 5, 10, or 30 mg/kg to dogs	
Species and strain:	Beagle dog
Number of animals/Gender:	n=4/dose group, males
Feeding condition:	Approximately 400 g of PMI Nutrition International, LLC, Certified Canine LabDiet® 5007, were offered for approximately 1 to 2 hours daily (prior to treatment on dosing days).
Test compound	ACP-196
Route of administration:	Oral gavage
Dose:	0, 3, 10, and 30 mg/kg ACP-196
Vehicle/Formulation:	0.4% hydroxypropylmethylcellulose/0.2% Tween 80® in sterile water for injection
Sample:	Blood (treated with lithium heparin)
Analyte:	ACP-196
Analytical method:	The acetonitrile precipitated supernatant of whole blood concentrations of acalabrutinib were determined by detection with a validated LC-MS/MS assay.

Blood concentrations (ng/mL) of ACP-196 in groups 1-4 (0, 3, 10, and 30 mg/kg BW, respectively) in male dog

Dose	Sample Name	Actual concentration (ng/mL)
0 mg/kg	Dog 3921M1, 3 hour postdose Day 0 group 1	<LLOQ
	Dog 3923M1, 3 hour postdose Day 0 group 1	<LLOQ
	Dog 3924M1, 3 hour postdose Day 0 group 1	<LLOQ
	Dog 3925M1, 3 hour postdose Day 0 group 1	<LLOQ
3 mg/kg	Dog 3921M2, 3 hour postdose Day 0 group 2	182
	Dog 3923M2, 3 hour postdose Day 0 group 2	126
	Dog 3924M2, 3 hour postdose Day 0 group 2	210
	Dog 3925M2, 3 hour postdose Day 0 group 2	232
10 mg/kg	Dog 3921M3, 3 hour postdose Day 0 group 3	656
	Dog 3923M3, 3 hour postdose Day 0 group 3	645
	Dog 3924M3, 3 hour postdose Day 0 group 3	727
	Dog 3925M3, 3 hour postdose Day 0 group 3	686
30 mg/kg	Dog 3921M4, 3 hour postdose Day 0 group 4	3963
	Dog 3923M4, 3 hour postdose Day 0 group 4	3171
	Dog 3924M4, 3 hour postdose Day 0 group 4	4185
	Dog 3925M4, 3 hour postdose Day 0 group 4	2450

Abbreviations: LLOQ = lower limit of quantification (10 ng/mL)