2.6.4　薬物動態試験の概要文の目次

2.6.4.1　まとめ..... 3
2.6.4.2　分析法..... 6
2.6.4.2.1　被験物質及び投与製剤..... 6
2.6.4.2.2　[^{14}C]モリデュスタットの合成..... 6
2.6.4.2.3　放射能の測定..... 7
2.6.4.2.4　血漿中未変化体濃度の測定..... 7
2.6.4.2.5　代謝プロファイリング..... 8
2.6.4.2.6　データの取扱い..... 8
2.6.4.3　吸収..... 9
2.6.4.3.1　単回投与後の薬物動態..... 9
2.6.4.3.2　反復投与後の薬物動態..... 14
2.6.4.4　分布..... 15
2.6.4.4.1　血漿タンパク結合と血球移行..... 15
2.6.4.4.2　臓器・組織分布..... 16
2.6.4.4.2.1　単回投与後の臓器・組織分布..... 16
2.6.4.4.2.2　妊娠ラットに単回投与後の定量的臓器・組織分布..... 18
2.6.4.5　代謝..... 20
2.6.4.5.1　*In vitro* 代謝..... 20
2.6.4.5.1.1　動物種の比較..... 20
2.6.4.5.1.2　CYP 分子種の同定..... 21
2.6.4.5.1.3　UGT 分子種の同定..... 21
2.6.4.5.1.4　CYP 分子種に対する阻害作用..... 22
2.6.4.5.1.5　UGT 分子種に対する阻害作用..... 23
2.6.4.5.1.6　CYP 分子種に対する誘導作用..... 24
2.6.4.5.2　*In vivo* 代謝..... 25
2.6.4.5.2.1　血漿中代謝物..... 25
2.6.4.5.2.2　排泄物中代謝物..... 25
2.6.4.6　排泄..... 28
2.6.4.6.1　ラット..... 28
2.6.4.6.2　イヌ..... 28
2.6.4.6.3　ヒト..... 29
2.6.4.6.4　乳汁中分泌..... 29
2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用..... 30
2.6.4.7.1　UGT 阻害薬の影響..... 30

2.6.4.8　その他の薬物動態試験 30
2.6.4.8.1　膜透過性の検討 31
2.6.4.8.2　排出トランスポーターに対する基質特性 31
2.6.4.8.3　取込みトランスポーターに対する基質特性 32
2.6.4.8.4　排出トランスポーターに対する阻害作用 33
2.6.4.8.5　取込みトランスポーターに対する阻害作用 36
2.6.4.9　考察及び結論 37
2.6.4.10　図表 41
引用文献一覧 41

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

モリデュスタットの単回投与による非臨床薬物動態試験を Wistar ラット、ビーグル犬及びカニクイザルを用いて実施し、血漿中濃度推移、臓器・組織分布、代謝及び排泄について検討した。反復投与後の薬物動態は、Wistar ラット及びビーグル犬の反復投与毒性試験の曝露量に基づき、限定的な評価を実施した。*In vitro* では、モリデュスタット及び主代謝物の N-グルクロン酸抱合体 M-1 について、ヒト及び動物の血漿タンパクに対する結合、血球移行、代謝の種差、ヒトにおける代謝酵素、膜透過性、薬物トランスポーターに対する基質特性を検討した。また、モリデュスタット及び M-1 のヒト代謝酵素に対する阻害及び誘導作用、トランスポーターに対する阻害作用を検討した。更に、モリデュスタットのグルクロン酸抱合に及ぼす種々併用薬の影響についても *in vitro* にて検討した。

モリデュスタットの血漿中濃度推移は、投与経路によらず、すべての動物において二相性の消失パターンを示し、第一相の消失半減期は 0.3～1.2 時間と短く、第二相の消失半減期は 2.2～6.5 時間とより長かった。血液クリアランスは、ラットでは低～中等度〔1.13～1.85L/(h･kg)〕、イヌでは中等度〔0.72～1.06L/(h･kg)〕であった。血漿クリアランスは、サルでは 0.7L/(h･kg)、ラットでは 0.78～1.28L/(h･kg)、イヌでは 0.53～0.78L/(h･kg)であった。定常状態における分布容積はすべての動物で中等度であり、0.52L/kg（サル）～0.97L/kg（ラット）の範囲であった。

ラット、イヌ及びサルにモリデュスタットを単回経口投与したとき、絶対的バイオアベイラビリティは、ラットで低値～中等度（26%～46%）、サルで中等度（61%）、イヌで中等度～高値（46%～75%）であった。全身曝露は用量比例性をやや上回って増加する傾向が認められた。ラット及びイヌ反復投与毒性試験において、全身曝露に性差は認められなかった。

モリデュスタットの血漿タンパク結合率は低く、48.6%（マウス）～79.3%（ヒト）の範囲であり、種差が認められた。主代謝物 M-1 のタンパク結合率も低く、ヒトで 16.8%、イヌで 9.7%であった。

ラットに単回経口投与後、[^{14}C]モリデュスタットは速やかに吸収され、放射能は脳を除く全身の臓器・組織に分布した後、速やかに消失した。臓器・組織における放射能の不可逆的な結合及びメラニン含有組織に対する特異的親和性は認められなかった。放射能の血液脳関門通過性は極めて低く、胎盤通過性は中等度であった。

In vitro における検討で、モリデュスタットの主代謝経路は、ヒトを含むすべての動物種において M-1 を産生する未変化体の N-グルクロン酸抱合であり、酸化的代謝の寄与はほとんどみられなかった。ヒトにおける M-1 の産生には主にウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）1A1 が寄与しており、UGT1A9 もわずかに寄与していた。*In vitro* での検討に基づくと、モリデュスタットのグルクロン酸抱合は、チロシンキナーゼ阻害薬及び HIV プロテアーゼ阻害薬、加えてトラニラストによって特に強く阻害された。これらの薬物を併用すると、臨床的に問題となるモリデュスタットの被薬物相互作用が引き起こされる可能性がある。

In vitro における検討で、モリデュスタットはチトクローム P450（CYP）1A1 に対して強い阻害作用を示した。CYP1A1 により影響を受けやすい基質を併用すると、モリデュスタットの CYP1A1 阻害作用を介して臨床的に問題となる薬物相互作用が引き起こされる可能性がある。また、M-1 は CYP2D6 に対して阻害作用を示したが、MSPK モデルを用いた評価から、臨床的に問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。モリデュスタット及び M-1 は、CYP1A1 及び CYP2D6 を除く主要な CYP 及び UGT 分子種に対して阻害作用を示さず、また、CYP 分

子種に対して誘導作用を示さなかった。したがって、モリデュスタット及び M-1 が主要な CYP 分子種及び UGT 分子種に対する阻害作用、又は CYP 分子種に対する誘導作用を介して、相互作用薬として臨床的に問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

マウス、ラット、イヌ及びヒトに[^{14}C]モリデュスタットを単回経口投与後、血漿中における放射能（%AUC）はほとんど未変化体及び M-1 が占めており、それぞれ総放射能 AUC の 17.4%～41.4%（ヒト～ラット）及び 58.1%～80.2%（ラット～ヒト）の範囲であった。

ラットに[^{14}C]モリデュスタットを経口投与後、尿中には 24 時間までに投与した放射能の 34%が排泄され、12%は未変化体、21%は M-1 であった。一方、糞中には 48 時間までに投与した放射能の 64%が排泄され、ほとんどが未変化体（61%）であった。胆管カニューレ挿入（BDC）ラットに静脈内及び経口投与後、24 時間までの胆汁中放射能のほとんどすべてが M-1（投与量の 21%～36%）であり、未変化体として胆汁中に排泄されたのは投与量の約 1%であった。更に、直接の消化管分泌によって投与した放射能の 11%が糞中に排泄されたが、ほとんどすべてが未変化体として回収された。

イヌに経口投与後、尿中に排泄された放射能の大部分は M-1（投与量の 69%）であり、未変化体として尿中排泄されたのは投与量のわずか 5%であった。糞中に排泄された放射能（投与量の 15%）の主構成成分は未変化体（投与量の 11%）であった。

ヒトに経口投与後、放射能の大部分（投与量の 91%）は尿中に排泄され、糞中に排泄された放射能は投与量の 6%に過ぎなかった。尿中に排泄された放射能のほとんどすべては M-1（投与量の 85%）であり、未変化体として尿中に排泄されたのは投与した放射能のわずか 4%であった。糞中放射能の主構成成分は未変化体（投与量の 6%）であった。

まとめると、ラット、イヌ及びヒトの *in vivo* 試験で認められた主要な代謝経路は M-1 を産生する N-グルクロン酸抱合であった。糞中に認められた未変化体は、胆汁排泄された M-1 が腸内細菌により加水分解を受けたものと考えられる。

ラットにおいて、モリデュスタット及び／又は代謝物の乳汁移行が少量認められた。

モリデュスタットは P-糖タンパク（P-gp）の基質ではなく、M-1 は P-gp 及び乳癌耐性タンパク（BCRP）の基質ではなかった。一方、モリデュスタットは BCRP の基質であったが、ヒトにおいてモリデュスタットの吸収率はほぼ完全であり（2.7.2.3.1.1）、消化管において BCRP による吸収の制限はほとんどないと考えられる。したがって、BCRP 阻害薬が併用された場合においても、消化管に存在する BCRP の阻害により、臨床的に問題となるモリデュスタットの被相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

モリデュスタットは肝取込みトランスポーターである有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1、OATP1B3 及び有機カチオントランスポーター（OCT）1 の基質ではなかった。

M-1 は腎取込みトランスポーターである有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び OCT2 の基質ではなかったが、OAT3 の基質であった。しかしながら、臨床試験において M-1 の腎排泄は主に糸球体ろ過によることが示されており（2.7.2.3.1.3）、モリデュスタット投与時において OAT3 を含む腎に発現するトランスポーターの寄与及び阻害薬の臨床的意義は小さいと考えられる。

モリデュスタットは P-gp、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）、OAT1、OCT2、多剤排出トランスポーター（MATE）1 及び MATE2K に対して *in vitro* で阻害作用を示さなかった。一方、モリデュスタットは BCRP に対する阻害作用を示し、IC_{50} 値は 6.39μM であった。臨床薬物相互作用試験において、モリデュスタット 150mg を BCRP の典型基質薬ロスバスタチン

と同時に投与したとき、ロスバスタチンの C_{max} は 30%増加、AUC は 11%増加にとどまったことから、モリデュスタットによる BCRP 阻害は *in vivo* において基質薬の全身曝露に顕著な影響を及ぼさないことが示された（2.7.2.3.3.1.2）。また、モリデュスタットは腎取込みトランスポーターである OAT3 に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値は 16μM であった。しかしながら、臨床最高用量 200mg 投与時の予測最高非結合型濃度（$C_{max,u}$）は IC_{50} 値に対して 0.12 と低く、OAT3 に対するモリデュスタットの阻害作用を介して臨床的に問題となる薬物動態学的薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

主代謝物 M-1 は P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OAT1、OCT2、BSEP 及び多剤耐性関連タンパク（MRP）2 に対する阻害作用を *in vitro* で示さなかった。一方、M-1 は OAT3 に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値は 1579μM であった。しかしながら、日本人血液透析患者で観察された血漿中非結合型 M-1 濃度の最高値（モリデュスタットを臨床最高用量の 200mg 反復経口投与した第Ⅲ相試験にて測定）は IC_{50} 値に対して 0.022 と極めて低かった。したがって、M-1 の OAT3 阻害作用を介して臨床的に問題となる薬物動態学的薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。また、M-1 は MATE1 及び MATE2K に対する阻害作用を示し、IC_{50} 値は 150～200μM の範囲にあると推測された。MATE1 及び MATE2K に対する IC_{50} 値として保守的な 150μM を用いると、日本人血液透析患者で観察された血漿中非結合型 M-1 濃度の最高値（モリデュスタットを臨床最高用量の 200mg 反復経口投与した第Ⅲ相試験にて測定）は IC_{50} 値に対して 0.231 であった。これは、メトホルミンの AUC を約 40%～50%増加させる、MATE の典型阻害薬シメチジンの MATE2K に対する $C_{max,u}/IC_{50}$ の 1.2～2.3、MATE1 に対する 3.3～6.3、並びにピリメタミンの MATE2K に対する $C_{max,u}/IC_{50}$ の 2.99、MATE1 に対する 2.27 よりもかなり低かった。したがって、メトホルミンのような MATE 典型基質薬に及ぼす M-1 の *in vivo* における影響は、典型阻害薬と比べてかなり小さいと推測され、M-1 の MATE に対する阻害作用により臨床的に問題となる薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

2.6.4.2　分析法

2.6.4.2.1　被験物質及び投与製剤

非臨床薬物動態試験では、非標識体としてモリデュスタット（BAY 85-3934）又はそのナトリウム塩（BAY 1053048）を使用し、標識体として[^{14}C]で標識したモリデュスタット（[^{14}C]BAY 85-3934、以下、[^{14}C]モリデュスタットと表記）又はそのナトリウム塩（[^{14}C]BAY 1053048）を使用した。動物に投与する際の溶媒は、20%エタノール、80%PEG400（v/v：経口投与）又は10%エタノール、60%PEG400、30%精製水（v/v/v：経口及び静脈内投与）を使用した。更に、一部の *in vitro* 試験では、非標識の主代謝物 M-1（BAY 1163348）及びヒトマスバランス試験（4.2.2.4.13 PH-38218）の尿より精製した[^{14}C]M-1 を使用した。

2.6.4.2.2　[^{14}C]モリデュスタットの合成

参照項目：　4.2.2.1.1　A51735
　　4.2.2.5.1　A47089

モリデュスタットのピラゾール部分を[^{14}C]標識した（図 2.6.4.2- 1）。合成は三段階の反応にて実施した（2.6.5.2　Table 2-1）。はじめに、[redacted] にて、[redacted] を[redacted]し、次に [redacted] にて[redacted]基を導入、最後に、[redacted] にて標識部分を閉環した。得られた[^{14}C]モリデュスタットの全収率は 34%、放射化学的純度は二つのバッチでそれぞれ 99.2%及び 99.6%、比放射能はそれぞれ 6.45MBq/mg 及び 3.91MBq/mg であった（4.2.2.1.1 A51735）。

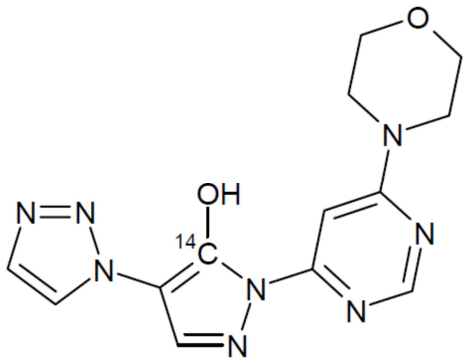


図 2.6.4.2- 1　[^{14}C]モリデュスタットの化学構造及び標識位置

動物へ投与する際には、[^{14}C]モリデュスタットを非標識のモリデュスタットにより適宜希釈して比放射能を調整した。

ラットに[^{14}C]モリデュスタットを 5mg/kg の用量で単回経口投与したとき、投与 24 時間後までの呼気中に排出された $^{14}CO_2$ は投与量のわずか 2.38%に過ぎず、標識位置は代謝的に安定であることが示された（4.2.2.5.1　A47089）。

2.6.4.2.3　放射能の測定

体液、臓器・組織及び排泄物中の放射能濃度は、試料に適切な前処理を施した後、液体シンチレーション計数法（LSC）にて測定した。また、ラット凍結全身切片を用いた臓器・組織における総放射能濃度は、定量的全身オートラジオグラフィ（ラジオルミノグラフィ）にて測定した。

2.6.4.2.4　血漿中未変化体濃度の測定

参照項目：4.2.2.1.2　PH-40869
4.2.2.1.3　PH-36266

非臨床試験における血漿中モリデュスタット濃度は、高速液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）を用いて測定した。内標準物質として、開発初期の試験では構造類縁体（BAY 84-9134）、のちの試験では安定同位体標識したモリデュスタット（4.2.2.1.3　PH-36266）を試料に加えた。除タンパクはアセトニトリル／10mM 酢酸アンモニウム緩衝液（8/1＝v/v）又はアセトニトリル／0.1%トリフルオロ酢酸（9/1＝v/v）にて行い、遠心分離により得られた上清を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に直接注入、又は窒素気流下にて上清を乾固、再溶解した後 HPLC に注入した。HPLC には逆相カラムを接続し、アセトニトリル／0.1%トリフルオロ酢酸のグラジエント系にて溶離し、溶離液を質量分析計に導入した。測定法のバリデーション及び実試料の測定は FDA[1)]及び EMA[2)]のガイドラインに従って実施した（4.2.2.1.2　PH-40869）。

モリデュスタットの検量線は重みつき線形回帰により作成し、血漿中濃度の定量下限（LLOQ）は 0.1 又は 0.5μg/L であった。各動物血漿中における分析精度及び真度を表 2.6.4.2- 1 に示す。

表 2.6.4.2- 1　モリデュスタットの分析法バリデーション

Species	Method No. Version	Range [µg/L]	Precision [%]	Accuracy [%]
Wistar rat[a]	MW1441 Ver 01	0.100 – 100	3.74 - 10.3	96.1 – 104
Beagle dog[b]	MW1441 Ver 01	0.100 – 100	0.86 - 6.84[c]	92.4 – 101[c]
Cynomolgus monkey[b]	MW1373 Ver 02	0.500 – 1000	3.46 - 7.91	80.5 – 110
Rabbit[b]	MW1441 Ver 03	0.500 – 200	0.89 - 8.34	93.3 – 102
Mouse[b]	MW1479 Ver 01	0.500 – 200	1.06 - 4.75	93.2 – 106

a : Inter-assay precision and accuracy
b : Intra-assay precision and accuracy
c : Calculated by excluding outliers
Source: 4.2.2.1.2 PH-40869 (assay performance from all methods and versions are available)

分析精度及び真度は Quality control（QC）試料（LLOQ、低、中、高濃度）の分析結果に基づき算出した。その結果、すべての方法における分析精度及び真度は、LLOQ においてそれぞれ 20%以内及び 80%～120%、LLOQ 以外の低、中、高濃度においてはそれぞれ 15%以内及び 85%～115%の範囲であった（4.2.2.1.2　PH-40869）。

試料採取から分析に供するまでの種々条件下において、モリデュスタットの安定性を検討した。血漿中における安定性の試験成績を表 2.6.4.2- 2 に示す。

モリデュスタットは種々動物の血漿中において、生理的条件、凍結保存及び凍結融解の繰り返しに対して安定であった（表 2.6.4.2- 2）。また、標準原液及び標準溶液、分析待機中において安定であることが確認された（4.2.2.1.2　PH-40869）。

表 2.6.4.2- 2　モリデュスタットの血漿中における安定性

Stability type	Species	Temperature	Stability
Plasma physiological incubation	Rat, dog, monkey	37°C	4 h
Plasma freeze/thaw	Rat, dog	≤ −15°C/RT	3 freeze-thaw cycles
Plasma freeze	Rat	≤ −15°C	19 months
	Dog	≤ −15°C	10 months
	Rabbit	≤ −15°C	60 days
	Mouse	≤ −15°C	1146 days
	Monkey	≤ −15°C	4 weeks

RT: room temperature
Source : 4.2.2.1.2 PH-40869

2.6.4.2.5　代謝プロファイリング

参照項目：4.2.2.4.1　PH-39293

代謝プロファイルの検討には、逆相カラムを接続した HPLC を使用した。0.5%ギ酸／アセトニトリルのグラジエント系によって溶出を行い、オフラインで放射能を検出した。

代謝物の構造解明には、液体クロマトグラフィー／高分解能質量分析（LC-HRMS）、LC-HRMS/MS、核磁気共鳴分光法（NMR）を用いた。LC-HRMS/MS については、試料をそのまま、又は前処理後 HPLC に注入し、溶離液を MS インターフェースに導入した。未変化体及び代謝物 M-1 の化学構造は化学的又は生化学的合成品を用いて同定した。

2.6.4.2.6　データの取扱い

[^{14}C]モリデュスタットを用いた試験では、試料中の放射能濃度（未変化体及び／又は代謝物）をモリデュスタット当量として示す。また、モリデュスタット及び M-1 濃度の換算係数としてそれぞれ 314.31 及び 490.4 を用いた。すなわち、モリデュスタット濃度 314.31μg/L 及び M-1 濃度 490.4μg/L はそれぞれ 1μM に相当する。

薬物動態学的評価は、ノンコンパートメント（モーメント）解析により実施した。この方法で得られる薬物動態学的パラメータは、非臨床薬物動態の評価及びヒトとの比較に適切である。

薬物濃度及び薬物動態パラメータは、幾何平均値及び標準偏差として表記した。一方、血漿タンパク結合、血球移行、排泄量、回収率などのデータについては、算術平均値及び標準偏差として表記した。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 単回投与後の薬物動態

参照項目： 4.2.2.2.1 A47088
4.2.2.2.2 A53544
4.2.2.2.3 PH-37979
4.2.2.2.4 A53545

雄性 Wistar ラット、雌性ビーグル犬及び雌性カニクイザルにモリデュスタット又は[^{14}C]モリデュスタットを単回静脈内投与又は単回経口投与して、モリデュスタット及び総放射能の薬物動態を評価した。静脈内投与は、ラットには急速投与、イヌ及びサルには 15 分間かけて定速投与した。なお、投与はすべて絶食下で行い、投与 4 時間後に再給餌した。

ラットに単回静脈内投与（1 及び 5mg/kg）及び経口投与（1、5 及び 15mg/kg）したときの血漿中モリデュスタット濃度推移を図 2.6.4.3- 1 に示す。また、イヌに単回静脈内投与（1 及び 3mg/kg）及び経口投与（0.3、1.5 及び 5mg/kg）したときの血漿中モリデュスタット濃度推移を図 2.6.4.3- 2 に示す。更に、サルに単回静脈内及び経口投与（いずれも 1mg/kg）したときの血漿中モリデュスタット濃度推移を図 2.6.4.3- 3 に示す。経口投与及び静脈内投与後のモリデュスタットの薬物動態パラメータをそれぞれ表 2.6.4.3- 1 及び表 2.6.4.3- 2 に、総放射能濃度の薬物動態パラメータを表 2.6.4.3- 3 に示す。なお、ラットにおいては代謝物として相当量のグルクロン酸抱合体が胆汁中に排泄されることから、ラットにおける薬物動態パラメータは腸肝循環の影響を含む可能性がある。

モリデュスタットは単回経口投与後、すべての動物で速やかに吸収され、最高血漿中モリデュスタット濃度には、ラットでは投与 0.25～0.5 時間後、イヌでは平均で 0.3～1 時間後、サルでは 1 時間後に到達した。血漿中濃度の消失パターンは二相性で、第一相における消失半減期はすべての動物で 0.40～1.24 時間と短く、終末相の消失半減期は相対的に長く、ラットで 3.0～3.4 時間、イヌでは平均で 2.2～3.4 時間、サルでは 3.4 時間（3 例中 1 例のデータ）であった。ラット及びイヌの低用量（それぞれ 1mg/kg 及び 0.3mg/kg）では終末相が検出できなかった。

単回静脈内投与においても血漿中濃度の消失パターンは二相性で、第一相の消失半減期は短く、ラットで 0.30～0.34 時間、イヌで平均 0.82～1.0 時間、サルで平均 0.58 時間、終末相の消失半減期はより長く、ラットで 2.4～3.1 時間、イヌで平均 2.7 時間、サルで 6.5 時間（3 例中 1 例のデータ）であった。イヌの低用量（1mg/kg）では終末相が検出できなかった。

以上のように、モリデュスタットの消失半減期は、対応する時間間隔で比較した場合に投与経路によらずすべての動物において同様であり、第一相における消失半減期は 0.3～1.2 時間、終末相における消失半減期は 2.2～6.5 時間であった。

[^{14}C]モリデュスタットをラットに経口又は静脈内投与したとき、総放射能濃度は投与後 3～24 時間又は 3～32 時間の間では半減期 5.8～6.8 時間で消失した。イヌでは総放射能濃度の消失パターンは三相性であった。経口投与後 2～8 時間の第一相の消失半減期は平均 1.4 時間、経口投与後 8～15 時間での第二相の消失半減期は平均 3.6 時間、最長 168 時間までの終末相の消失半減期は平均 117 時間と長かった。同様に静脈内投与後 2～8 時間の第一相の消失半減期は平均 1.3 時間、8～15 時間後の第二相の消失半減期は平均 6.4 時間、最長 672 時間までの終末相の消失半減期は平均 186 時間であった。

モリデュスタットの全身曝露は、ラットでは投与経路によらず AUC は用量比をやや上回って増加し、経口投与後の C_{max} は用量比をやや上回って増加した。イヌでは経口投与後の全身曝露は用量比を上回って増加したが、静脈内投与後の全身曝露の増加はやや用量比を下回った。

静脈内投与後の血漿クリアランスは、ラットにおいて 0.78～1.28L/(kg･h)、イヌでは平均で 0.53～0.78L/(kg･h)、サルでは平均 0.70L/(kg･h)であった。血液／血漿中濃度比から算出した、血液クリアランスはラットでは低い～中等度（1.13～1.85L/(kg･h)）、イヌでは中等度（0.72～1.06L/(kg･h)）であった。分布容積はすべての動物で中等度であり、最小値はサルの 0.52L/kg、最大値はラットの 0.97L/kg であった。

[^{14}C]モリデュスタット 5mg/kg を、胆管カニューレを施した（BDC）ラットに単回経口投与したとき、放射能の吸収率は高く、約 73%以上と予測された（2.6.4.6.1）。ラットにモリデュスタット 1、5 及び 15mg/kg を単回経口投与したとき、絶対的バイオアベイラビリティは、それぞれ 26、34 及び 46%と低い～中等度の範囲であった。これらの値は、*in vivo* における血液クリアランス及び肝血流速度から算出した理論的なバイオアベイラビリティ〔腎クリアランスの寄与を考慮しない場合の理論的なバイオアベイラビリティ（F_{max}）73%〕よりも低く、不完全な吸収及び／又は初回通過代謝（肝、小腸）を示唆するものである。

モリデュスタットをイヌに 0.3、1.5 及び 5mg/kg の用量で単回経口投与したとき、絶対的バイオアベイラビリティはそれぞれ平均で 46、71 及び 75%であった。F_{max} は 65%であり、これは高用量 5mg/kg におけるバイオアベイラビリティと大きな差はなかったことから、この用量ではほぼ完全な吸収が示唆された。

モリデュスタットをサルに 1mg/kg の用量で単回経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティは平均で 61%であり、吸収率は高いことが示唆された。

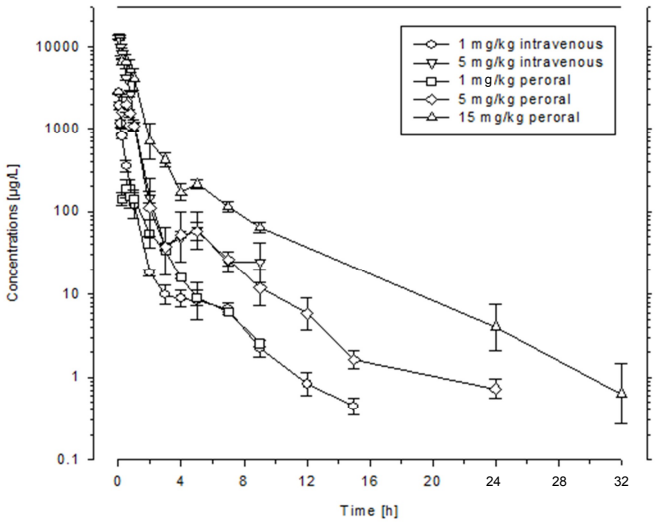


図 2.6.4.3- 1　ラットにモリデュスタットを単回静脈内又は経口投与後の血漿中モリデュスタット濃度（各採血時点 3 例の幾何平均値／幾何標準偏差）

Source: 4.2.2.2.1 A47088

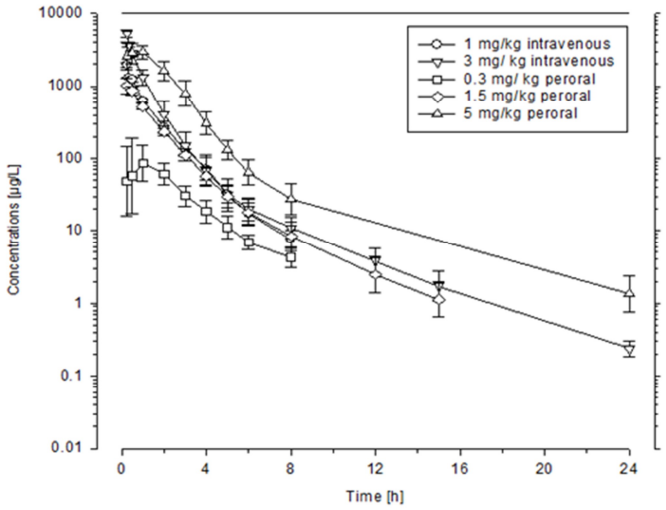


図 2.6.4.3- 2　イヌにモリデュスタットを単回静脈内（15 分間定速静注）又は経口投与後の血漿中モリデュスタット濃度（3 例の幾何平均値／幾何標準偏差）

Source: 4.2.2.2.2 A53544, 4.2.2.2.3 PH-37979

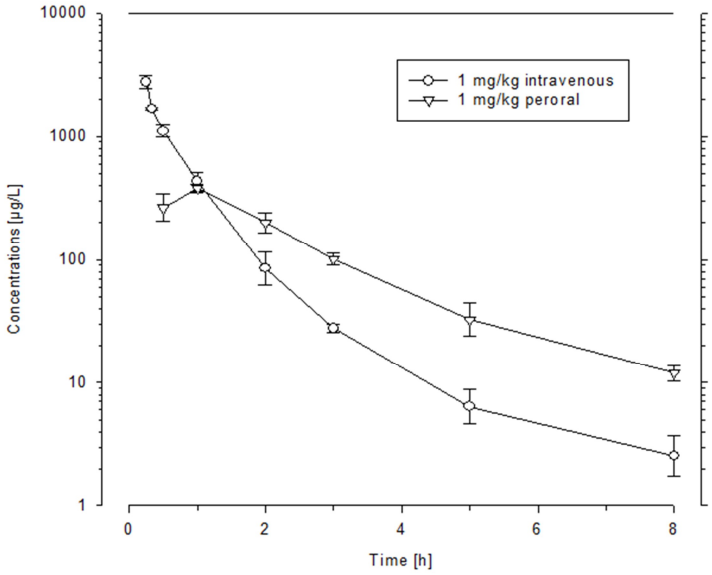


図 2.6.4.3- 3　サルにモリデュスタットを単回静脈内（15 分間定速静注）又は経口投与後の血漿中モリデュスタット濃度（3 例の幾何平均値／幾何標準偏差）

Source: 4.2.2.2.4 A53545

表 2.6.4.3- 1　ラット、イヌ及びサルにモリデュスタットを単回経口投与したときの血漿中モリデュスタット濃度の薬物動態パラメータ

Species		**Rat**	**Rat**	**Rat**	**Dog**	**Dog**	**Dog**	**Monkey**
Sex		**Male**	**Male**	**Male**	**Female**	**Female**	**Female**	**Female**
Dose	**[mg/kg]**	**1[b]**	**5[b]**	**15[b]**	**0.3[c]**	**1.5[d]**	**5[c]**	**1[c]**
AUC	[µg·h/L]	336	2181	8853	255	1380	7000	874
AUC_{norm}	[kg·h/L]	0.336	0.436	0.590	0.851	0.920	1.40	0.874
C_{max}	[µq/L]	187	1992	6609	99.0	947	3482	380
$C_{max,norm}$	[kg/L]	0.187	0.398	0.441	0.330	0.631	0.696	0.380
t_{max}	[h]	0.500	0.500	0.250	1.00	0.315[e]	0.630	1.00
$t_{1/2\ app}$	[h]	0.988	0.402	0.645	1.24	1.0	0.842	1.16
Interval[a]	[h]	0.5-4	0.75-3	0.5-4	1-6	2-5	2-6	2-5
$t_{1/2\ term}$	[h]	n.a	2.95	3.43	n.a	2.15	3.38	n.a
Interval[a]	[h]	n.a	4-24	7-32	n.a	5-15	6-24	n.a
Bioavailability	[%]	26.1	33.9	45.9	45.5	71.4	74.8	60.7

a: Used for regression to determine half-life
b: Related to the AUC_{norm} after IV administration of 5 mg/kg
c: Related to the AUC_{norm} after IV administration of 1 mg/kg
d: Related to the AUC_{norm} after IV administration of 3 mg/kg due to cross-over design in [^{14}C] study
e: Geometric mean calculated for this table
AUC: area under the plasma concentration vs. time curve from zero to infinity; AUC_{norm}: AUC normalized to dose and body weight; C_{max}: maximum drug concentration in plasma; $C_{max,norm}$: maximum drug concentration in plasma normalized to dose and body weight; IV: intravenous; n.a: not applicable; $t_{1/2\ app}$: apparent half-life; $t_{1/2\ term}$: terminal half-life; t_{max}: time to reach maximum drug concentration in plasma
Source: 4.2.2.2.1 A47088, 4.2.2.2.2 A53544, 4.2.2.2.3 PH-37979, 4.2.2.2.4 A53545

表 2.6.4.3- 2 ラット、イヌ及びサルにモリデュスタットを単回静脈内投与したときの血漿中モリデュスタット濃度の薬物動態パラメータ

Species		**Rat**	**Rat**	**Dog**	**Dog**	**Monkey**
Sex		**Male**	**Male**	**Female**	**Female**	**Female**
Dose	**[mg/kg]**	**1**	**5**	**1**	**3**	**1**
AUC	[µg·h/L]	780	6429	1888	3870	1440
AUC_{norm}	[kg·h/L]	0.780	1.29	1.89	1.29	1.44
C_{max}	[µq/L]	2734	12986	1938	5240	2797
$C_{max,norm}$	[kg/L]	2.73	2.60	1.94	1.75	2.80
t_{max}	[h]	0.0333	0.0333	0.250	0.250[b]	0.250
CL	[L/(h·kg)]	1.28	0.778	0.530	0.776	0.695
V_{ss}	[L/kg]	0.967	0.622	0.710	0.784	0.519
$t_{1/2\ app}$	[h]	0.297	0.340	1.04	0.822	0.577
Interval[a]	[h]	0.0833-2	0.0833-3	0.5-8	2-5	0.333-5
$t_{1/2\ term}$	[h]	2.44	3.13	n.a	2.74	n.a
Interval[a]	[h]	2-15	5-9	n.a	5-24	n.a

a: Used for regression to determine half-life
b: Geometric mean calculated for this table
AUC: area under the plasma concentration vs time curve from zero to infinity; AUC_{norm}: AUC normalized to dose and body weight; CL: total body clearance of drug from plasma; C_{max}: maximum drug concentration in plasma; $C_{max,norm}$: maximum drug concentration in plasma normalized to dose and body weight; n.a: not applicable; $t_{1/2\ app}$: apparent half-life; $t_{1/2\ term}$: terminal half-life; t_{max}: time to reach maximum drug concentration in plasma; V_{ss}: apparent volume of distribution at steady state
Source: 4.2.2.2.1 A47088, 4.2.2.2.2 A53544, 4.2.2.2.3 PH-37979, 4.2.2.2.4 A53545

表 2.6.4.3- 3 ラット及びイヌに[^{14}C]モリデュスタットを単回静脈内又は経口投与したときの血漿中総放射能濃度の薬物動態パラメータ

Species		**Rat**	**Rat**	**Dog**	**Dog**
Sex		**Male**	**Male**	**Female**	**Female**
Dose	**[mg/kg]**	**1**	**5**	**3**	**1.5**
Route		**IV**	**PO**	**IV**	**PO**
AUC	[µg-eq·h/L]	1174	5021	18800	6070
AUC_{norm}	[kg·h/L]	1.17	1.00	6.26	4.05
CEQ_{max}	[µg-eq/L]	2339	3499	5440	1570
$CEQ_{max,norm}$	[kg/L]	2.34	0.700	1.81	1.04
t_{max}	[h]	0.0333	0.750	0.250[b]	1[b]
$t_{1/2}$	[h]	5.81	6.79	186	117
Interval[a]	[h]	3-24	3-32	24-672	32-168
$t_{1/2\ app}$ (r1)	[h]	0.390	0.462	6.44	3.59
Interval[a] (r1)	[h]	0.0833-2	0.75-3	8-15	8-15
$t_{1/2\ app}$ (r2)	[h]	n.a	n.a	1.28	1.38
Interval[a] (r2)	[h]	n.a	n.a	2-8	2-8

a: Used for regression to determine half-life
b: Geometric mean calculated for this table
AUC: area under the plasma concentration vs time curve from zero to infinity; AUC_{norm}: AUC normalized to dose and body weight; CEQ_{max}: maximum concentration of radioactivity; $CEQ_{max,norm}$: maximum concentration of radioactivity normalized to dose and body weight; IV: intravenous; PO: per os (oral); r1 and r2: regression range for additional half-lives; $t_{1/2}$: half-life associated with the terminal slope; $t_{1/2\ app}$: apparent half-life; t_{max}: time to reach maximum drug concentration in plasma ; n.a: not applicable
Source: 4.2.2.2.1 A47088, 4.2.2.2.3 PH-37979

2.6.4.3.2　反復投与後の薬物動態

参照項目：　4.2.3.2.3　PH-36369
4.2.3.2.6　PH-36352

モリデュスタットの独立した反復投与薬物動態試験は実施していない。反復投与後の薬物動態は、毒性試験の一環として GLP 下で実施した雌雄ラット及び雌雄イヌの 4 週間反復経口投与試験で得られた全身曝露量に基づいて評価した（2.6.6 及び 2.6.7）。ラット及びイヌにおける反復投与後の薬物動態パラメータを表 2.6.4.3- 4 に示す。

ラットにモリデュスタットを 5、15 及び 50mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与したとき、雄ラットにおける投与 22 日目の全身曝露〔C_{max} 及び AUC(0-24)〕はおおむね用量に比例して増加した。雌ラットの全身曝露は 5 から 15mg/kg の間でほぼ用量に比例して増加したが、15 から 50mg/kg の間では用量比を上回って増加した。全身曝露に反復投与の影響は認められず、初回投与後の全身曝露と比べて一定の増加又は減少傾向を示さなかった。高用量の 50mg/kg でのみ、雌ラットにおける全身曝露は雄よりもやや高い傾向がみられたが、全体として全身曝露に明らかな性差はみられなかった。反復投与中の血漿中濃度は次回投与直前に C_{max} の 1%未満に低下した。

雌雄イヌにモリデュスタットを 5、15 及び 50mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与したとき、曝露量に性差はみられなかったことから、表には雌雄の平均値を示す。C_{max} は 5 から 15mg/kg の間ではおおむね用量に比例して増加したが、15 から 50mg/kg の間では用量比をやや上回って増加した。AUC(0-24)は用量比をやや上回って増加した。反復投与後の全身曝露は、初回投与時の全身曝露と比べてわずかに減少した。反復投与中の血漿中濃度は次回投与直前に C_{max} の 0.1%未満に低下した。

表 2.6.4.3- 4　ラット及びイヌの 4 週間反復経口投与試験におけるトキシコキネティクス

Daily dose [mg/kg/d]	Sex	Date	C_{max} [µg/L]	$AUC_{(0-24)}$ [µg·h/L]	$AUC_{(0-24)norm}$ [kg·h/L]	$C_{(24)}/C_{max}$ [%]	R_AC_{max} [%]	R_AAUC [%]
Rat study (4-weeks)								
5	M	Day 22	546	3014	0.603	0.426	64.8	87.1
15	M	Day 22	1848	9226	0.615	0.496	91.7	108
50	M	Day 22	6876	34269	0.685	0.867	87.9	107
5	F	Day 22	519	3502	0.700	0.490	67.0	111
15	F	Day 22	1612	9064	0.604	0.314	80.7	115
50	F	Day 22	8177	43864	0.877	0.933	107	110
Dog study (4-weeks)								
5	M + F	Week 4	2445	3240	0.648	0.0649	63.3	65.6
15	M + F	Week 4	8283	13695	0.913	0.0324	67.4	97.4
50	M + F	Week 4	40800	80680	1.61	0.0287	73.7	84.0

$AUC_{(0-24)}$: area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{(0-24)norm}$: $AUC_{(0-24)}$ normalized to dose and body weight; $C_{(24)}$: drug concentration 24 hours after administration; C_{max}: maximum drug concentration in plasma; F: female; M: male; R_AAUC: accumulation ratio calculated from AUC_τ after multiple dosing and AUC_τ after single dosing ($R_AAUC = AUC_{\tau,ss}/AUC_\tau$); R_AC_{max}: accumulation ratio calculated from C_{max} after multiple dosing and C_{max} after single dosing ($R_AC_{max} = C_{max,ss}/C_{max}$)
Source: 4.2.3.2.3 PH-36369, 4.2.3.2.6 PH-36352

2.6.4.4　分布

2.6.4.4.1　血漿タンパク結合と血球移行

参照項目：　4.2.2.3.3　A47047
4.2.2.3.4　PH-38787
4.2.2.3.5　PH-39114

モリデュスタット及び M-1 のタンパク結合を評価するため、*in vitro* でヒト及び動物の血漿又はヒト精製タンパク溶液を用い、限外ろ過法によりモリデュスタット及び M-1 の非結合型分率を算出した。また、細胞培養液及びミクロソーム画分中における非結合型分率を算出した。更に、血漿中濃度の血液中濃度に対する比（C_b/C_p）を算出しモリデュスタットの血球移行について評価した。モリデュスタット及び M-1 の試験成績を表 2.6.4.4- 1 及び表 2.6.4.4- 2 にそれぞれ示す。

モリデュスタット及び M-1 の血漿中における非結合型分率には検討した範囲で明らかな濃度依存性はみられなかった。したがって、モリデュスタット及び M-1 の非結合型分率はすべての濃度の平均値として示す。モリデュスタットの非結合型分率は、ヒトで最も低く 20.7%、マウスで最も高く 51.4%であった。動物血漿中における非結合型分率はヒトと比較して高い傾向が認められた。M-1 の非結合型分率はヒトで 83.2%、イヌで 90.3%であり、モリデュスタットよりも極めて高かった。すなわち、モリデュスタットの血漿タンパク結合率は 48.6%～79.3%（マウス～ヒト）、M-1 の血漿タンパク結合率は 9.7%（イヌ）及び 16.8%（ヒト）といずれも低かった。

モリデュスタットのヒト血漿タンパク結合には pH 依存性（pH7.0～7.8）は認められなかった（2.6.5.6 Table 6-1）。

ヒト血漿中におけるモリデュスタットの主要な結合タンパク種はアルブミンであった。ヒトのα-グロブリン、γ-グロブリン及びα$_1$-酸性糖タンパクに対する結合率は低かった。細胞を用いた *in vitro* 試験で使用した培地〔10%FCS（ウシ胎仔血清）含有 William's E〕における結合率も低く、非結合型分率はモリデュスタットで 74.7%、M-1 で 92.0%であった。ヒト肝ミクロソームに対する非結合型分率は、タンパク濃度に依存しており、モリデュスタットで 54.7%～74.0%の範囲、M-1 で 75.4%～94.9%の範囲であった。

血液中のモリデュスタットは主に血漿に分布し、C_b/C_p はヒト、ラット及びイヌにおいてそれぞれ 0.62、0.69 及び 0.73 であった。

表 2.6.4.4- 1 モリデュスタットのタンパク結合〔非結合型分率（%）〕及び血球移行（C_b/C_p）

Species (sex) Binding protein	Concentration [µg/L]	f_u [%]	Conc. in blood/ conc. in plasma (C_b/C_p)
Dog, Beagle (F)	94.2 – 9804	40.2[a]	0.73[b]
Human, Caucasian (M)	100 – 10136	20.7[a]	0.62[b]
Monkey, Cynomolgus (F)	96.0 – 9114	25.0[a]	-
Mouse, CD-1 (M)	97.2 – 10061	51.4[a]	-
Rabbit, CHBB (F)	95.4 – 9683	31.7[a]	-
Rat, Wistar (M)	97.1 – 10090	34.2[a]	0.69[b]
AAGP	977	83.7	-
Alpha-globulin	1010	57.0	-
Gamma-globulin	1017	65.9	-
HSA	974	31.2	-
William's E (10% FCS)	97.0 – 7932	74.7[a]	-
Human liver microsomes (0.05 mg/mL - 0.5 mg/mL)	106 – 10230	74.0 - 54.7[a]	-

a: Mean free (unbound) fraction of three drug concentration levels
b: Mean C_b/C_p of three drug concentration levels (for concentration levels tested, see 2.6.5.6 Table 6-2)
-: not determined; AAGP: alpha 1-acid glycoprotein; C_b/C_p: ratio of concentration of drug in plasma and concentration of drug in blood; CD-1: strain of mice; CHBB: strain of rabbit; F: female; FCS: fetal calf serum; HSA: human serum albumin; M: male;
Source: 4.2.2.3.3 A47047, 4.2.2.3.4 PH-38787

表 2.6.4.4- 2 M-1 のタンパク結合〔非結合型分率（%）〕

Species (sex) Binding protein	Concentration [µg/L]	f_u[a] [%]
Dog, Beagle (F)	194 – 19940	90.3
Human, Caucasian (F)	198 – 20113	83.2
William's E (10% FCS)	201 – 19906	92.0
Human liver microsomes (0.05 mg/mL - 0.5 mg/mL)	182 – 20439	94.9-75.4[b]

a: Mean free (unbound) fraction of three drug concentration levels
b: Fraction unbound decreased with increasing protein concentrations
F: female; FCS: fetal calf serum; M-1: metabolite 1
Source: 4.2.2.3.5 PH-39114

2.6.4.4.2 臓器・組織分布

[^{14}C]モリデュスタットを 5mg/kg の用量で雌雄アルビノラット（Wistar）、妊娠ラット（Wistar）及び雄有色ラット（Long Evans）に単回経口投与し、放射能の臓器・組織分布及び消失を全身オートラジオグラフィーにより定量的及び定性的に評価した。

2.6.4.4.2.1 単回投与後の臓器・組織分布

参照項目： 4.2.2.3.1 PH-38474

アルビノラットに単回経口投与したときの臓器・組織中総放射能濃度の薬物動態パラメータを表 2.6.4.4- 3 に示す。

アルビノラットに経口投与後、放射能は速やかに吸収され、脳及び脊髄などの一部の組織を除く広範な臓器・組織に分布した。ほとんどの臓器・組織では投与 0.5 時間後に最高放射能濃度（CEQ_{max}）に到達した。CEQ_{max} が最も高かったのは、腎臓、肝臓及び副腎であり、それぞれ血液における CEQ_{max} の 12.8、5.7 及び 3.6 倍高値であった。皮膚、骨格筋、肺、胸腺、骨髄、心臓、脂

肪、膵臓、精巣及び精嚢を含むほとんどの臓器・組織中の CEQ_{max} は血液と同程度か、むしろ低かった。複数の臓器・組織内部では不均一な分布が認められ、腎臓では腎乳頭及び腎髄質周辺部の濃度が高く、副腎では皮質の濃度がより高かった。実質的に血液脳関門透過性はみられなかった。有色ラットにおける色素含有組織（眼球など）に対する特異的親和性は認められなかった（2.6.5.5　Table 5-5）。また、雌ラットに経口投与後の分布パターンは雄ラットと同じであった(2.6.5.5　Table 5-4)。卵巣及び子宮の放射能濃度は血液と同程度（投与 24 時間後）又はやや高値（投与 30 分後）であった。

臓器・組織中放射能濃度は速やかに減少した。投与 2～8 時間の範囲で算出した、臓器・組織中放射能濃度のみかけの消失半減期はおおむね 1.5～4.5 時間であった。脾臓の消失半減期はやや長く 5.9 時間であった。経口投与 24～72 時間後には多くの臓器・組織中放射能濃度は LLOQ 未満となった。吸収相及び主要な消失相に相当する時間帯（投与 0.5～4 時間後）においては、消化管粘膜及び内容物、胆管内容物及び膀胱内容物には高い放射能が認められた。これらは未吸収の放射能又は胆汁、胆汁外及び尿中排泄された放射能を示すものと考えられる。経口投与 24 時間後にも、依然として高濃度の放射能が大腸内容物及び膀胱内容物に認められ、低濃度の放射能は肝臓、腎臓、特に腎髄質周辺部、副腎皮質、消化管粘膜に認められたが、ラット体内に残存した放射能は投与量の 0.1%程度に過ぎなかった。

結論として、ラットに[^{14}C]モリデュスタットを経口投与したとき、臓器・組織に不可逆的な放射能の結合又は長期間の残留はみられなかった。

表 2.6.4.4- 3 雄性ラットに[^{14}C]モリデュスタットを 5mg/kg の用量で単回経口投与したときの臓器・組織中放射能濃度の薬物動態パラメータ

Organs/tissues	CEQ_{max} [μg-eq/L]	t_{max} [h]	$AUC_{(0-24)}$ [μg-eq·h/L]	$t_{1/2}$ [h]	Regression range [h]	$t_{1/2,app}$ [h]	Regression range [h]
Adipose tissue, brown	237	0.5	519	75.8	8-72	3.66	2-8
Adipose tissue, white	171	0.5	n.c.	n.c.	-	1.55	2-8
Adrenal cortex	2700	2.0	16300	9.56	8-72	4.16	2-8
Adrenal medulla	1430	2.0	6380	6.82	4-24	n.c.	-
Adrenals (average)	2450	2.0	14600	5.32	4-24	n.c.	-
Blood (heart)	**680**	**0.5**	**1240**	**~11.4**	**8-24**	**3.16**	2-8
Bone marrow	279	0.5	784	38.7	8-72	4.67	2-8
Brain	20.4	0.5	n.c.	n.c.	-	~0.97	0.5-2
Cardiac muscle	432	0.5	n.c.	n.c.	-	3.01	2-8
Eye wall	145	0.5	n.c.	n.c.	-	2.75	2-8
Harderian gland	390	0.5	922	~13.8	8-24	3.98	2-8
Kidney cortex	3800	0.5	7830	13.8	8-72	3.38	2-8
Kidney, inner medulla	6390	0.5	9490	~6.98	8-24	2.92	2-8
Kidney, outer medulla	7560	0.5	14200	29.0	8-168	3.29	2-8
Kidneys (average)	8720	0.5	14100	14.7	8-72	3.42	2-8
Liver	3870	0.5	12800	11.2	8-72	4.66	2-8
Lungs	705	0.5	1360	~8.36	8-24	3.17	2-8
Pancreas	519	0.5	834	8.52	2-24	n.c.	-
Seminal vesicles	83.0	0.5	638	~6.50	8-24	n.c.	-
Skeletal muscles (dorsal)	178	0.5	n.c.	n.c.	-	3.37	2-8
Skin (dorsal)	405	0.5	917	~7.12	8-24	3.01	2-8
Spleen	54.6	2.0	539	~13.3	8-24	5.87	2-8
Submandibular gland	380	0.5	757	~8.71	8-24	3.98	2-8
Testes	168	0.5	n.c.	n.c.	-	3.07	2-8
Thymus	221	0.5	495	8.76	8-24	4.16	2-8
Thyroid	559	0.5	977	48.5	8-72	4.26	2-8

~: rough estimate, due to regression with only 2 time points or highly variable terminal concentrations; $AUC_{(0-24)}$: area under the tissue concentration vs time curve from time 0 to 24 hours; CEQ_{max}: maximum concentration of radioactivity; n.c.: not calculated; $t_{1/2}$: half-life associated with the terminal slope; $t_{1/2,app}$: apparent $t_{1/2}$; t_{max}: time to reach maximum concentration of radioactivity
Source: 4.2.2.3.1 PH-38474

2.6.4.4.2.2 妊娠ラットに単回投与後の定量的臓器・組織分布

参照項目： 4.2.2.3.2 PH-38751

[^{14}C]モリデュスタットを 5mg/kg の用量で妊娠ラット（Wistar、妊娠 18 日目）に単回経口投与したときの臓器・組織中放射能濃度の薬物動態パラメータを表 2.6.4.4- 4 に示す。

[^{14}C]モリデュスタットを単回経口投与後、放射能は速やかに母動物及び胎仔の臓器・組織に分布し、ほとんどの臓器・組織では投与 0.5 時間又は 2 時間後に CEQ_{max} に到達した。母動物において CEQ_{max} が最も高かったのは腎臓であり、血液の CEQ_{max} に対して 7.7 倍高値であった。副腎及び肝臓の CEQ_{max} も血液 CEQ_{max} のそれぞれ 3.5 及び 3.0 倍高値であった。そのほかの臓器・組織の CEQ_{max} は血液と同程度か血液よりも低かった。母動物の脳における CEQ_{max} は血液の 3%未満と極めて低かった。胎仔のすべての臓器・組織中放射能濃度は投与 2 時間後に CEQ_{max} に到達した。脳を除く胎仔臓器・組織の CEQ_{max} は母動物血液の CEQ_{max} に対して約 0.3 であった（胎仔脳では 0.08）。また、胎仔の臓器・組織の CEQ_{max} は脳及び骨格筋を除いて対応する母動物の臓器・組織の CEQ_{max} よりも低かった。

臓器・組織中放射能は速やかに減少し、投与 24 時間後の胎仔を含む母動物体内に残存した放射能は投与量の 0.28%、胎仔体内に残存した放射能は投与量の 0.02%であった。最終観察時点

の投与 48 時間後において、ほとんどの臓器・組織の放射能は LLOQ 未満となったが、極めて低濃度の放射能が母動物の腎臓、副腎、乳腺、胎仔の肝臓、腎臓、糞に認められた。

結論として、モリデュスタット及び／又は代謝物の胎盤通過性は中等度であった。

表 2.6.4.4- 4 妊娠ラットに[^{14}C]モリデュスタットを 5mg/kg の用量で単回経口投与したときの臓器・組織中放射能濃度の薬物動態パラメータ

Organs/tissues	CEQ_{max} [µg-eq/L]	CEQ_{max} ratio organ/blood	t_{max} [h]	$AUC_{(0-24)}$ [µg-eq·h/L]	$t_{1/2}$ [h]	Regression range [h]
Adipose tissue, brown	345	0.290	2	1230	6.86	4 – 24
Adipose tissue, white	162	0.136	2	863	10.0	4 – 24
Adrenal cortex	4210	3.54	2	31700	6.70	4 – 48
Adrenal medulla	3160	2.66	2	16300	7.25	4 – 48
Adrenals (average)	4190	3.52	2	30500	6.72	4 – 48
Amnion	875	0.735	0.5	6180	7.93	4 – 48
Amniotic fluid	202	0.170	4	1400	11.2	4 – 48
Blood (heart)	**1190**	**1.00**	**2**	**4810**	**4.81**	**4 – 24**
Brain	32.7	0.0275	2	n.c.	~1.64	2 – 4
Cardiac muscle	703	0.591	0.5	2740	4.83	4 – 24
Kidney cortex	6160	5.18	0.5	20700	9.00	8 – 48
Kidney, inner medulla	6380	5.36	0.5	20600	7.72	8 – 48
Kidney, outer medulla	13100	11.0	0.5	51000	9.02	4 – 48
Kidneys (average)	9150	7.69	0.5	37900	7.70	4 – 48
Liver	3570	3.00	0.5	16900	6.31	4 – 48
Lungs	1310	1.10	0.5	4900	4.77	4 – 24
Mammary glands	1380	1.16	0.5	5400	13.9	4 – 48
Ovaries	704	0.592	2	2640	5.77	4 – 24
Placentae	706	0.593	2	3190	4.99	4 – 24
Skeletal muscles (dorsal)	229	0.192	0.5	n.c.	~2.19	4 – 8
Skin (dorsal)	906	0.761	2	3410	4.35	4 – 24
Spleen	668	0.561	0.5	2000	6.24	4 – 24
Submandibular gland	518	0.435	0.5	2140	5.83	4 – 24
Uterus	1360	1.14	2	5500	4.92	4 – 24
Fetuses (average)	**371**	**0.312**	**2**	**2310**	**5.82**	4 – 24
Fetal blood	331	0.278	2	2200	4.73	4 – 24
Fetal brain	96.2	0.0808	2	877	8.58	4 – 24
Fetal kidney	370	0.311	2	2910	12.1	8 – 48
Fetal liver	391	0.329	2	2550	9.98	8 – 48
Fetal meconium	379	0.318	2	2690	20.0	8 – 48
Fetal muscle	350	0.294	2	2260	5.02	4 – 24

~: rough estimate, due to regression with only 2 time points or highly variable terminal concentrations; $AUC_{(0-24)}$: area under the tissue concentration vs time curve from time 0 to 24 hours; CEQ_{max}: maximum concentration of radioactivity; n.c.: not calculated; $t_{1/2}$: half-life associated with the terminal slope; t_{max}: time to reach maximum concentration of radioactivity
Source: 4.2.2.3.2 PH-38751

2.6.4.5　　代謝

ヒト及び動物の肝ミクロソーム、肝細胞及びヒト組換え UGT 分子種を用いて *in vitro* にてモリデュスタットの代謝を検討した。また、マウス、ラット、イヌ及びヒトにおける *in vivo* 代謝を検討した。*in vitro* 及び *in vivo* 試験に基づく推定代謝経路を図 2.6.4.5- 1 に示す。

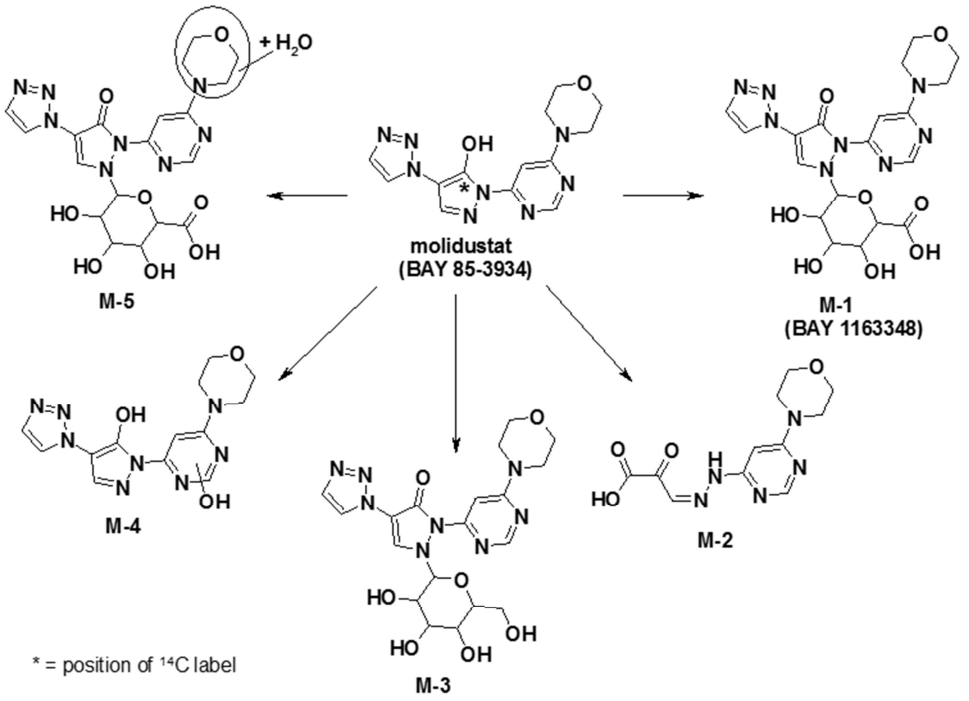


図 2.6.4.5- 1　ヒト及び動物におけるモリデュスタットの推定代謝経路（*in vitro* 及び *in vivo* 試験に基づく）

2.6.4.5.1　　*In vitro* 代謝

2.6.4.5.1.1　動物種の比較

参照項目：　4.2.2.4.1　PH-39293

ヒト及び動物の肝ミクロソームに[^{14}C]モリデュスタットを 1μM の濃度で添加後 1 時間における代謝物の産生量を表 2.6.4.5- 1 に示す。

肝ミクロソームにおける酸化的代謝物の産生量は、ウサギ（約 22%）を除くすべての動物で 3%未満であり、無視できる程度のごく少量であった。酸化に続くピラゾロン環の加水分解とトリアゾール環の喪失によって産生された M-2 が、ウサギ肝ミクロソームのみで産生された。

表 2.6.4.5- 1 [^{14}C]モリデュスタット（1μM）をヒト及び動物の肝ミクロソームと 1 時間インキュベーションしたときの代謝物組成

	Man/ pool (mix) [%]	Cynomolgus monkey (mix) [%]	Wistar rat (male) [%]	Wistar rat (female) [%]	Beagle dog (female) [%]	NMRI mouse (male) [%]	CD-1 mouse (male) [%]	Himalaya rabbit (female) [%]
M-2	-	-	-	-	-	-	-	19.8
Molidustat	100	100	98.4	100	100	98.4	97.7	77.7
Turnover	-	-	-	-	-	-	-	22.3

CD-1: strain of mice; M-2: metabolite 2; NMRI: strain of mice;
Source: 4.2.2.4.1 PH-39293

ラット、イヌ及びヒトの肝細胞懸濁液に[^{14}C]モリデュスタットを 1μM の濃度で添加 4 時間後における代謝物の産生量を表 2.6.4.5- 2 に示す。

代謝物の産生量は、平均で約 7%～28%（イヌ～ラット）であり、肝細胞にて同定された唯一の代謝経路は M-1 を産生する親化合物の N-グルクロン酸抱合であった。

表 2.6.4.5- 2 [^{14}C]モリデュスタット（1μM）をヒト及び動物の肝細胞懸濁液と 4 時間インキュベートしたときの代謝物組成

	Man (pooled, n = 2) [%]	Wistar rat (male, n = 2) [%]	Beagle dog (female, n = 2) [%]
M-1	12.5	27.0	6.1
Molidustat	87.5	71.8	92.9
Turnover	12.5	28.2	7.1

n: number; M-1: metabolite 1
Source: 4.2.2.4.1 PH-39293

2.6.4.5.1.2 CYP 分子種の同定

In vitro 及び *in vivo* において、モリデュスタットの代謝及び消失における酸化的代謝の寄与は小さかったことから、CYP 分子種の同定に関する試験は実施しなかった。ヒト肝細胞では、グルクロン酸抱合が主要な代謝経路であった。

2.6.4.5.1.3 UGT 分子種の同定

参照項目： 4.2.2.4.2 A51871
4.2.2.6.1 PH-39762

12 種類の組換え UGT 分子種（UGT1A1、1A3、1A4、1A6、1A7、1A8、1A9、1A10、2B4、2B7、2B15、2B17）並びに単一ドナー由来及びプールしたヒト肝ミクロソームを用いて、モリデュスタットのグルクロン酸抱合に関わる UGT 分子種を同定した。更に、ヒト腸及び腎ミクロソームを用いた検討も実施した。

組換え UGT 分子種を用いた検討では、モリデュスタットのグルクロン酸抱合体（M-1）は、主に UGT1A1 及び 1A9 によって産生され、UGT1A3、1A7 及び 1A8 によっても少量産生された。ヒト肝、腸及び腎ミクロソームにおける M-1 の産生は、UGT1A1 及び UGT1A9 選択的阻害薬の存在下では UGT 分子種の発現量の差異[3)]に応じて減少した。すなわち、UGT1A1 選択的阻害薬のアタザナビルは、肝及び腸ミクロソームにおける M-1 の産生をそれぞれ阻害薬非存在下の約 32%及び 25%

まで顕著に減少させたのに対し、UGT1A9 選択的阻害薬のニフルム酸は腎ミクロソームにおける M-1 の産生を阻害薬非存在下の 20%まで顕著に低下させたものの、肝ミクロソームではその影響は小さかった（阻害薬非存在下の 76%）（4.2.2.4.2　A51871）。

ヒト肝ミクロソーム（単一ドナー及びプール）を用いた検討で、M-1 の産生は UGT1A1 に特異的な反応であるエストラジオールのグルクロン酸抱合と高い相関（r^2=0.90）を示す一方で、UGT1A9 に特異的な反応であるプロポフォールのグルクロン酸抱合との相関（r^2=0.51）はかなり低かった（4.2.2.6.1　PH-39762）。

以上の検討により、*in vivo* におけるモリデュスタットの主要な代謝酵素分子種は UGT1A1 であり、UGT1A9 の重要性は低いと考えられる。

2.6.4.5.1.4　CYP 分子種に対する阻害作用

参照項目：4.2.2.4.3　A51956
4.2.2.4.4　PH-38686
4.2.2.4.5　PH-40765
4.2.2.4.14　PH-40834

モリデュスタット及び M-1 の主要な CYP 分子種（CYP1A1、1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1、2J2 及び 3A4）に対する阻害作用について、各 CYP 分子種の標準基質及びプールしたヒト肝ミクロソーム又は組換え CYP1A1 及び 2J2 を用いて検討した。モリデュスタットの最高濃度は 150μM、M-1 の最高濃度は 1000μM とした。CYP 阻害作用の試験成績を表 2.6.4.5- 3 に示す(4.2.2.4.3　A51956、4.2.2.4.4　PH-38686)。また、CYP1A1 に対するモリデュスタットの阻害作用について、組換え CYP1A1 及び肝細胞を用いて、追加的な検討を実施した(4.2.2.4.14　PH-40834)。更に、CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4 に対するモリデュスタット及び M-1 の時間依存的阻害作用の可能性について、プールしたヒト肝ミクロソームを用いて評価した(4.2.2.4.3　A51956、4.2.2.4.5　PH-40765)。

モリデュスタットは CYP1A1 に対して強い阻害作用（IC_{50} 値：5μM）を示したが、これを除くと最高濃度の 150μM まで主要な CYP 分子種に対する阻害作用を示さなかった（4.2.2.4.3　A51956）。M-1 は CYP2D6 に対して阻害作用（IC_{50}値：621μM）を示したが、これを除くと最高濃度の 1000μM まで主要な CYP 分子種に対して阻害作用を示さなかった（4.2.2.4.4　PH-38686）。更に、NADPH 存在下でモリデュスタット及び M-1 を 30 分間、ヒト肝ミクロソームと共にプレインキュベーションした場合において、CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4 に対して時間依存的阻害作用は認められなかった（4.2.2.4.3　A51956、4.2.2.2.4　PH-38686、4.2.2.4.5　PH-40765、2.6.5.12 Table 12-1、Table 12-2、Table 12-3）。

モリデュスタットの CYP1A1 に対する K_i 値（IC_{50} 値/2）を非結合型濃度基準に補正した場合の 1.85μM は、モリデュスタット 200mg を単回経口投与後の非結合型最高血漿中濃度 1.89μM[a] とほぼ同じであり、薬物相互作用の可能性を否定できない。一方、CYP1A1 の基質薬物は限られており（リオシグアト、エルロチニブ、グラニセトロンなど）、また、ほとんどの場合、消失全体にかかわる CYP1A1 の寄与率は明らかではない。リオシグアトは CYP1A1 の寄与率が 0～0.65 と推定されていることから、CYP1A1 の基質としてリオシグアトを用い、*in vitro* でヒト肝ミクロソー

a）試験 15557（投与量 20～40mg：5.3.3.3.3　PH-38275）、17767（投与量 75mg：5.3.3.3.4　PH-39232）及び 16370（投与量 40～160mg：5.3.3.2.2　PH-37531）の患者への投与群のうち、モリデュスタットの C_{max}/D が最高値を示した投与群の平均値を用いて外挿した $C_{max,u}$ の予測値

ム及び肝細胞におけるリオシグアトの脱メチル化代謝物産生に対する阻害作用に基づき、*in vivo* における AUC の増加（AUCR）を予測した。その結果、CYP1A1 の寄与率が 0.45 を超える場合に、モリデュスタット 50～75mg 以上の投与により、リオシグアトの AUC は 2 倍以上に増加する可能性が示唆された（4.2.2.4.14　PH-40834）。

M-1 の CYP2D6 に対する推定 K_i 値（$IC_{50}/2$）を非結合型濃度基準に補正すると 295μM であり、モリデュスタットを血液透析患者に 200mg 反復投与後に観察された M-1 の非結合型濃度の最高値 34.6μM[b)]はこれに対して十分低い（0.12）。このとき、MSPK モデルに基づく AUCR は 1.25 未満であったことから、M-1 の CYP2D6 阻害作用が臨床的に問題となる相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

まとめると、消失に対する CYP1A1 の寄与が大きい（f_{CL}＞0.45）薬物を併用した場合において、モリデュスタットは CYP1A1 阻害作用を介して臨床的に問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性がある。一方、そのほかの主要な CYP 分子種に対するモリデュスタット及び M-1 の阻害作用を介する薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4.5- 3 モリデュスタット及び M-1 の CYP 分子種に対する阻害作用

		Inhibitor	
		Molidustat	M-1
CYP isoform	Probe substrate	IC_{50} [μM]	IC_{50} [μM]
1A1	Granisetron	5.0	>1000
1A2	Phenacetin	>150	>1000
2A6	Coumarin	>150	>1000
2B6	Bupropion	>150	>1000
2C8	Amodiaquine	>150	>1000
2C9	Diclofenac	>150	>1000
2C19	(*S*)-mephenytoin	>150	>1000
2D6	Dextromethorphan	>150	621
2E1	Chlorzoxazone	>150	>1000
2J2	Ebastine	>150	>1000
3A4	Midazolam	>150	>1000
3A4	Testosterone	>150	>1000

CYP: cytochrome P450; IC_{50}: concentration required for 50% inhibition; M-1: metabolite 1
Source: 4.2.2.4.3 A51956, 4.2.2.4.4 PH-38686

2.6.4.5.1.5　UGT 分子種に対する阻害作用

参照項目：　4.2.2.4.6　A51875
4.2.2.4.7　PH-38919

モリデュスタット及び M-1 の主要 UGT 分子種（UGT1A1、1A4、1A6、1A9、2B4 及び 2B7）に対する阻害作用について、UGT 分子種の標準基質及びプールしたヒト肝ミクロソームを用いて検討した。モリデュスタットの最高濃度は 50μM（4.2.2.4.6　A51875）又は 150μM（4.2.2.4.7　PH-

b) 試験 19352（5.3.5.1.8　PH-40450）で日本人の血液透析患者にモリデュスタットを反復経口投与したときに観察された M-1 の非結合型濃度の最高値（Week 24 PRE：透析及び投与前）

38919）とした。M-1 の最高濃度は 555μM とした（4.2.2.4.7　PH-38919）。UGT 阻害作用の試験成績（4.2.2.4.7　PH-38919）を表 2.6.4.5- 4 に示す。

モリデュスタット及び M-1 は UGT1A1、1A4、1A6、1A9、2B4 及び 2B7 の標準基質のグルクロン酸抱合に対して阻害作用を示さず、IC_{50} 値はモリデュスタットで＞150μM 及び M-1 で＞555μM であった。それゆえ、モリデュスタット及び M-1 が UGT を阻害することにより臨床的に問題となる薬物動態学的薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4.5- 4　モリデュスタット及び M-1 の UGT 分子種に対する阻害作用

		Inhibitor	
		Molidustat	M-1
UGT isoform	Probe substrate (reaction)	IC_{50} [μM]	IC_{50} [μM]
1A1	Estradiol (estradiol 3-glucuronide)	>150	>555
1A1	SN-38	>150	>555
1A4	Trifluoperazine	>150	>555
1A4	1'-Hydroxymidazolam (N-glucuronide)	>150	>555
1A6	α-Naphthol	>150	>555
1A9	Propofol	>150	>555
2B4	1'-Hydroxymidazolam (O-glucuronide)	>150	>555
2B7	Tarenflurbil	>150	>555

IC_{50}: concentration required for 50% inhibition; M-1: metabolite 1; UGT: uridine-5-diphosphate glucuronosyltransferase
Source: 4.2.2.4.7 PH-38919

2.6.4.5.1.6　CYP 分子種に対する誘導作用

参照項目：4.2.2.4.8　A52830
4.2.2.4.9　PH-39750

モリデュスタットの CYP 分子種に対する誘導作用について、ドナー3 名から個別に調製したヒト培養肝細胞を用い酵素活性を指標として検討した。モリデュスタットの最高濃度を 10000 μg/L として、5 日間連日曝露しても、モリデュスタットは CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19 及び CYP3A4 の酵素活性を誘導しなかった（4.2.2.4.8　A52830）。

また、酵素活性に加えて mRNA レベルを指標として検討した場合にも、モリデュスタットは最高濃度の 10000μg/L まで、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対して誘導作用を示さなかった（4.2.2.4.9　PH-39750、表 2.6.4.5- 5）。モリデュスタット存在下における酵素活性及び mRNA レベルの増加はいずれについても 1.4 倍以下であった。

なお、培養上清中のモリデュスタット及び M-1 を LC-MS にて測定したところ、処置期間を通じて両者による曝露が確認されたことから、モリデュスタット投与後の M-1 の誘導能についても合わせて評価可能と考えられる。

まとめると、モリデュスタット及び M-1 により臨床的に問題となる酵素誘導が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4.5- 5 モリデュスタットの CYP 分子種に対する誘導作用

CYP isoform	Result
CYP1A2 (mRNA/activity)	No induction up to 10000 µg/L
CYP2B6 (mRNA/activity)	No induction up to 10000 µg/L
CYP3A4 (mRNA/activity)	No induction up to 10000 µg/L

CYP: cytochrome P450
Source: 4.2.2.4.9 PH-39750

2.6.4.5.2 *In vivo* 代謝

マウス、ラット、イヌ及びヒトにおけるモリデュスタットの *in vivo* 代謝を検討した。

2.6.4.5.2.1 血漿中代謝物

参照項目： 4.2.2.4.10 PH-37906
4.2.2.4.11 PH-37951
4.2.2.4.12 PH-38036
4.2.2.4.13 PH-38218

雄性 CD-1 マウス、雄性 Wistar ラット、雌性ビーグル犬、健康成人男性に[^{14}C]モリデュスタットを単回経口投与、又はラット及びイヌに単回静脈内投与し、血漿中の代謝物組成を検討した。ヒト及び動物の血漿中代謝物組成を表 2.6.4.5- 6 に示す。

血漿中放射能の主構成成分はヒトを含むすべての動物において、未変化のモリデュスタット及び M-1 であり、種差及び投与経路による差は認められなかった。

表 2.6.4.5- 6 ヒト及び動物における血漿中の代謝物組成（%AUC）

	% of AUC (total radioactivity)					
Spicies	**Mouse**	**Rat**		**Dog**		**Human**
Dose (mg/kg)	**5**	**1**	**5**	**3**	**1.5**	**25[a]**
N	**-[b]**	**-[b]**		**3**		**4**
Route of administration	**p.o.**	**i.v.**	**p.o.**	**i.v.**	**p.o.**	**p.o.**
Duration (h)	**0 – 8**	**0 – 9**	**0 – 9**	**0 – 12**	**0 - 12**	**0 – infinity**
Molidustat	37.3	54.1	41.4	33.7	20.8	17.4
M-1	61.9	45.4	58.1	62.9	78.0	80.2

AUC: area under the plasma concentration vs. time curve; N: number; i.v.: intravenous p.o.: per os (oral); M-1: metabolite 1
a: Dose (mg/body) shown in human
b: AUC calculated by mean concentrations of 3 animals at each time point.
Source: 4.2.2.4.10 PH-37906, 4.2.2.4.11 PH-37951, 4.2.2.4.12 PH-38036, 4.2.2.4.13 PH-38218

2.6.4.5.2.2 排泄物中代謝物

参照項目： 4.2.2.4.11 PH-37951
4.2.2.4.12 PH-38036
4.2.2.4.13 PH-38218

雄性 Wistar ラット（BDC 及び未処置）、雌性ビーグル犬、健康成人男性に[^{14}C]モリデュスタットを単回経口投与、又はラット及びイヌに単回静脈内投与し、尿糞及び胆汁中（ラットのみ）の代謝物組成を検討した。ヒト及び動物の排泄物中代謝物組成を表 2.6.4.5- 7 に示す。

胆管カニューレを施した（BDC）ラットに[^{14}C]モリデュスタット 5mg/kg を単回経口投与及び 1mg/kg を単回静脈内投与したとき、胆汁中には投与量の 37.4%及び 21.7%に相当する放射能が排泄されたが、ほとんどすべてが N-グルクロン酸抱合体 M-1 であり、投与量の 36.0%及び 20.6%を占めた。BDC ラットに[^{14}C]モリデュスタットを静脈内投与したとき、糞中に投与量の 11.4%に相当する放射能が排泄されたが、これは、胆汁を介さない消化管分泌を示すものであり、ほとんどすべてがモリデュスタット（投与量の 11.1%）として回収された。

未処置ラットに[^{14}C]モリデュスタットを静脈内及び経口投与したとき、尿中には投与量のそれぞれ 45.8%及び 34.1%に相当する放射能が排泄された。尿中放射能の主構成成分は未変化体と M-1 であり、静脈内投与後の尿中には投与量の 23.5%相当が未変化体、20.3%相当が M-1 として回収され、経口投与後の尿中には投与量の 12.2%相当が未変化体、20.7%が M-1 として回収された。糞中には、静脈内及び経口投与後それぞれ、投与量の 44.2%及び 64.0%に相当する放射能が排泄されたが、ほとんどは親化合物のモリデュスタットであった（それぞれ投与量の 40.6%及び 60.6%相当）。糞中に認められた親化合物モリデュスタットの大部分は、胆汁排泄された M-1 が腸内細菌叢により加水分解されて産生されたもの、又は経口投与後に吸収されなかったモリデュスタットと考えられる。尿及び糞中代謝物組成には投与経路による質的な差異はなかった。モリデュスタットの M-1 へのグルクロン酸抱合（静脈内投与で投与量の約 60%、経口投与で約 80%）に加えて、未変化体での尿中排泄（静脈内投与で投与量の 23.5%、経口投与で 12.2%）がラットにおけるモリデュスタットの主要な消失経路であった。未処置及び BDC ラットの尿、糞及び胆汁中にはわずかに水酸化代謝物 M-4 が認められ、胆汁中では更にグリコシル化代謝物 M-3 もごくわずかに認められた。

イヌに[^{14}C]モリデュスタットを経口投与したとき、尿中には投与量の 77.7%に相当する放射能が排泄された。大部分（投与量の 69%相当）は N-グルクロン酸抱合体の M-1 であり、親化合物のモリデュスタットとして排泄されたのは投与量の 5%に過ぎなかった。微量代謝物として、モリデュスタットのグリコシル化代謝物 M-3（投与量の 1.5%相当）及び水酸化代謝物 M-4（投与量の 0.5%相当）も認められた。糞中には投与量の 14.5%に相当する放射能が排泄されたが、ほとんどがモリデュスタット（投与量の 11.4%相当）であり、少量の M-3（投与量の 1.2%相当）及び M-4（1.2%相当）も認められた。イヌに静脈内投与後の排泄経路及び代謝物組成は経口投与後と同様であった。糞中に排泄された親化合物がすべて M-1 の脱抱合によるものとすると、モリデュスタットのイヌにおける主要な消失経路は M-1 を産生する N-グルクロン酸抱合であった（約 77%～81%）。

健康成人男性に[^{14}C]モリデュスタットを経口投与したとき、ヒト尿中には、投与量の 91%に相当する放射能が排泄され、ほとんどは M-1（投与量の 85%相当）であった。一方、モリデュスタットとして尿中に排出されたのは投与量の 4%程度に過ぎなかった。また、酸化的代謝に引き続き、グルクロン酸抱合を受けた M-5 が、投与量の 0.41%相当とごくわずかに排泄された。ヒト糞中には、投与量の 6.27%に相当する放射能が排泄されたが、主構成成分はモリデュスタット（投与量の 5.85%相当）であった。糞中に排泄された親化合物がすべて M-1 の脱抱合によるものとすると、モリデュスタットのヒトにおける主要な消失経路は M-1 を産生する N-グルクロン酸抱合であった（約 91%）。

表 2.6.4.5- 7 ヒト及び動物における排泄物中の代謝物組成（%投与量）

	% of dose						
Species	**Intact Rat**		**BDC Rat**		**Dog**		**Human**
Route	**IV**	**PO**	**IV**	**PO**	**IV**	**PO**	**PO**
Dose (mg/kg)	**1**	**5**	**1**	**5**	**3**	**1.5**	**25[c]**
N	**5**	**5**	**5**	**4**	**3**	**3**	**4**
Sampling interval	**0-168 h[a]**	**0-168 h[b]**	**0-24 h**	**0-24 h**	**0-168 h[a]**	**0-168 h[b]**	**0-120 h**
Urine	45.8	34.1	59.0	35.4	82.0	77.7	90.7
Molidustat	23.5	12.2	12.5	3.43	8.22	4.90	4.12
M-1	20.3	20.7	45.7	31.5	65.7	69.1	85.2
M-3	-	-	-	-	3.55	1.49	-
M-4	0.862	0.0372	0.803	0.269	2.21	0.533	-
M-5	-	-	-	-	-	-	0.409
Feces	44.2	64.0	11.4	17.2	14.3	14.5	6.27
Molidustat	40.6	60.6	11.1	16.4	11.5	11.4	5.85
M-3	-	-	-	-	0.105	1.19	-
M-4	1.51	1.74	0.230	0.843	0.891	1.21	-
Bile	n.a.	n.a.	21.7	37.4	n.a.	n.a.	n.a.
Molidustat	n.a.	n.a.	1.11	1.21	n.a.	n.a.	n.a.
M-1	n.a.	n.a.	20.6	36.0	n.a.	n.a.	n.a.
M-3	n.a.	n.a.	0.00634	0.126	n.a.	n.a.	n.a.
M-4	n.a.	n.a.	-	0.133	n.a.	n.a.	n.a.

a: Urine 0-48 h, feces 0-24 h, later time intervals not investigated due to low radioactivity concentrtaions
b: Urine 0-24 h, feces 0-48 h, later time intervals not investigated due to low radioactivity concentrtaions
c: dose per body
BDC: bile-duct cannulation; IV: intravenous; M-X: metabolite X; N: number; n.a.: Not applicabe; PO: per os (oral)
Source: 4.2.2.4.11 PH-37951, 4.2.2.4.12 PH-38036, 4.2.2.4.13 PH-38218

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 ラット

参照項目： 4.2.2.5.1 A47089

未処置ラットに[^{14}C]モリデュスタットを静脈内投与したとき、放射能は糞中（44.2%）及び尿中（45.8%）にほぼ同じ割合で排泄された。経口投与後の放射能の尿中排泄率（34.1%）は、静脈内投与時と比較して低かったが、これは吸収が不完全であったためと考えられた（表 2.6.4.6- 1）。未処置ラットに [^{14}C]モリデュスタットを静脈内及び経口投与したとき、排泄は速やかであり投与初日において投与量の 87%を超える放射能が排泄された。

[^{14}C]モリデュスタットを BDC ラットに経口投与 24 時間後、放射能の 37.4%が胆汁中に、35.4%が尿中に排泄された。消化管を除く屍体中に認められた放射能 0.548%を合わせ、少なくとも 73.3%が吸収されたと考えられる。静脈内投与後の消化管及び糞中にはそれぞれ 0.618%及び 11.4%の放射能が認められたが、これらは消化管分泌によるものと考えられ、これらを考慮すると吸収率はさらに高くなる（表 2.6.4.6- 1）。

BDC ラットにおける投与 24 時間後の屍体中に残存する放射能は、投与量の 0.6%未満とごくわずかであった（表 2.6.4.6- 1）。

表 2.6.4.6- 1 [^{14}C]モリデュスタットをラットに投与後の放射能の排泄率（%投与量）

Route/ time [h]	Dose [mg/kg]	Urine	Bile	Feces	Gastrointestinal tract (GIT)	Residues[a]	Recovery
IV/168	1	45.8	n.d.	44.2	0.00462	0.0285	91.0
PO/168	5	34.1	n.d.	64.0	n.c.	0.0415	101
IV BDC/24	1	59.0	21.7	11.4	0.618	0.587	95.7
PO BDC/24	5	35.4	37.4	17.2	2.24	0.548	95.4

[a]Total body excluding gastrointestinal tract
BDC: bile-duct cannulation; IV: intravenous; n.c.: not calculated; n.d.: not defined; PO: per os (oral)
Source: 4.2.2.5.1 A47089

2.6.4.6.2 イヌ

参照項目： 4.2.2.2.3 PH-37979

[^{14}C]モリデュスタットをイヌに経口及び静脈内投与したときの放射能の尿糞中排泄率を表 2.6.4.6- 2 に示す。

イヌにおいて放射能は主に尿中に排泄された（平均で投与量の 77.7%及び 82.0%）。糞中には少量の放射能が排泄されたに過ぎなかった（平均で投与量の約 14%）。排泄は速やかであり、[^{14}C]モリデュスタットを経口及び静脈内投与後、それぞれ平均で投与量の 91%及び 94%を超える放射能が投与後 1 日で排泄された。

表 2.6.4.6- 2 [^{14}C]モリデュスタットをイヌに投与後の放射能の尿糞中排泄率（%投与量）

Route/time [h]	Dose [mg/kg]	Urine	Feces	Recovery
PO/168	1.5	77.7	14.5	95.9
IV/168	3	82.0	14.3	99.1

IV: intravenous; PO: per os (oral)
Source: 4.2.2.2.3 PH-37979

2.6.4.6.3 ヒト

参照項目： 4.2.2.4.13 PH-38218

[^{14}C]モリデュスタットを液剤として健康成人男性に 25mg の用量で経口投与後の放射能の尿糞中排泄率を表 2.6.4.6- 3 に示す。

ヒトにおいては、放射能は主に尿中（平均で投与量の 90.7%）に排泄され、糞中排泄の寄与はごくわずか（平均で投与量の約 6%）であった。

表 2.6.4.6- 3 [^{14}C]モリデュスタットをヒトに経口投与後の放射能の尿糞中排泄率（%投与量）

Route/time [h]	Dose [mg/subject]	Urine	Feces	Recovery
PO/120	25	90.7	6.27	97.0

PO: per os (oral)
Source: 4.2.2.4.13 PH-38218

2.6.4.6.4 乳汁中分泌

参照項目： 4.2.2.5.2 PH-40564

授乳中の Wistar ラット（分娩後 10 日目）に[^{14}C]モリデュスタットを 1mg/kg の用量で単回静脈内投与し、哺乳ラットに移行した放射能を測定することにより、モリデュスタット及び／又は代謝物の乳汁移行について検討した。

母動物に投与後 8 及び 24 時間後の哺乳ラット体内にはそれぞれ投与した放射能の 0.48～0.75%（授乳ラット 3 例）及び～0.13%（授乳ラット 2 例）に相当する放射能が認められ、少量のモリデュスタット及び／又は代謝物の乳汁移行が認められた。

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1　UGT 阻害薬の影響

参照項目： 4.2.2.6.1　PH-39762

ヒトにおいてモリデュスタットは UGT によるグルクロン酸抱合により主に消失する。ヒトマスバランス試験において、平均で投与量の 85.2%が N-グルクロン酸抱合体 M-1 として尿中に排泄され（2.6.4.5.2.2）、M-1 の産生には主に UGT1A1 が寄与しており、UGT1A9 もわずかに寄与していた（2.6.4.5.1.3）。そこで、様々な被験物質（抗癌剤、鎮痛薬、抗ウィルス薬、抗生物質、アゾール系抗真菌薬など約 170）がモリデュスタットのグルクロン酸抱合に及ぼす影響をプールしたヒト肝ミクロソームを用いて検討した。モリデュスタットの添加濃度は 5μM とし、IC_{50} 値を算出した。

モリデュスタットのグルクロン酸抱合を 1μM 未満の IC_{50} 値で強力に阻害したのは、エルロチニブ（IC_{50} 値は 0.13μM；以下、同様に記載）、ニロチニブ（0.17μM）、ソラフェニブ（0.30μM）、アタザナビル（0.42μM）、モンテルカスト（0.49μM）、サキナビル（0.50μM）、リトナビル（0.60μM）及びタクロリムス（0.70μM）であった。そのほか、IC_{50} 値が 1～10μM であったのは、上記以外のチロシンキナーゼ阻害薬（アキシチニブ、ダサチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、ラパチニブ）、HIV プロテアーゼ阻害薬（インジナビル、ロピナビル、ネルフィナビル）及びアトルバスタチン、ビリルビン、カルベジロール、シサプリド、クルクミン、シクロスポリン、ダイゼイン、ドンペリドン、エピガロカテキン、エベロリムス、フェブキソスタット、ゲニスチン、グリベンクラミド、イトラコナゾール、ケトコナゾール、ミフェプリストン（国内未承認）、ニフェジピン、ケルセチン、ラロキシフェン、リファンピシン、テルミサルタン、トラニラストであった。

各被験物質について得られたモリデュスタットのグルクロン酸抱合に対する IC_{50} 値を用い、被験物質の肝臓入り口における推定最高血液中濃度を種々の条件で算出し、被験物質を *in vivo* で併用したときのモリデュスタットの AUC の増加を範囲として予測した。その結果、よく処方される薬物であるアセトアミノフェン、イブプロフェン、アトルバスタチン、シンバスタチン及びワルファリンを含む約 130 の被験物質については、モリデュスタットの AUC の増加の指標となる AUCR は 1.25 未満であったことから、グルクロン酸抱合の阻害を介して薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。一方、臨床的に問題となる 25%を超える AUC 増加（AUCR＞1.25）が予測された被験物質として、ソラフェニブ（AUCR＝1.57～8.83）、エルロチニブ（AUCR＝3.86～8.41）及びニロチニブ（AUCR＝1.43～7.45）などのチロシンキナーゼ阻害薬で最も強い阻害が予測され、同様にリトナビル（AUCR＝1.33～7.43）、ロピナビル（AUCR＝1.15～5.84）及びインジナビル（AUCR＝2.01～5.59）などの HIV プロテアーゼ阻害薬も強い阻害が予測された。更に、これらの被験物質に加えて、トラニラストはモリデュスタットの AUC を 3.55～7.19 倍に増加させることが予測された。

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

モリデュスタットの膜透過性、並びにモリデュスタット及び M-1 の主要な薬物トランスポーターに対する基質特性及び阻害作用について検討した。

2.6.4.8.1　膜透過性の検討

参照項目：4.2.2.7.1　PH-40723

モリデュスタットの膜透過性について、Caco-2 細胞の単層培養膜を用いて検討した。モリデュスタット（ナトリウム塩を使用）の濃度を 0.2、2 及び 10μM としたとき、頂端膜側（A）から基底膜側（B）へのみかけの透過係数（P_{app} A-B）は 87.7±5.74nm/s（2μM）～104±15.7nm/s（0.2μM）であり、基底膜側（B）から頂端膜側（A）への P_{app} B-A はやや高く 127±26.2nm/s（2μM）～150±12.6nm/s（10μM）であった。排出比は 1.33～1.47 と 2 未満であったことから明確な能動輸送は認められなかった。しかしながら、BCRP 阻害薬 KO143 を添加した場合には、P_{app} B-A は 71.8±18.8（2μM）～77.4±9.05（10μM）に、排出比も 0.55～0.74 に顕著に減少したことから、モリデュスタットは BCRP の基質である可能性が示唆された（2.6.5.16 Table 16-1）。

また、種々の指標薬物との比較により、モリデュスタットは膜透過性の高い薬物に分類された。

2.6.4.8.2　排出トランスポーターに対する基質特性

参照項目：4.2.2.7.2　PH-40406
4.2.2.7.3　PH-40647
4.2.2.7.4　PH-38971
4.2.2.7.5　PH-38980
4.2.2.7.6　R-12001

排出トランスポーターである P-gp 及び BCRP に対するモリデュスタット及び M-1 の基質特性について検討した。野生型の LLC-PK1 及び MDCKⅡ細胞、並びにそれぞれトランスフェクションによりヒト P-gp 及び BCRP を高発現させた L-MDR1 及び MDCKⅡ-BCRP 細胞を用い、モリデュスタット及び M-1 の経細胞輸送の排出比を各トランスポーターに対する典型阻害薬の存在下及び非存在下で比較した。試験には陽性対照として各トランスポーターの典型基質を含めた。また、MRP2 に対する M-1 の基質特性について、MRP2 を発現する膜小胞を用いて検討した。

P-gp に対する基質特性

モリデュスタット（2μM）の L-MDR1 細胞における排出比は 4.80±0.315、LLC-PK1 細胞における排出比は 4.72±1.36 であり、両細胞間の排出比に差異はみられなかった。また、P-gp 阻害薬イベルメクチンを添加しても、L-MDR1 細胞における排出比に明らかな減少はみられなかった（4.2.2.7.2　PH-40406、2.6.5.16 Table 16-2）。

M-1 の 1～100μM における排出比にも、L-MDR1 細胞と LLC-PK1 細胞との間で差異はみられず、排出比は、L-MDR1 細胞にて 1.1±0.16～3.0、LLC-PK1 細胞においては 0.4±0.16～3.5±1.67 であった。また、イベルメクチン添加時の L-MDR1 細胞の排出比に減少は認められなかった（4.2.2.7.4　PH-38971、2.6.5.16 Table 16-9、Table 16-10）。

以上より、モリデュスタット及び M-1 は P-gp の基質ではなかった。

BCRP に対する基質特性

モリデュスタット 1～300μM の範囲において、MDCKⅡ-BCRP 細胞の排出比は MDCKⅡ細胞と比べて大きく、排出比は、MDCKⅡ-BCRP 細胞において 2.01±0.04～3.54±0.5、MDCKⅡ細胞において 0.51±0.05～0.73±0.05 であった。MDCKⅡ-BCRP 細胞における排出比（1μM：3.54±0.5）は、

BCRP の典型阻害薬である KO143 を添加すると 0.40±0.07 に低下した（4.2.2.7.2　PH-40647、2.6.5.16 Table 16-5）。

M-1 の 1～100μM の範囲における排出比は、MDCKⅡ-BCRP 細胞と MDCKⅡ細胞で同様であり、排出比の比（MDCKⅡ-BCRP／MDCKⅡ）は 0.6～1.0 であった（4.2.2.7.5　PH-38980、2.6.5.16 Table 16-13、Table 16-14）。

以上より、モリデュスタットは BCRP 基質であったが、M-1 は BCRP 基質ではなかった。モリデュスタットの膜透過性は高く、ヒトマスバランス試験においてモリデュスタット 25mg を経口投与後、吸収はほぼ完全であったことから（2.7.2.3.1.1）、消化管における BCRP による吸収の制限はほとんどないと考えられる。したがって、BCRP の阻害薬が併用された場合においても、消化管に存在する BCRP の阻害によって、臨床的に問題となるモリデュスタットの血漿中濃度の上昇が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

MRP2 に対する基質特性

M-1 について 10 及び 100μM の濃度で、MRP2 発現膜小胞を用いて 5、15 及び 30 分における取込み速度を ATP 又は AMP 存在下にて検討した。すべての条件において、取込み速度の比（ATP／AMP）は、2.00 未満であった（4.2.2.7.6　R-12001、2.6.5.16 Table 16-16）。

M-1 は MRP2 の基質ではなかった。

2.6.4.8.3　取込みトランスポーターに対する基質特性

参照項目：4.2.2.7.7　PH-40740
4.2.2.7.8　R-9677
4.2.2.7.9　R-9682
4.2.2.7.10 R-9680
4.2.2.7.11 R-9684

モリデュスタットは、主に肝臓においてグルクロン酸抱合されて M-1 となった後、腎臓より M-1 として排泄される。そこで、肝における取込みトランスポーター、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 に対するモリデュスタットの基質特性及び腎における取込みトランスポーター、OAT1、OAT3 及び OCT2 に対する M-1 の基質特性について、野生型又はベクターをトランスフェクションした HEK 細胞、及びヒトトランスポーターをトランスフェクションした HEK 細胞における取り込みを指標として検討した。

OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 に対するモリデュスタットの基質特性

OATP1B1-HEK 細胞におけるモリデュスタットの取込みを 0.1～10μM の濃度で検討したところ、取込み速度の比（OATP1B1-HEK/vector-HEK）は 2 未満（0.586～1.30）であった（4.2.2.7.7 PH-40740、2.6.5.16 Table 16-18）。OATP1B3-HEK 細胞を用いた[^{14}C]モリデュスタットの取込みを濃度 0.5 及び 5μM において検討したところ、取込み速度の比（OATP1B3-HEK/vector-HEK）はそれぞれ 1.2 及び 1.1 であった（4.2.2.7.8　R-9677、2.6.5.16 Table 16-19）。OCT1-HEK 細胞を用いた[^{14}C]モリデュスタットの取込みを[^{14}C]モリデュスタット濃度 0.5 及び 5μM において検討したところ、取込み速度の比（OCT1-HEK/vector-HEK）はいずれも 2 未満（0.83 及び 0.89）であった（4.2.2.7.9　R-9682、2.6.5.16 Table 16-21）。

以上、OATP1B1、OATP1B3 又は OCT1 をトランスフェクトした HEK 細胞におけるモリデュスタットの取込みは、ベクターをトランスフェクトした対照細胞と明らかな差は認められず、トランスポーターによる能動的な取込みはみられなかった。モリデュスタットは OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の基質ではなかった。

OAT1、OAT3 及び OCT2 に対する M-1 の基質特性

OAT1-HEK 細胞における[^{14}C]M-1 の取込みを、10 及び 100μM の濃度において検討したところ、取込み速度の比（OAT1-HEK/vector-HEK）はいずれの濃度においても 2 未満（1.02 及び 0.95）であった（4.2.2.7.10　R-9680、2.6.5.16 Table 16-25）。同様に、OAT3-HEK 細胞における[^{14}C]M-1 の取込みを、10 及び 100μM の濃度において検討したところ、高濃度での取込み速度の比（OAT3-HEK/vector-HEK）は 2.52 であった。これは、OAT3 の典型基質エストロン 3-硫酸（ES）又は典型阻害薬プロベネシドの存在下では、それぞれ約 1.1 まで低下した。ES の OAT3-HEK 細胞における取込み速度の比（OAT3-HEK/vector-HEK）の 18（陽性対照）と比べると M-1 の取込み速度の比は低く、M-1 は OAT3 に対して親和性の低い基質であると考えられる（4.2.2.7.10　R-9680、2.6.5.16 Table 16-25）。OCT2-HEK 細胞を用いた M-1 の取込みを、10 及び 100μM の[^{14}C]M-1 濃度において検討したところ、取込み速度の比（OCT2-HEK/vector-HEK）はそれぞれ 2 未満（1.01 及び 0.84）であった（4.2.2.7.11　R-9684、2.6.5.16 Table 16-23）。

以上より、M-1 は OAT1 及び OCT2 の基質ではなかった。一方、M-1 は OAT3 に対して親和性の低い基質であったが、ヒトにおける M-1 の腎クリアランスは、糸球体ろ過速度の範囲内であったことから（2.7.2.3.1.3）、M-1 の尿中排泄における OAT3 の寄与は小さいと考えられ、OAT3 の阻害薬を併用しても臨床的に問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

2.6.4.8.4　　排出トランスポーターに対する阻害作用

参照項目：4.2.2.7.2　PH-40406
4.2.2.7.4　PH-38971
4.2.2.7.12 PH-37357
4.2.2.7.5　PH-38980
4.2.2.7.13 R-9692
4.2.2.7.14 R-11081
4.2.2.7.6　R-12001

排出トランスポーターである P-gp、BCRP、MATE1 及び MATE2K に対するモリデュスタット及び M-1 の阻害作用について検討した。野生型の LLC-PK1、MDCKⅡ及び HEK 細胞、並びにトランスフェクションによりヒトトランスポーターを発現させた L-MDR1、MDCKⅡ-BCRP、MATE1-HEK 及び MATE2K-HEK 細胞を用い、それぞれ典型基質薬の経細胞輸送又は取込みに対する IC_{50} 値を算出した。また、BSEP に対するモリデュスタット及び M-1 の阻害作用については、サンドイッチ培養したヒト肝細胞における典型基質薬の胆汁排泄に対する IC_{50} 値を算出した。更に、MRP2 に対する M-1 の阻害作用については、ヒト MRP2 を発現する膜小胞における典型基質薬の取込みに対する IC_{50} 値を算出した。モリデュスタット及び M-1 の排出トランスポーターに対する阻害作用を表 2.6.4.8- 1 に示す。

表 2.6.4.8- 1　モリデュスタット及び M-1 の排出トランスポーターに対する阻害作用

		Inhibitor	
		Molidustat	M-1
Transporter	Probe substrate	IC_{50} [μM]	
P-gp	Digoxin	>300	>1200
P-gp	Dipyridamole	>300	>1200
BCRP	Topotecan	6.39	>1200
BCRP	PhIP	20.3	-
MATE1	Metformin	>500	150-200
MATE2K	Metformin	>500	150-200
BSEP	TCA	>300	>1300
MRP2	CDCF	-	>1300

BCRP: breast cancer resistance protein; BSEP: bile salt export pump; IC_{50}: concentration required for 50% inhibition; CDCF: 5(6)-carboxy-2'7'-dichlorofluorescein; MATE: multidrug and toxin extrusion; MRP2: multidrug resistance-associated protein 2; P-gp: P-glycoprotein; TCA: taurocholic acid;
PhIP: 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine; M-1: metabolite 1
- : not tested
Source: 4.2.2.7.2 PH-40406, 4.2.2.7.4 PH-38971, 4.2.2.7.12 PH-37357, 4.2.2.7.5 PH-38980, 4.2.2.7.13 R-9692, 4.2.2.7.14 R-11081, 4.2.2.7.6 R-12001

P-gp に対する阻害作用

モリデュスタット 0.1～300μM の濃度範囲において、L-MDR1 細胞における典型基質の排出に対する影響を検討したところ、ジピリダモールに対しては最高濃度の 300μM でやや阻害がみられたものの、ジゴキシンの排出に対しての阻害作用は最高濃度の 300μM までみられなかった。いずれも IC_{50} 値は＞300μM であった（4.2.2.7.2　PH-40406、2.6.5.16 Table 16-3、Table 16-4）。

M-1 は 1.2～1200μM の濃度範囲において、L-MDR1 細胞におけるジピリダモール及びジゴキシンの排出に対して最高濃度の 1200μM においても顕著な阻害を示さず、いずれも IC_{50} 値は＞1200μM であった（4.2.2.7.4　PH-38971、2.6.5.16 Table 16-11、Table 16-12）。

以上より、モリデュスタット及び M-1 による P-gp の阻害作用を介して薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

BCRP に対する阻害作用

モリデュスタット 0.1～100μM の濃度範囲において、MDCKⅡ-BCRP 細胞におけるトポテカン及び PhIP（2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine）の排出に対する影響を検討したところ、両基質薬物の排出に対して阻害作用が認められ IC_{50} 値はトポテカンに対して 6.39μM、PhIP に対して 20.3μM であった（4.2.2.7.12　PH-37357、2.6.5.16 Table 16-7、Table 16-8）。モリデュスタットの BCRP に対する IC_{50} 値の、臨床最高用量の 200mg における消化管管腔内での予測最高濃度〔200mg/250mL＝0.8mg/mL（約 2500μM）〕に対する比は 390 であった。臨床薬物相互作用試験において、モリデュスタット 150mg を BCRP の典型基質薬ロスバスタチンと同時に投与したとき、ロスバスタチンの C_{max} は 30%増加、AUC は 11%増加にとどまったことから、モリデュスタットによる BCRP 阻害は *in vivo* において基質薬の全身曝露に顕著な影響を及ぼさないことが示された（2.7.2.3.3.1.2）。

M-1 1.2～1200μM の濃度範囲において、MDCKⅡ-BCRP 細胞におけるトポテカンの排出に対する影響を検討したところ、明らかな阻害作用は認められず IC_{50} 値は＞1200μM であった。（4.2.2.7.5　PH-38980、2.6.5.16 Table 16-14）。

以上より、モリデュスタットは *in vitro* 及び *in vivo* で BCRP の阻害薬であった。一方、*in vitro* において M-1 に明らかな BCRP に対する阻害作用はみられなかった。

MATE1 及び MATE2K に対する阻害作用

モリデュスタット 50 及び 500μM の濃度で、MATE1-HEK 及び MATE2K-HEK 細胞におけるメトホルミンの取込みに対する影響を検討したところ、明らかな阻害作用は認められず IC_{50} 値は＞500μM であった（4.2.2.7.13　R-9692、2.6.5.16 Table 16-28、Table 16-30）。

M-1 130 及び 1300μM の濃度で、MATE1-HEK 及び MATE2K-HEK 細胞におけるメトホルミンの取込みに対する影響を検討したところ、M-1 130μM の濃度では、メトホルミンの MATE1 による取込みを 40.2±9.8%阻害し、MATE2K による取込みを 38.0±5.0%阻害した。1300μM では、それぞれ 50%を超える阻害を示し、メトホルミンの MATE1 による取込みを 91.0±1.2%、MATE2K による取込みを 89.8±3.3%阻害した。MATE1 及び MATE2K、いずれの場合にも M-1 の IC_{50} 値は 150～200μM と推測された（4.2.2.7.13　R-9692、2.6.5.16 Table 16-29、Table 16-31）。

MATE1 及び MATE2K に対する M-1 の IC_{50} 値として保守的な 150μM を用い、患者における血漿中非結合型 M-1 濃度と比較する。中等度腎障害患者に想定開始用量 25mg 又は 50mg、75mg 及び最高用量 200mg のモリデュスタットを反復経口投与したときの M-1 の予測 $C_{max,u}$[c)] はそれぞれ 1.74μM 又は 3.47μM、5.21μM 及び 13.9μM であり、それぞれ IC_{50} 値に対して 0.012 又は 0.023、0.035 及び 0.093 であった。また、日本人の血液透析患者に 25mg、想定開始用量 75mg 及び最高用量 200mg のモリデュスタットを反復経口投与したときに観察された M-1 の非結合型濃度の最高値[b)] はそれぞれ 5.17μM、10.9μM 及び 34.6μM であり、これらは IC_{50} 値に対して 0.035、0.073 及び 0.231 であった。

以上、モリデュスタットについては MATE１又は MATE2K の阻害作用を介して臨床的に問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。M-1 については、MATE1 及び MATE2K に対する阻害作用が認められたが、臨床試験で観察された M-1 の非結合型血漿中濃度の最高値は IC_{50} 値に対して最大（200mg 投与時）でも 0.231 であり、これは、メトホルミンの AUC を約 40%～50%増加[4,5,6)] させる、MATE の典型阻害薬シメチジンの MATE2K に対する $C_{max,u}/IC_{50}$ の 1.2～2.3、MATE1 に対する 3.3～6.3[7)]、並びにピリメタミンの MATE2K に対する $C_{max,u}/IC_{50}$ の 2.99、MATE1 に対する 2.27[8)] よりもかなり低かった。したがって、メトホルミンのような MATE 典型基質薬に及ぼす M-1 の *in vivo* における影響は、典型阻害薬と比べてかなり小さいと推測され、M-1 の MATE に対する阻害作用により臨床的に問題となる薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

BSEP に対する阻害作用

モリデュスタット 0.3～300μM 及び M-1 3～1300μM の濃度範囲において、サンドイッチ培養したヒト肝細胞におけるタウロコール酸の胆汁排出に対する影響を検討したところ、いずれの被験物質もタウロコール酸の胆汁排泄に対して最高濃度まで影響を示さなかった（4.2.2.7.14 R-11081、2.6.5.16 Table 16-32）。

---

c）試験 14627（5.3.3.2.1　PH-38217）において外国人中等度腎障害患者（eGFR：30～59mL/min/1.73m^2）にモリデュスタットを 5 又は 75mg 反復経口投与したときの平均 C_{max}/D から当該患者における各用量の C_{max} を求め、これに f_u を乗じて算出

MRP2 に対する阻害作用

M-1 について 130 及び 1300 μM の濃度で、MRP2 発現膜小胞における CDCF (5(6)-carboxy-2'7'-dichlorofluorescein) の取込み速度を ATP 又は AMP 存在下にて検討した。最高濃度の 1300μM においても CDCF の取込み速度に明らかな阻害作用は認められなかった (4.2.2.7.6 R-12001、2.6.5.16 Table 16-17)。

2.6.4.8.5 取込みトランスポーターに対する阻害作用

参照項目： 4.2.2.7.8 R-9677
4.2.2.7.9 R-9682
4.2.2.7.10 R-9680
4.2.2.7.11 R-9684

肝臓における取込みトランスポーター、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 並びに腎臓における取込みトランスポーター、OAT1、OAT3 及び OCT2 に対するモリデュスタット及び M-1 の阻害作用について、トランスフェクションによりヒトトランスポーターを発現させた、OATP1B1-HEK、OATP1B3-HEK 及び OCT1-HEK 細胞、並びに OAT1-HEK、OAT3-HEK 及び OCT2-HEK 細胞を用い、それぞれ典型基質薬の取込みに対する IC_{50} 値を算出した。モリデュスタット及び M-1 の取込みトランスポーターに対する阻害作用を表 2.6.4.8- 2 に示す。

表 2.6.4.8- 2 モリデュスタット及び M-1 の取込みトランスポーターに対する阻害作用

		Inhibitor	
		Molidustat	M-1
Transporter	Probe substrate	IC_{50} [μM]	
OATP1B1	ES	>500	>1300
OATP1B3	BSP	>500	>1300
OCT1	MPP	>500	>1300
OAT1	PAH	>500	>1300
OAT3	ES	16	1579
OCT2	MPP	>500	>1300

BSP: sulfobromophthalein; ES: estrone 3-sulfate; IC_{50}: concentration required for 50% inhibition; MPP: 1-methyl-4-phenylpyridinum; OAT: organic anion transporter; OATP: organic anion-transporting polypeptide; OCT: organic cation transporter; PAH: p-aminohippuric acid; M-1: metabolite 1
Source: 4.2.2.7.8 R-9677, 4.2.2.7.9 R-9682, 4.2.2.7.10 R-9680, 4.2.2.7.11 R-9684

OATP1B1 及び OATP1B3 に対する阻害作用

モリデュスタット (50 及び 500μM) 及び M-1 (130 及び 1300μM) において、OATP1B1-HEK 細胞における[^{3}H]ES の取込み及び OATP1B3-HEK 細胞における[^{3}H]BSP (sulfobromophthalein) の取込みに対する影響を検討したところ、いずれも明らかな阻害作用はみられず、IC_{50} 値はモリデュスタットで＞500μM、M-1 で＞1300μM であった (4.2.2.7.8 R-9677、2.6.5.16 Table 16-20)。

したがって、モリデュスタット投与後に OATP の阻害作用を介する薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

OCT1 に対する阻害作用

モリデュスタット (50 及び 500μM) 及び M-1 (130 及び 1300μM) において、OCT1-HEK 細胞における[^{3}H]MPP (1-methyl-4-phenylpyridinum) の取込みに対する影響を検討したところ、いずれも明らかな阻害作用はみられず、IC_{50} 値はモリデュスタットで＞500μM、M-1 で＞1300μM であった (4.2.2.7.9 R-9682、2.6.5.16 Table 16-22)。

したがって、モリデュスタット投与後に OCT1 の阻害作用を介する薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

OAT1 及び OAT3 に対する阻害作用

モリデュスタット（50 及び 500μM）及び M-1（130 及び 1300μM）において、OAT1-HEK 細胞におけるパラアミノ馬尿酸（PAH）の取込みに対する影響を検討したところ、いずれも最高濃度において 50%以上の阻害作用は認められず、IC_{50} 値はそれぞれ＞500μM 及び M-1 で＞1300μM と予測された（4.2.2.7.10　R-9680、2.6.5.16 Table 16-26）。

モリデュスタット投与後に OAT1 の阻害作用を介する薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

一方、モリデュスタット（0.3～500μM）及び M-1（30～3000μM）共に OAT3-HEK 細胞における[^{3}H]ES の取込みに対して阻害作用が認められ、IC_{50} 値はそれぞれ 16±4μM 及び 1579±889μM であった（4.2.2.7.10　R-9680、2.6.5.16 Table 16-27）。モリデュスタットの OAT3 に対する IC_{50} 値の臨床最高用量 200mg 経口投与時の予測 $C_{max,u}$[a)]に対する比は 0.12 と低く、M-1 の OAT3 に対する IC_{50} 値の臨床最高用量 200mg を血液透析患者に反復経口投与後に観察された非結合型 M-1 濃度の最高値[b)]に対する比は 0.022 と極めて低かった（4.2.2.7.10 R-9680）。これらの比は、OAT3 の典型阻害薬プロベネシドの 7.1[9,10,11]と比べると極めて小さかったことからも、モリデュスタット投与後に OAT3 阻害作用を介して臨床的に問題となる薬物動態学的薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

OCT2 に対する阻害作用

モリデュスタット（50 及び 500μM）及び M-1（130 及び 1300μM）において、OCT2-HEK 細胞における[^{3}H]MPP の取込みに対する影響を検討したところ、いずれも明らかな阻害作用はみられず、IC_{50} 値はモリデュスタットで＞500μM、M-1 で＞1300μM であった（4.2.2.7.11　R-9684、2.6.5.16 Table 16-24）。

したがって、モリデュスタット投与後に OCT2 の阻害作用を介する薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

2.6.4.9　考察及び結論

ラット、イヌ及びサルを用いてモリデュスタットの *in vivo* 薬物動態を検討した。モリデュスタットの薬物動態に明らかな種差は認められず、すべての動物種において、血漿及び血液クリアランスは低～中等度、分布容積は中等度であった。ラットにおいては代謝物として相当量のグルクロン酸抱合体が胆汁中に排泄されることから、ラットにおける薬物動態パラメータは腸肝循環の影響を含む可能性がある。

モリデュスタットの血漿中濃度は、投与経路によらずすべての動物種で二相性の消失パターンを示し、同じ時間帯で比較するとすべての動物種で消失半減期は類似していた。低用量では一部の試験で第二相の確認ができなかったものの、第一相の消失半減期は 0.3～1.2 時間と短く、第二相の消失半減期は 2.2～6.5 時間とより長かった。

ラット及びイヌにモリデュスタットを単回経口投与したとき、全身曝露は用量比例性をやや上回って増加する傾向が認められた。ラット及びイヌ反復投与毒性試験において、ラットでは全身曝露に反復投与の影響はみられなかったが、イヌでは減少傾向が認められた。全身曝露に性差は認められなかった。

モリデュスタットの血漿タンパク結合率は低く、48.6%（マウス）～79.3%（ヒト）の範囲であり、種差が認められた。主要代謝物 M-1 のタンパク結合率も低く、ヒトで 16.8%、イヌで 9.7%であった。

ラットに単回経口投与後、[^{14}C]モリデュスタットは速やかに吸収され、放射能は全身の臓器・組織に広く速やかに分布した後、速やかに消失した。一部の臓器では、内部での不均一な分布が認められ、例えば、腎臓では、腎乳頭及び髄質周辺部の濃度が高く、副腎では皮質の濃度が高かった。臓器・組織における放射能の不可逆的な結合及びメラニン含有組織に対する特異的親和性は認められなかった。実質的に血液脳関門通過性はみられなかった。すべての臓器・組織におけるみかけの消失半減期は 6 時間未満と短かったことから反復投与による臓器・組織分布試験は実施しなかった。妊娠ラットにおいて、放射能の胎盤通過性は中等度であった。

In vitro における検討で、ヒトを含むすべての動物種における主代謝経路は、M-1 を産生する未変化体の N-グルクロン酸抱合であり、酸化的代謝の寄与はほとんどみられなかった。ヒトにおける M-1 の産生には UGT1A1 が主に寄与しており、UGT1A9 の寄与はわずかと考えられた。したがって、UGT1A1 阻害薬もしくは UGT1A1 及び UGT1A9 両分子種の阻害薬との併用により、モリデュスタットの臨床的に問題となる被相互作用が引き起こされる可能性がある。臨床薬物相互作用試験において、強力な UGT1A1 阻害薬であるアタザナビルの併用により、モリデュスタットの AUC は約 2 倍に増加した（2.7.2.2.5.5）。更に、*in vitro* 試験成績に基づくと、モリデュスタットのグルクロン酸抱合は、チロシンキナーゼ阻害薬及び HIV プロテアーゼ阻害薬、加えてトラニラストによって特に強く阻害された。これらの薬物を併用すると、臨床的に問題となるモリデュスタットの被薬物相互作用が引き起こされる可能性がある。

In vitro における検討より、モリデュスタットの CYP1A1 に対する強い阻害作用（IC_{50} 値は 5.0μM）が認められた。消失における寄与が 0.45 以上の CYP1A1 基質を併用するとモリデュスタットの CYP1A1 阻害作用を介して臨床的に問題となる薬物相互作用が引き起こされる可能性がある。一方、M-1 は CYP2D6 に対して軽度阻害作用を示したが、推定 K_i 値を非結合型濃度基準に補正すると 295μM であり、モリデュスタットを血液透析患者に 200mg 反復経口投与後に観察された M-1 の非結合型濃度の最高値 34.6μM はこれに対して十分低かった（0.12）。しかしながら、「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[12)]」での R 値を算出するとカットオフ基準を上回ったことから、MSPK モデルにより AUCR 値を算出した。その結果、AUCR 値は 1.25 を下回った。以上より、CYP1A1 を除くと、モリデュスタット及び M-1 は CYP 及び UGT 阻害作用、CYP 誘導作用を介して、相互作用薬として臨床的に問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

マウス、ラット、イヌ及びヒトに[^{14}C]モリデュスタットを単回経口投与後、血漿中における放射能はほとんど未変化体及び M-1 で構成されており、未変化体は総放射能 AUC の 17%（ヒト）～41%（ラット）、M-1 は 58%（ラット）～80%（ヒト）の範囲であった。

ラットに経口投与後 24 時間以内に、投与した放射能の 34%が尿中に排泄され、うち、12%相当は未変化体、21%相当は M-1 であった。一方、糞中には投与後 48 時間以内に放射能の 64%が排泄され、ほとんどが未変化体（61%）であった。BDC ラットに静脈内及び経口投与後 24 時間以内に、胆汁中に排泄された放射能のほとんどすべてはグルクロン酸抱合体（投与量の 21%～36%）であり、未変化体として胆汁中に排泄された放射能は投与量の約 1%であった。更に、投与した放射能の 11%が直接の消化管分泌によって排泄された。

イヌに経口投与後、投与した放射能の大部分は M-1 として尿中に排泄され（69%）、未変化体として尿中排泄されたのは投与した放射能のわずか 5%であった。糞中に排泄された放射能（投与量の 14.5%）の主要構成成分は未変化体であり投与した放射能の 6%が排泄された。

ヒトに経口投与後、投与した放射能は主に尿中に排泄され、ほとんどは M-1 であり投与した放射能の 85%を占め、未変化体として尿中に排泄されたのは投与した放射能のわずか 4%であった。糞中放射能の主成分は未変化体であり、投与した放射能の 6%に相当した。

まとめると、ラット、イヌ及びヒトの *in vivo* 試験で認められた主要な代謝経路は M-1 を産生する N-グルクロン酸抱合であった。糞中に認められた親化合物は主に胆汁排泄された M-1 が腸内細菌により加水分解を受けたものに由来すると考えられる。ラットでは主要な排泄経路は糞中であり、BDC ラットに経口投与後の胆汁中には、投与量の 36.0%が M-1 として排泄されたことから、消化管内で脱抱合された後、親化合物として再吸収される可能性がある。一方で、イヌ及びヒトの主要な排泄経路はラットとは異なって尿中であり、投与量のそれぞれ約 70%及び 85%に相当する M-1 が尿中に排泄された。また、血漿中濃度推移には腸肝循環の可能性を示唆するような二次ピークは認められていないことから、ヒトにおいては腸肝循環の意義は低いと考え、ラットにおける腸肝循環を検討しなかった。

ラットにおいて、モリデュスタット及び／又は代謝物の乳汁移行が少量認められた。

モリデュスタットは BCRP の基質であった。しかしながら、ヒトにおいてモリデュスタットの吸収はほぼ完全であったことから（2.7.2.3.1.1）、消化管における BCRP による吸収の制限はほとんどないと考えられる。したがって、BCRP 阻害薬が併用された場合においても、消化管に存在する BCRP の阻害を介して、臨床的に問題となるモリデュスタットの被相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。モリデュスタットは P-gp の基質ではなく、M-1 は P-gp 及び BCRP の基質ではなかった。

モリデュスタットは肝の取込みトランスポーターである OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の基質ではなかった。したがって、モリデュスタットを肝取込みトランスポーターに対する阻害薬と併用しても、臨床的に問題となるモリデュスタットの被相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

M-1 の腎取込みトランスポーターである OAT3 に対する基質親和性は低かった。また、M-1 はそのほかの腎取込みトランスポーター、OAT1 及び OCT2 の基質ではなかった。臨床試験において M-1 の腎排泄に対して能動輸送の寄与は小さいことが示されたことから（2.7.2.3.1.3）、M-1 の腎排泄における腎取込み及び排泄トランスポーターの寄与及び阻害作用の臨床的意義は小さいと考えられる。

モリデュスタットは *in vitro* で BCRP に対する阻害作用を示し、IC_{50} 値は 6.39μM であった。臨床薬物相互作用試験において、モリデュスタット 150mg を BCRP の典型基質薬ロスバスタチンと同時に投与したとき、ロスバスタチンの C_{max} は 30%増加、AUC は 11%増加にとどまったことから、モリデュスタットによる BCRP 阻害は *in vivo* において基質薬の全身曝露に顕著な影響を及ぼさないことが示された（2.7.2.3.3.1.2）。また、モリデュスタットは腎取込みトランスポーターである OAT3 に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値は 16μM であった。この IC_{50} 値は、臨床最高用量 200mg 投与時の予測 $C_{max,u}$[a)]に対して 0.12 と低かった。したがって、OAT3 に対するモリデュスタットの阻害作用を介して臨床的に問題となる薬物動態学的薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。また、モリデュスタットは P-gp、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、BSEP、OAT1、OCT2、MATE1 及び MATE2K に対しては *in vitro* で阻害作用を示さなかったことから、これらのトランスポーターに対するモリデュスタットの阻害を介して薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

M-1 は OAT3 に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値は 1579μM であった。この IC_{50} 値は血液透析患者にモリデュスタットの臨床最高用量 200mg を反復経口投与したときに観察された非結合型濃度の最高値[b)]に対して 0.022 と極めて低かった。したがって、M-1 の OAT3 阻害作用を介して臨床的に

問題となる薬物動態学的薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。また、M-1 は MATE1 及び MATE2K に対する阻害作用を示し、IC_{50} 値は 150～200μM と推測された。MATE1 及び MATE2K に対する M-1 の IC_{50} 値として保守的な 150μM を用い、患者における血漿中非結合型 M-1 濃度と比較したところ、M-1 の血漿中非結合型濃度／IC_{50} 値は最大で 0.231 であった。すなわち、日本人の血液透析患者に 25mg、75mg 及び 200mg を反復経口投与したときに観察された非結合型 M-1 濃度の最高値[b)]はそれぞれ 5.17μM、10.9μM 及び 34.6μM であり、IC_{50} 値に対して 0.035、0.073 及び 0.231 となった、これらの比は「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン[12)]」で臨床薬物相互作用試験の実施を考慮するとされる 0.02 以上である。しかしながら、MATE の *in vivo* 典型基質であるメトホルミンは、透析／重度腎障害患者（eGFR 30mL/min/1.73m^2 未満）では投与禁忌とされており、臨床で併用されることはない。また、外国人の中等度腎障害患者（eGFR 30mL/min/1.73m^2 以上 60mL/min/1.73m^2 未満）に 25mg、50mg、75mg 及び 200mg を反復経口投与したときの M-1 の予測 $C_{max,u}$[c)]はそれぞれ 1.74μM、3.47μM、5.21μM 及び 13.88μM であり、それぞれ IC_{50} 値に対して 0.012、0.023、0.035 及び 0.093 と、75mg 以上の用量においては 0.02 を超えた。しかしながら、モリデュスタットは低用量から漸増又は漸減により用量調節されること、更に、メトホルミンや主に腎排泄を受ける安全域の狭い薬剤は腎機能低下患者では減量を含む厳密なモニタリングなど慎重な投与が求められていることを考慮すると、MATE 基質薬が併用されても、臨床使用時に問題となる可能性は低いと考えられる。更に、M-1 の非結合型血漿中濃度／IC_{50} は、メトホルミンの AUC を約 40%～50%増加[4,5,6)]させる、MATE の典型阻害薬シメチジンの MATE2K に対する $C_{max,u}/IC_{50}$ の 1.2～2.3、MATE1 に対する 3.3～6.3[7)]、並びにピリメタミンの MATE2K に対する $C_{max,u}/IC_{50}$ の 2.99、MATE1 に対する 2.27[8)]よりもかなり低かった。したがって、メトホルミンのような MATE 典型基質薬に及ぼす M-1 の *in vivo* における影響は、典型阻害薬と比べてかなり小さいと推測され、M-1 の MATE に対する阻害作用により臨床的に問題となる薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられる。

M-1 は P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OAT1、OCT2、BSEP 及び MRP2 に対する阻害作用を *in vitro* で示さなかった。

2.6.4.10　図表

図表は本文中の適切な位置に配置した。

引用文献一覧

1) FDA, Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. 2001

2) EMA, Guideline on Bioanalytical Method Validation, 2011

3) Guillemette C et al., Clin Pharmacol Ther 2014:96(3):324-339 (4.3.18)

4) Somogyi A et al., Br J Clin Pharmacol 1987:23:545-551 (4.3.24)

5) Wang Z et al., Pharmacogenet Genomics 2008:18:637-645 (4.3.25)

6) Kusuhara H et al., Clin Pharmacol Ther 2011:89:837-844 (4.3.26)

7) Elsby R et al., Pharmacol Res Perspect 2017:5(5):1-13 (4.3.23)

8) Kikuchi R et al., J Pharm Sci 2013:102(12):4426-4432 (4.3.27)

9) Emanuelsson BM et al., Eur J Clin Pharmacol 1987:32:395-401 (4.3.19)

10) Maeda K et al., Eur J Pharm Sci 2014:59:94-103 (4.3.20)

11) Stocker SL et al., Clin Pharmacokinet 2008:47(2):111-118 (4.3.21)

12) 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、平成 30 年 7 月 23 日、薬生薬審発 0723 第 4 号

2.6.5.1 薬物動態試験： 一覧表

All studies were performed at the Department of DMPK, Bayer AG, Germany unless otherwise mentioned

Test article: Molidustat

Table 1-1: Overview on pharmacokinetic studies

Type of study	Species / strain	Route of administr. / method	Admin. compound	Report no.	Location
Analytical methods					
Synthesis	n.a. / n.a.	n.a. / n.a.	[^{14}C]molidustat	A 51735	4.2.2.1.1
Synthesis	n.a. / n.a.	n.a. / n.a.	[$^{2}H_{8}$]molidustat	PH-36266	4.2.2.1.3
Analytical Methods	n.a. / n.a.	n.a. / n.a.	Molidustat	PH-40869	4.2.2.1.2
Absorption / Pharmacokinetics					
Pharmacokinetics	Rat / Wistar	i.v., p.o. / LSC, LC-MS/MS	Molidustat [^{14}C]molidustat	A47088	4.2.2.2.1
Pharmacokinetics	Dog / Beagle	i.v., p.o. / LC-MS/MS	Molidustat	A 53544	4.2.2.2.2
Pharmacokinetics	Dog / Beagle	i.v., p.o. / LSC, LC-MS/MS	[^{14}C]molidustat	PH-37979	4.2.2.2.3
Pharmacokinetics	Monkey / Cynomolgus	i.v., p.o. / LC-MS/MS	Molidustat	A53545	4.2.2.2.4
Distribution					
Single dose tissue distribution	Rat / Wistar Rat / Long Evans	i.v., p.o. / WBA (quantitatively / qualitatively)	[^{14}C]molidustat	PH-38474	4.2.2.3.1
Placental transfer	Rat / Wistar	p.o. / WBA (quantitatively)	[^{14}C]BAY 1053048 (Sodium salt of [^{14}C]molidustat)	PH-38751	4.2.2.3.2

Test article: Molidustat

Table 1-1: Overview on pharmacokinetic studies (continued)

Type of study	Species / strain	Route of administr. / method	Admin. compound	Report no.	Location
Distribution					
Plasma protein binding / Binding to purified human plasma / Partitioning between blood cells and plasma	Mouse / CD-1 Rat / Wistar Rabbit / CHBB Dog / Beagle Monkey / Cynomolgus Human / Caucasian Purified human protein	*in vitro* / LSC	[^{14}C]molidustat	A47047	4.2.2.3.3
Plasma protein binding / Binding to human liver microsomes (HLMs)	Cat / European domestic HLMs	*in vitro* / LSC	[^{14}C]molidustat	PH-38787	4.2.2.3.4
Plasma protein binding / Binding to human liver microsomes (HLMs)	Dog / Beagle Human / Caucasian HLMs	*in vitro* / LSC	[^{14}C]M-1 (BAY 1163348)	PH-39114	4.2.2.3.5
Metabolism					
Metabolism *in vitro*	Mouse / CD-1, NMRI Rat / Wistar Rabbit / Himalaya Dog / Beagle Monkey / Cynomolgus Human / n.a.	*in vitro* / liver microsomes, hepatocytes (Rat, Dog, Human), HPLC-LSC, HPLC-MS, HPLC-HRMS/MS, NMR	[^{14}C]molidustat	PH-39293	4.2.2.4.1
UGT isoforms involved	Human / n.a.	*in vitro* / recombinant UGT isoforms, human liver microsomes, human intestinal microsomes, human renal microsomes, HPLC-LSC	[^{14}C]molidustat	A51871	4.2.2.4.2
Enzyme inhibition CYP	Human / n.a.	*in vitro* / human liver microsomes, recombinant CYP isoforms, HPLC-MS/MS	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat)	A51956	4.2.2.4.3

Test article: Molidustat

Table 1-1: Overview on pharmacokinetic studies (continued)

Type of study	Species / strain	Route of administr. / method	Admin. compound	Report no.	Location
Metabolism (continued)					
Enzyme inhibition CYP	Human / n.a.	*in vitro* / human liver microsomes, recombinant CYP isoforms, HPLC-MS/MS	M-1 (BAY 1163348)	PH-38686	4.2.2.4.4
Enzyme inhibition CYP	Human / n.a.	*in vitro* / human liver microsomes, HPLC-MS/MS	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat), M-1 (BAY 1163348)	PH-40765	4.2.2.4.5
Enzyme inhibition UGT	Human / n.a.	*in vitro* / human liver microsomes, HPLC-MS/MS	Molidustat	A51875	4.2.2.4.6
Enzyme inhibition UGT	Human / n.a.	*in vitro* / human liver microsomes, HPLC-MS/MS	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat), M-1 (BAY 1163348)	PH-38919	4.2.2.4.7
Enzyme induction CYP	Human / n.a.	*in vitro* / human hepatocytes, HPLC-MS/MS	Molidustat	A52830	4.2.2.4.8
Enzyme induction CYP	Human / n.a.	*in vitro* / human hepatocytes, qRT-PCR, HPLC-MS/MS	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat)	PH-39750	4.2.2.4.9
Inhibitory effects on biotransformation of other drugs	Human / n.a.	*in vitro* / recombinant CYP isoforms, human hepatocytes, HPLC-MS/MS	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat)	PH-40834	4.2.2.4.14
Metabolism *in vivo*	Mouse / CD-1	p.o. / HPLC-LSC	[^{14}C]molidustat	PH-37906	4.2.2.4.10
Metabolism *in vivo*	Rat / Wistar (intact / bdc)	i.v., p.o. / HPLC-LSC	[^{14}C]molidustat	PH-37951	4.2.2.4.11
Metabolism *in vivo*	Dog / Beagle	i.v., p.o. / HPLC-LSC	[^{14}C]molidustat	PH-38036	4.2.2.4.12

Test article: Molidustat

Table 1-1: Overview on pharmacokinetic studies (continued)

Type of study	Species / strain	Route of administr. / method	Admin. compound	Report no.	Location
Metabolism (continued)					
Metabolism *in vivo*	Human / Caucasian	p.o. / HPLC-LSC	[^{14}C]molidustat	PH-38218	4.2.2.4.13
Excretion					
Excretion	Rat / Wistar (intact / bdc)	i.v., p.o. / LSC	[^{14}C]molidustat	A47089	4.2.2.5.1
Excretion	Dog / Beagle	i.v., p.o. / LSC	[^{14}C]molidustat	PH-38036	4.2.2.4.12
Excretion	Human / Caucasian	p.o. / LSC	[^{14}C]molidustat	PH-38218	4.2.2.4.13
Milk secretion	Rat / Wistar	i.v. / LSC	[^{14}C]molidustat	PH-40564	4.2.2.5.2
Pharmacokinetic drug interactions					
Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation	Human / n.a.	*in vitro* / human liver microsomes, HPLC-MS/MS	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat)	PH-39762	4.2.2.6.1
Other PK studies					
Permeability	Caco-2 cells	*in vitro* / HPLC-MS/MS	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat)	PH-40723	4.2.2.7.1
P-gp – substrate characteristics and inhibition	L-MDR1	*in vitro* / HPLC-MS/MS	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat)	PH-40406	4.2.2.7.2
BCRP – substrate characteristics	MDCKII-BCRP	*in vitro* / HPLC-MS/MS	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat)	PH-40647	4.2.2.7.3
BCRP – inhibition	MDCKII-BCRP	*in vitro* / HPLC-MS/MS	Molidustat	PH-37357	4.2.2.7.12
P-gp – substrate characteristics and inhibition	L-MDR1	*in vitro* / HPLC-MS/MS	M-1 (BAY 1163348)	PH-38971	4.2.2.7.4
BCRP – substrate characteristics and inhibition	MDCKII-BCRP	*in vitro* / HPLC-MS/MS	M-1 (BAY 1163348)	PH-38980	4.2.2.7.5

Test article: Molidustat

Table 1-1: Overview on pharmacokinetic studies (continued)

Type of study	Species / strain	Route of administr. / method	Admin. compound	Report no.	Location
Other PK studies (continued)					
MRP2 – substrate characteristics and inhibition	MRP2 transfected vesicles	*in vitro* / HPLC-MS/MS	M-1 (BAY 1163348)	R-12001[a]	4.2.2.7.6
OATP1B1– substrate characteristics	OATP1B1 in HEK-cells	*in vitro* / HPLC-MS/MS	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat)	PH-40740	4.2.2.7.7
OATP1B3– substrate characteristics OATP1B1 and 1B3– inhibition	OATP1B1 and OATP1B3 in HEK-cells	*in vitro* / LSC	Molidustat, [^{14}C]molidustat M-1 (BAY 1163348)	R-9677[b]	4.2.2.7.8
OCT1 – substrate characteristics and inhibition	OCT1 in HEK-cells	*in vitro* / LSC	Molidustat, [^{14}C]molidustat M-1 (BAY 1163348)	R-9682[b]	4.2.2.7.9
OCT2 – substrate characteristics and inhibition	OCT2 in HEK-cells	*in vitro* / LSC	Molidustat, M-1 (BAY 1163348), [^{14}C]M-1	R-9684[b]	4.2.2.7.11
OAT1 and OAT3 – substrate characteristics and inhibition	OAT1 and OAT3 in HEK-cells	*in vitro* / LSC	Molidustat, M-1 (BAY 1163348), [^{14}C]M-1	R-9680[b]	4.2.2.7.10
MATE1 and MATE2-K – inhibition	MATE1 and MATE2-K in HEK-cells	*in vitro* / HPLC-MS/MS	Molidustat, M-1 (BAY 1163348)	R-9692[a]	4.2.2.7.13
BSEP – inhibition	Human hepatocytes	*in vitro* / LSC	Molidustat, M-1 (BAY 1163348)	R-11081[c]	4.2.2.7.14

n.a. = not applicable
a = [redacted] USA
b = [redacted] Germany
c = [redacted] USA

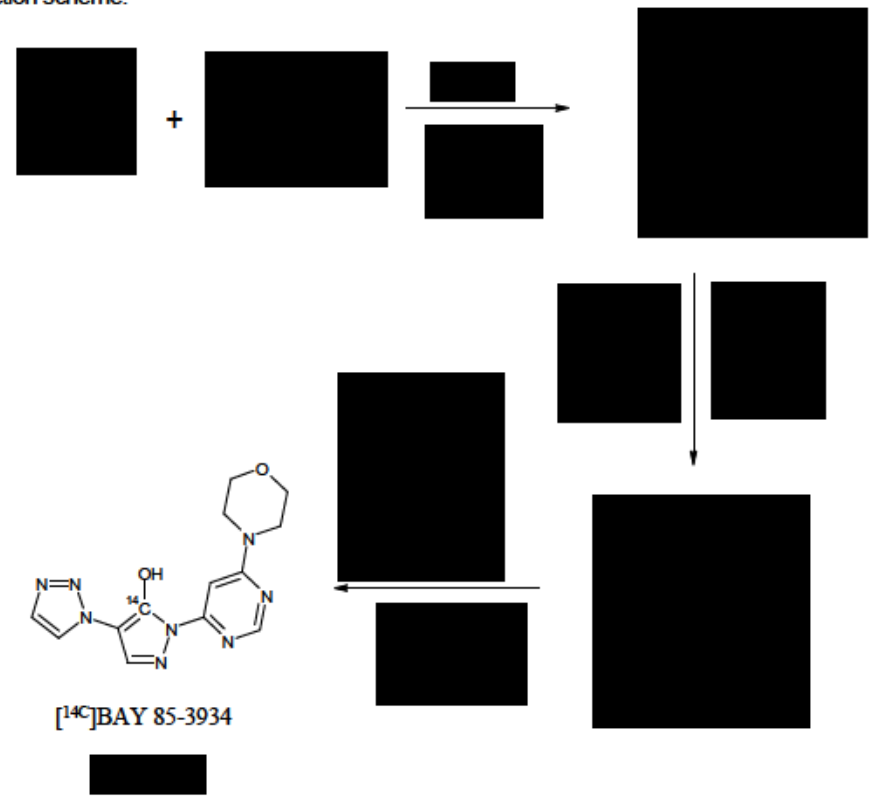
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

Test article: Molidustat

Table 2-1: Pharmacokinetics: Syntheses of carbon-14 – labeled compound

Location: 4.2.2.1.1
Report no.: A51735

Chemical structure / labeling position, see reaction scheme:



[^{14}C]BAY 85-3934

BAY 85-3934 = Molidustat

Test article: Molidustat

Table 2-2: Pharmacokinetics: Syntheses of stable isotope - labeled compound

Location: 4.2.2.1.3
Report no.: PH-36266

Chemical structure / labeling position, see reaction scheme:



$[^2H_8]$BAY 85-3934

BAY 85-3934 = Molidustat

Test article: Molidustat

Table 2-3: Pharmacokinetics: Analytical methods and validation

Location: 4.2.2.1.2
Report no.: PH-40869

Type of Study	Method	Analyte	Matrix	Testing Facility	Applied to studies (Study No)
Bioanalytical method and validation for preclinical and toxicokinetic studies	MW1373: Protein precipitation followed by HPLC-separation and MS/MS-detection	Molidustat	Rat, dog and monkey plasma	Bayer AG	I5080-3, I5073-5, T3080131, T7080441, I5074-6, T3080221, T6080206
Bioanalytical method and validation for preclinical and toxicokinetic studies	MW1441: Protein precipitation followed by HPLC-separation and MS/MS-detection	Molidustat	Rat, dog and rabbit plasma	Bayer AG	I5168-0, I5176-9, T4080853, T8081469, T0082433, T1082803, T2081977, T3082111, T101265-5
Bioanalytical method and validation for preclinical and toxicokinetic studies	MW1479: Protein precipitation followed by HPLC-separation and MS/MS-detection	Molidustat	Rat and mouse plasma	Bayer AG	T9082757, T0082767, T101150-8

Test article: Molidustat

Table 2-4 Pharmacokinetics: Analytical methods and validation

Location: 4.2.2.1.2
Report no.: PH-40869

Method No. Version, Species	**Precision (P) Accuracy (A) [%]**
MW1373 Version 01, Dog	P : 4.11 – 7.14 A : 95.5 – 98.3 n= 18 (inter-day precision and accuracy)
MW1373 Version 01 Rat	P : 2.38 – 6.58 A : 91.9 – 95.4 n= 6 (intra-day precision and accuracy)
MW1373 Version 02 Cynomolgus monkey	P : 3.46 – 7.91 A : 98.2 – 110 n= 6 (intra-day precision and accuracy)
MW1373 Version 02 Rat	P : 2.69 – 6.57 A : 94.6 – 109 n= 18 (inter-day precision and accuracy)
MW1441 Version 01 Rat	P : 3.74 – 8.73 A : 96.1 – 104 n= 16-18 (inter-day precision and accuracy)
MW1441 Version 01 Dog	P : 2.05 – 5.62 A : 93.7 – 101 n= 6 (intra-day precision and accuracy)
MW1441 Version 02 Rat (API 3200)	P : 2.53 – 5.88 A : 89.7 – 103 n= 6 (intra-day precision and accuracy)

Test article: Molidustat

Table 2-4 Pharmacokinetics: Analytical methods and validation (continued)

Location: 4.2.2.1.2
Report no.: PH-40869

Method No. Version, Species	**Precision (P) Accuracy (A) [%]**
MW1441 Version 02 Rat (API 4000)	P : 1.59 – 2.93 A : 97.1 – 101 n= 6 (intra-day precision and accuracy)
MW1441 Version 02 Dog	P : 2.06 – 3.88 A : 95.4 – 103 n= 6 (intra-day precision and accuracy)
MW1441 Version 03 Rabbit (API 5500)	P : 0.89 – 5.96 A : 93.3 – 102 n= 6 (intra-day precision and accuracy)
MW1441 Version 03 Rabbit (API 3200)	P : 5.50 – 9.04 A : 90.0 – 104 n= 6 (intra-day precision and accuracy)
MW1441 Version 04 Dog	P : 1.52 – 5.13 A : 88.9 – 94.9 n= 5 (intra-day precision and accuracy)
MW1479 Version 01 Mouse	P : 1.06 – 3.82 A : 97.3 – 106 n= 5 (intra-day precision and accuracy)
MW1479 Version 01 Rat	P : 1.39 – 3.25 A : 92.7 – 97.0 n= 6 (intra-day precision and accuracy)

P and A are shown in range of 4 concentration levels excluding LLOQ
For LLOQ, see 4.2.2.1.2 PH-40869 Section 7.7

2.6.5.3 薬物動態試験： 単回投与後の吸収

Test article: Molidustat

Table 3-1: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, rodent – Rats

Location: 4.2.2.2.1
Report no.: A47088

Species / strain		Rat / Wistar	Rat / Wistar	Rat / Wistar	Rat / Wistar	Rat / Wistar
Admin. compound		[^{14}C]molidustat	Molidustat	Molidustat	[^{14}C]molidustat	Molidustat
Analyte		Molidustat	Molidustat	Molidustat	Molidustat	Molidustat
Dose	[mg/kg]	1	5	1	5	15
Route		i.v.	i.v.	p.o.	p.o.	p.o.
Gender / No. of animals per time point		Male / 3	Male / 3	Male / 3	Male / 3	Male / 3
Feeding condition		Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Formulation		10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)			20% Ethanol, 80% PEG 400 (v/v)	
Duration	[h]	24	24	24	32	32
Assay		LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Parameter	**Unit**	Pharmacokinetic parameters were calculated from the geometric means of the concentrations				
AUC	[µg·h/L]	780	6429	336	2181	8853
AUC_{norm}	[kg·h/L]	0.780	1.29	0.336	0.436	0.590
$AUC(0\text{-}t_n)$	[µg·h/L]	778	6334	332	2180	8849
t_n	[h]	15	9	9	24	32
C_{max}	[µg/L]	2734	12986	187	1992	6609
$C_{max,norm}$	[kg/L]	2.73	2.60	0.187	0.398	0.441
t_{max}	[h]	0.0333	0.0333	0.500	0.500	0.250
$t_{1/2}$	[h]	2.44	3.13	1.39[b]	2.95	3.43
R_{start}*	[h]	2	5	0.75[b]	4	7
R_{end}*	[h]	15	9	9[b]	24	32
CL	[L/(kg·h)]	1.28	0.778	n.a.	n.a.	n.a.
V_{ss}	[L/kg]	0.967	0.622	n.a.	n.a.	n.a.
$t_{1/2\ apparent}$	[h]	0.297	0.340	0.988	0.402	0.645
R_{start*}	[h]	0.0833	0.0833	0.5	0.75	0.5
R_{end*}	[h]	2	3	4	3	4
F[a]	[%]	n.a.	n.a.	26.1	33.9	45.9

a = absolute bioavailability using intravenous administration of 5 mg/kg as reference
b = $t_{1/2}$ only apparent because the 2nd elimination phase does not show the right progress until 9 h past application, time interval: 0.75-9h
* = used for regression to determine $t_{1/2}$, n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 3-1: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, rodent - Rats (continued)

Location: 4.2.2.2.1
Report no.: A47088

Species / strain		Rat / Wistar	Rat / Wistar
Admin. compound		[^{14}C]molidustat	[^{14}C]molidustat
Analyte		Radioactivity	Radioactivity
Dose	[mg/kg]	1	5
Route		i.v.	p.o.
Gender / No. of animals per time point		Male / 3	Male / 3
Feeding condition		Fasted	Fasted
Formulation		10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)	20% Ethanol, 80% PEG 400 (v/v)
Duration	[h]	24	32
Assay		LSC	LSC
Parameter	**Unit**	Pharmacokinetic parameters were calculated from the geometric means of the concentrations	
AUC	[µg-eq·h/L]	1174	5021
AUC_{norm}	[kg·h/L]	1.17	1.00
$AUC(0\text{-}t_n)$	[µg-eq·h/L]	1158	4967
t_n	[h]	24	32
C_{max}	[µg-eq/L]	2339	3499
$C_{max,norm}$	[kg/L]	2.34	0.700
t_{max}	[h]	0.0333	0.750
$t_{1/2}$	[h]	5.81	6.79
R_{start}*	[h]	3	3
R_{end}*	[h]	24	32
CL	[L/(kg·h)]	n.a.	n.a.
V_{ss}	[L/kg]	n.a.	n.a.
F^a	[%]	n.a.	85.5

a = absolute bioavailability using intravenous administration of 1 mg/kg as reference
* = used for regression to determine $t_{1/2}$
n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 3-2: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, non-rodent – Dogs

Location: 4.2.2.2.2, 4.2.2.2.3
Report no.: A53544, PH-37979

Species / strain		Dog / Beagle		Dog / Beagle		Dog / Beagle		Dog / Beagle		Dog / Beagle	
Admin. compound		Molidustat		[^{14}C]molidustat		Molidustat		[^{14}C]molidustat		Molidustat	
Analyte		Molidustat		Molidustat		Molidustat		Molidustat		Molidustat	
Dose	[mg/kg]	1		3		0.3		1.5		5	
Route		i.v.		i.v.		p.o.		p.o.		p.o.	
Gender / No. of animals		female / 3		female / 3		female / 3		female / 3		female / 3	
Feeding condition		Fasted		fasted		fasted		Fasted		fasted	
Formulation		10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)						20% Ethanol, 80% PEG 400 (v/v)			
Duration	[h]	24		168		24		168		32	
Assay		LC-MS/MS		LC-MS/MS		LC-MS/MS		LC-MS/MS		LC-MS/MS	
		Geometric		**Geometric**		**Geometric**		**Geometric**		**Geometric**	
Parameter	**Unit**	**Mean**	**S.D.**	**Mean**	**S.D.**	**Mean**	**S.D.**	**Mean**	**S.D.**	**Mean**	**S.D.**
AUC	[µg·h/L]	1888	1.09	3870	1.22	255	1.47	1380	1.20	7000	1.18
AUC_{norm}	[kg·h/L]	1.89	1.09	1.29	1.22	0.851	1.47	0.920	1.20	1.40	1.18
$AUC(0\text{-}t_n)$	[µg·h/L]	1879	1.09	3870	1.22	246	1.48	1380	1.20	6994	1.18
t_n	[h]	8 – 24		24		8		15		24	
C_{max}	[µg/L]	1938	1.07	5240	1.13	99.0	1.73	947	1.25	3482	1.28
$C_{max,norm}$	[kg/L]	1.94	1.07	1.75	1.13	0.330	1.73	0.631	1.25	0.696	1.28
t_{max}	[h]	0.250	1.00	0.250[c]	[0.250 - 0.250][c]	1.00	2.00	0.250[c]	[0.250 – 0.500][c]	0.630	2.23
$t_{1/2}$	[h]	1.73[d]	2.38[d]	2.74	1.03	1.68[d]	1.03[d]	2.15	1.08	3.38	1.06
R_{start}*	[h]	0.5 – 6[d]		5		2[d]		5		6	
R_{end}*	[h]	8 – 24[d]		24		8[d]		15		24	
V_{ss}	[L/kg]	0.710	1.19	0.784	1.14	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
CL	[L/(h·kg)]	0.530	1.09	0.776	1.22	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
$t_{1/2apparent}$	[h]	1.04	1.09	0.822	1.10	1.24	1.08	1.00	1.12	0.842	1.07
R_{start}*	[h]	0.5		2		1		2		2	
R_{end}*	[h]	8		5		6		5		6	
F	[%]	100	n.a.	100	n.a.	45.5[a]	1.47	71.4[b]	1.02	74.8[a]	1.18

a = absolute bioavailability using intravenous administration of 1 mg/kg as reference
b = absolute bioavailability using intravenous administration of 3 mg/kg as reference
c = median instead of geometric mean, range instead of geometric standard deviation
d = $t_{1/2}$ only apparent because the concentrations were below the LLOQ at later sampling times of most or all animals
n.c. = not applicable; * = used for regression to determine $t_{1/2}$

Test article: Molidustat

Table 3-2: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, non-rodent - Dogs (continued)

Location: 4.2.2.2.3
Report no.: PH-37979

Species / strain:		Dog / Beagle		Dog / Beagle	
Admin. compound:		[^{14}C]molidustat		[^{14}C]molidustat	
Analyte:		Radioactivity		Radioactivity	
Dose	[mg/kg]	3		1.5	
Route		i.v.		p.o.	
Gender / No. of animals		female / 3		female / 3	
Feeding condition		fasted		fasted	
Formulation		10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)		20% Ethanol, 80% PEG 400 (v/v)	
Duration	[h]	672		168	
Assay		LSC		LSC	
		Geometric		**Geometric**	
Parameter	**Unit**	**Mean**	**S.D.**	**Mean**	**S.D.**
AUC	[µg-eq·h/L]	18800	1.07	6070	1.15
AUC_{norm}	[kg·h/L]	6.26	1.07	4.05	1.15
$AUC(0\text{-}t_n)$	[µg-eq·h/L]	18100	1.07	5600	1.14
t_n	[h]	672		168	
C_{max}	[µg-eq/L]	5440	1.13	1570	1.09
$C_{max,norm}$	[kg/L]	1.81	1.13	1.04	1.09
t_{max}	[h]	0.250[b]	[0.250 - 0.250][b]	1.00[b]	[1.00 - 1.00][b]
$t_{1/2}$	[h]	186	1.05	117	1.05
R_{start}*	[h]	24		32	
R_{end}*	[h]	672		168	
$t_{1/2apparent}$ (r1)	[h]	6.44	1.13	3.59	1.06
R_{start}*	[h]	8		8	
R_{end}*	[h]	15		15	
$t_{1/2apparent}$ (r2)	[h]	1.28	1.06	1.38	1.09
R_{start}*	[h]	2		2	
R_{end}*	[h]	8		8	
F	[%]	100	n.a.	64.7[a]	1.08

a = absolute bioavailability using intravenous administration of 3 mg/kg as reference
b = median instead of geometric mean, range instead of geometric standard deviation
n.a. = not applicable; * = used for regression to determine $t_{1/2}$

Test article: Molidustat

Table 3-3: Pharmacokinetics: Absorption / basic PK after a single dose, non-rodent - Monkeys

Location: 4.2.2.2.4
Report no.: A53545

Species / strain		Monkey/ Cynomolgus			Monkey/ Cynomolgus	
Admin. compound		Molidustat			Molidustat	
Analyte		Molidustat			Molidustat	
Dose	[mg/kg]	1			1	
Route		i.v.			p.o.	
Gender / No. of animals		female / 3			female / 3	
Feeding condition		fasted			fasted	
Formulation		10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)				
Duration	[h]	24			24	
Assay		LC-MS/MS			LC-MS/MS	
		Geometric			**Geometric**	
Parameter	**Unit**	**Mean**	**S.D.**	**Mean**		**S.D.**
AUC	[µg·h/L]	1440	1.13	874		1.13
AUC_{norm}	[kg·h/L]	1.44	1.13	0.874		1.13
$AUC(0\text{-}t_n)$	[µg·h/L]	1437	1.12	856		1.14
t_n	[h]	8 – 24		8 – 24		
C_{max}	[µg/L]	2797	1.13	380		1.08
$C_{max,norm}$	[kg/L]	2.80	1.13	0.380		1.08
t_{max}	[h]	0.250	1.00	1.00		1.00
$t_{1/2}$	[h]	1.60[b]	3.38[b]	1.86[b]		1.44[b]
R_{start}*	[h]	0.333 – 5[b]		2 – 5[b]		
R_{end}*	[h]	8 – 24[b]		8 – 24[b]		
$t_{1/2apparent}$	[h]	0.577	1.05	1.16		1.09
R_{start}*	[h]	0.333		2		
R_{end}*	[h]	5		5		
F	[%]	100	n.a.	60.7[a]		1.16

a = absolute bioavailability using intravenous administration of 1 mg/kg as reference
b = $t_{1/2}$ only apparent $t_{1/2}$ because most concentrations were below LLOQ at late sampling time.
n.a. = not applicable; * = used for regression to determine $t_{1/2}$

2.6.5.4 薬物動態試験： 反復投与後の吸収

反復投与後のトキシコキネティクスは2.6.7.3を参照。

2.6.5.5 薬物動態試験： 分布

Test article: Molidustat

Table 5-1: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, male albino rats

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	male / 7 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

	Equivalent concentrations [µg-eq/L]						
Organs/tissues	**0.5 h**	**2 h**	**4 h**	**8 h**	**24 h**	**72 h**	**168 h**
Adipose tissue, brown	237	43.5	20.9	13.0	7.57	6.47	<4.92
Adipose tissue, white	171	77.0	30.6	5.21	<4.85	<5.58	<4.92
Adrenal cortex	n.s.	2699	1203	903	94.8	6.38	<4.92
Adrenal medulla	n.s.	1430	344	289	~48.8	<5.58	<4.92
Adrenals (average)	n.s.	2449	1069	795	85.2	<5.58	<4.92
Blood (heart)	**680**	**103**	**63.0**	**27.2**	**10.3**	**<5.58**	**<4.92**
Bone marrow	279	50.7	54.6	22.4	11.7	6.42	<4.92
Brain	20.4	7.01	<6.67	<5.85	<4.85	<5.58	<4.92
Cardiac muscle	432	73.4	39.2	17.8	<4.85	<5.58	<4.92
Eye wall	145	57.2	35.6	12.7	<4.85	<5.58	<4.92
Harderian gland	390	77.7	41.9	25.9	11.6	<5.58	<4.92
Kidney cortex	3799	705	458	205	47.1	6.84	<4.92
Kidney, inner medulla	6394	760	480	183	37.4	<5.58	<4.92
Kidney, outer medulla	7565	1159	779	329	111	17.1	5.57
Kidneys (average)	8718	1121	676	326	69.0	12.7	<4.92
Liver	3865	1209	913	497	74.3	7.27	<4.92
Lungs	705	123	74.5	32.6	8.67	<5.58	<4.92
Pancreas	519	54.5	34.2	19.5	7.67	<5.58	<4.92

Test article: Molidustat

Table 5-1: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, male albino rats (continued)

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	male / 7 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

	Equivalent concentrations [µg-eq/L]						
Organs/tissues	**0.5 h**	**2 h**	**4 h**	**8 h**	**24 h**	**72 h**	**168 h**
Seminal vesicles	83.0	25.7	26.0	45.5	8.26	<5.58	<4.92
Skeletal muscles (dorsal)	178	29.7	18.1	8.49	<4.85	<5.58	<4.92
Skin (dorsal)	405	102	50.5	24.4	5.13	<5.58	<4.92
Spleen	n.d.	54.6	34.1	25.7	11.2	<5.58	<4.92
Submandibular gland	380	63.2	35.0	21.2	5.93	<5.58	<4.92
Testes	168	126	46.1	29.0	<4.85	<5.58	<4.92
Thymus	221	42.7	23.9	15.0	4.22	<5.58	<4.92
Thyroid	559	84.6	~21.4	25.8	10.6	8.57	<5.06

~ = reduced accuracy possible, measured area of interest below 1 mm^2 (on average)
< = value below lower limit of quantitation
n.s. = no sample
n.d. = not determined

Test article: Molidustat

Table 5-2: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, male albino rats

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	male / 7 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

Organs/tissues	Ceq_{max} [µg-eq/L]	Ceq_{max} ratio organ/blood	t_{max} [h]	AUC(0-24) [µg-eq·h/L]	AUC [µg-eq·h/L]	$t_{1/2}$ [h]	Range[a] [h]	Truncated evaluation $t_{1/2}$[h]	Truncated evaluation Range[a] [h]
Adipose tissue, brown	237	0.349	0.50	519	*1520	75.8	8-72	3.66	2-8
Adipose tissue, white	171	0.251	0.50	n.c.	389	n.c.	-	1.55	2-8
Adrenal cortex	2700	3.97	2.00	16300	18000	9.56	8-72	4.16	2-8
Adrenal medulla	1430	2.10	2.00	6380	6870	6.82	4-24	n.c.	-
Adrenals (average)	2450	3.60	2.00	14600	15200	5.32	4-24	n.c.	-
Blood (heart)	**680**	**1.00**	**0.50**	**1240**	**1410**	**~11.4**	**8-24**	**3.16**	**2-8**
Bone marrow	279	0.410	0.50	784	1550	38.7	8-72	4.67	2-8
Brain	20.4	0.030	0.50	n.c.	3	n.c.	-	~0.97	0.5-2
Cardiac muscle	432	0.635	0.50	n.c.	704	n.c.	-	3.01	2-8
Eye wall	145	0.213	0.50	n.c.	409	n.c.	-	2.75	2-8
Harderian gland	390	0.574	0.50	922	1150	~13.8	8-24	3.98	2-8
Kidney cortex	3800	5.59	0.50	7830	8950	13.8	8-72	3.38	2-8
Kidney, inner medulla	6390	9.40	0.50	9490	9860	~6.98	8-24	2.92	2-8
Kidney, outer medulla	7560	11.1	0.50	14200	17800	29.0	8-168	3.29	2-8
Kidneys (average)	8720	12.8	0.50	14100	15900	14.7	8-72	3.42	2-8
Liver	3870	5.69	0.50	12800	14300	11.2	8-72	4.66	2-8
Lungs	705	1.04	0.50	1360	1470	~8.36	8-24	3.17	2-8
Pancreas	519	0.763	0.50	834	920	8.52	2-24	n.c.	-

Test article: Molidustat

Table 5-2: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, male albino rats (continued)

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	male / 7 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

Organs/tissues	Ceq_{max} [µg-eq/L]	Ceq_{max} ratio organ/blood	t_{max} [h]	AUC(0-24) [µg-eq·h/L]	AUC [µg-eq·h/L]	$t_{1/2}$ [h]	Range[a] [h]	Truncated evaluation $t_{1/2}$[h]	Truncated evaluation Range[a] [h]
Seminal vesicles	83.0	0.122	0.50	638	715	~6.50	8-24	n.c.	-
Skeletal muscles (dorsal)	178	0.262	0.50	n.c.	307	n.c.	-	3.37	2-8
Skin (dorsal)	405	0.596	0.50	917	970	~7.12	8-24	3.01	2-8
Spleen	54.6	0.080	2.00	539	*754	~13.3	8-24	5.87	2-8
Submandibular gland	380	0.559	0.50	757	831	~8.71	8-24	3.98	2-8
Testes	168	0.247	0.50	n.c.	681	n.c.	-	3.07	2-8
Thymus	221	0.325	0.50	495	548	8.76	8-24	4.16	2-8
Thyroid	559	0.822	0.50	977	*1980	48.5	8-72	4.26	2-8

a = regression range
~ = rough estimate, due to regression with only 2 time points or highly variable terminal concentrations
* = rough estimate, due to large extrapolated portions (>25%)
n.c. = not calculated

Test article: Molidustat

Table 5-3: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, male albino rats

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	intravenous	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	male / 2 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	1 mg/kg	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)		

	Equivalent concentrations [µg-eq/L]	
Organs/tissues	**5 min**	**2 h**
Adipose tissue, brown	483	12.3
Adipose tissue, white	162	7.11
Adrenal cortex	4999	1468
Adrenal medulla	2582	545
Adrenals (average)	4397	1271
Blood (heart)	**1255**	**39.8**
Bone marrow	627	17.1
Brain	47.8	<2.86
Cardiac muscle	1102	28.3
Eye wall	62.9	11.5
Harderian gland	1258	27.2
Kidney cortex	4970	317
Kidney, inner medulla	7548	236
Kidney, outer medulla	9157	390
Kidneys (average)	7597	1127
Liver	3184	738
Lungs	1374	62.9
Pancreas	862	12.3

Test article: Molidustat

Table 5-3: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, male albino rats (continued)

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	intravenous	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	male / 2 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	1 mg/kg	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)		

	Equivalent concentrations [µg-eq/L]	
Organs/tissues	**5 min**	**2 h**
Seminal vesicles	103	6.92
Skeletal muscles (dorsal)	555	9.90
Skin (dorsal)	445	36.4
Spleen	763	15.7
Submandibular gland	1121	20.8
Testes	139	52.6
Thymus	596	15.2
Thyroid	1239	30.4

< = value below lower limit of quantitation

Test article: Molidustat

Table 5-4: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, female albino rats

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	female / 2 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

	Equivalent concentrations [µg-eq/L]	
Organs/tissues	**30 min**	**24 h**
Adipose tissue, brown	840	5.85
Adipose tissue, white	238	<5.23
Adrenal cortex	4464	102
Adrenal medulla	2989	~44.8
Adrenals (average)	4240	94.0
Blood (heart)	**1674**	**16.9**
Bone marrow	890	15.4
Brain	76.6	<5.23
Cardiac muscle	2978	10.6
Eye wall	1286	<5.23
Harderian gland	1641	13.5
Kidney cortex	12243	106
Kidney, inner medulla	20406	57.8
Kidney, outer medulla	24887	563
Kidneys (average)	22102	238
Liver	6074	120
Lungs	3125	17.8
Ovaries	2739	12.2

Test article: Molidustat

Table 5-4: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, female albino rats (continued)

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	female / 2 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	Fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

	Equivalent concentrations [µg-eq/L]	
Organs/tissues	**30 min**	**24 h**
Pancreas	1096	9.19
Skeletal muscles (dorsal)	615	<5.23
Skin (dorsal)	1827	7.64
Spleen	1109	10.0
Submandibular gland	1376	10.2
Thymus	848	10.1
Thyroid	1910	~18.9
Uterus	2897	19.3

~ = reduced accuracy possible, measured area of interest below 1 mm^2 (on average)
< = value below lower limit of quantitation

Test article: Molidustat

Table 5-5: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, male pigmented rats

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Long Evans	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	male / 4 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

	Equivalent concentrations [µg-eq/L]			
Organs/tissues	**24 h**	**72 h**	**168 h**	**336 h**
Adipose tissue, brown	<6.75	<4.70	<5.07	<4.83
Adipose tissue, white	<6.75	<4.70	<5.07	<4.83
Adrenal cortex	95.4	5.09	<5.07	<4.83
Adrenal medulla	42.3	~4.40	<5.07	<4.83
Adrenals (average)	85.1	5.05	<5.07	<4.83
Blood (heart)	**8.94**	**<4.70**	**<5.07**	**<4.83**
Bone marrow	7.66	<4.70	<5.07	<4.83
Brain	<5.69	<4.70	<4.69	<4.83
Cardiac muscle	5.97	<4.70	<5.07	<4.83
Eye wall (pigmented)	6.94	5.24	<5.07	<4.83
Harderian gland	15.8	<4.70	<5.07	<4.83
Kidney cortex	39.9	6.19	<5.07	<4.83
Kidney, inner medulla	21.2	<4.70	<5.07	<4.83
Kidney, outer medulla	80.8	17.8	<5.07	<4.83
Kidneys (average)	51.1	9.88	<5.07	<4.83
Liver	63.2	5.99	<5.07	<4.83
Lungs	9.26	<4.70	<5.07	<4.83
Pancreas	<6.75	<4.70	<5.07	<4.83

Test article: Molidustat

Table 5-5: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, male pigmented rats (continued)

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Long Evans	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	male / 4 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

	Equivalent concentrations [µg-eq/L]			
Organs/tissues	**24 h**	**72 h**	**168 h**	**336 h**
Seminal vesicles	45.0	<4.70	<5.07	<4.83
Skeletal muscles (dorsal)	<6.75	<4.70	<5.07	<4.83
Skin, high pigmented (dorsal)	<6.75	<4.70	<5.07	<4.83
Skin, less pigmented (dorsal)	<6.75	<4.70	<5.07	<4.83
Spleen	<6.75	<4.70	<5.07	<4.89
Submandibular gland	<6.75	<4.70	<5.07	<4.83
Testes	<6.75	<4.70	<5.07	<4.83
Thymus	<6.75	<4.70	<5.07	<4.83
Thyroid	15.0	5.26	<4.69	<4.83

~ = reduced accuracy possible, measured area of interest below 1 mm^2 (on average)
< = value below lower limit of quantitation

Test article: Molidustat

Table 5-6: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, male pigmented rats

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Long Evans	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	male / 4 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

Organs/tissues	**AUC(t_1-t_n) [µg-eq·h/L]**	**AUC(t_n-∞) [%]**	**$t_{1/2}$ [h]**	**Regression range [h]**
Adipose tissue, brown	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Adipose tissue, white	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Adrenal cortex	1480	3.08	~11.4	24-72
Adrenal medulla	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Adrenals (average)	1360	3.48	~11.8	24-72
Blood (heart)	**n.c.**	**n.c.**	**n.c.**	**n.c.**
Bone marrow	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Brain	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Cardiac muscle	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Eye wall (pigmented)	291	70.6	~119	24-72
Harderian gland	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Kidney cortex	871	10.6	~17.8	24-72
Kidney, inner medulla	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Kidney, outer medulla	2001	16.0	~22.0	24-72
Kidneys (average)	1207	13.7	~20.2	24-72
Liver	1161	5.96	~14.1	24-72
Lungs	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Pancreas	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.

Test article: Molidustat

Table 5-6: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, male pigmented rats (continued)

Location: 4.2.2.3.1
Report no.: PH-38474

Species / strain:	Rat / Long Evans	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	male / 4 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

Organs/tissues	AUC(t_1-t_n) [µg-eq·h/L]	AUC(t_n-∞) [%]	$t_{1/2}$ [h]	Regression range [h]
Seminal vesicles	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Skeletal muscles (dorsal)	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Skin, high pigmented (dorsal)	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Skin, less pigmented (dorsal)	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Spleen	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Submandibular gland	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Testes	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Thymus	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
Thyroid	447	27.7	~31.7	24-72

n.c. = not calculated, most values below LOQ
~ = rough estimate, due to calculation of $t_{1/2}$ with 2 time points

Test article: Molidustat

Table 5-7: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, pregnant rats

Location: 4.2.2.3.2
Report no.: PH-38751

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Gender / no.:	female / 6 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)		

	Equivalent concentrations [µg-eq/L]					
Organs/tissues	**0.5 h**	**2 h**	**4 h**	**8 h**	**24 h**	**48 h**
Adipose tissue, brown	284	345	69.1	19.3	6.84	<4.53
Adipose tissue, white	92.7	162	37.4	36.5	10.2	<4.68
Adrenal cortex	3680	4210	2630	1120	393	22.1
Adrenal medulla	~2710	~3160	~910	~437	~214	~10.8
Adrenals (average)	3550	4190	2450	1080	379	21.0
Amnion	875	728	478	278	47.7	9.90
Amniotic fluid	25.8	107	202	70.5	9.30	5.25
Blood (heart)	**1080**	**1190**	**365**	**86.8**	**15.4**	**<4.68**
Brain	26.0	32.7	14.0	<6.06	<4.94	<4.53
Cardiac muscle	703	681	180	49.2	8.03	<4.68
Kidney cortex	6160	3770	1260	479	117	21.5
Kidney, inner medulla	6380	4280	1280	404	72.0	10.8
Kidney, outer medulla	13100	7350	2870	1430	580	81.3
Kidneys (average)	9150	8420	2110	837	254	31.8
Liver	3570	3160	1250	491	80.4	8.30
Lungs	1310	1100	376	84.7	15.2	<4.65

Test article: Molidustat

Table 5-7: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, pregnant rats (continued)

Location: 4.2.2.3.2
Report no.: PH-38751

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Gender / no.:	female / 6 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)		

	Equivalent concentrations [µg-eq/L]					
Organs/tissues	**0.5 h**	**2 h**	**4 h**	**8 h**	**24 h**	**48 h**
Mammary glands	1380	674	210	171	90.1	23.0
Ovaries	580	704	186	40.3	11.9	<4.70
Placentae	570	706	286	70.4	13.4	<4.65
Skeletal muscles (dorsal)	229	217	60.6	17.1	<4.84	<4.68
Skin (dorsal)	628	906	272	67.6	8.76	<4.70
Spleen	668	362	144	32.1	11.0	<4.65
Submandibulary gland	518	487	156	38.1	10.6	<4.53
Uterus	1170	1360	407	109	18.9	<4.53
Fetuses (average)	**275**	**371**	**229**	**73.5**	**16.9**	**<4.70**
Fetal blood	320	331	242	70.9	10.4	<4.70
Fetal brain	51.6	96.2	80.3	34.8	13.5	<4.70
Fetal kidney	306	370	306	99.4	29.1	9.60
Fetal liver	317	391	236	82.7	23.0	5.04
Fetal meconium	309	379	261	82.9	30.6	19.6
Fetal muscle	326	350	226	75.9	11.9	<4.65

~ = reduced accuracy possible, measured area of interest below 1 mm^2 (on average)
< = value below lower limit of quantitation

Test article: Molidustat

Table 5-8: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, pregnant rats

Location: 4.2.2.3.2
Report no.: PH-38751

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Gender / no.:	female / 6 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)		

Organs/tissues	**AUC [µg-eq·h/L]**	**AUC(0-t_n) [%]**	**$t_{1/2}$ [h]**	**Regression range [h]**
Adipose tissue, brown	1300	1230	6.86	4.00-24.0
Adipose tissue, white	1010	863	10.0	4.00-24.0
Adrenal cortex	35100	34800	6.70	4.00-48.0
Adrenal medulla	18000	17900	7.25	4.00-48.0
Adrenals (average)	33700	33500	6.72	4.00-48.0
Amnion	6850	6750	7.93	4.00-48.0
Amniotic fluid	1640	1570	11.2	8.00-48.0
Blood (heart)	**4910**	**4810**	**4.81**	**4.00-24.0**
Brain	(128)	94.6	~1.64	2.00-4.00
Cardiac muscle	2790	2740	4.83	4.00-24.0
Kidney cortex	22400	22100	9.00	8.00-48.0
Kidney, inner medulla	21500	21300	7.72	8.00-48.0
Kidney, outer medulla	58200	57100	9.02	4.00-48.0
Kidneys (average)	40800	40500	7.70	4.00-48.0
Liver	17800	17700	6.31	4.00-48.0
Lungs	4990	4900	4.77	4.00-24.0

Test article: Molidustat

Table 5-8: Pharmacokinetics: Organ and tissue distribution, quantitative, single dose, pregnant rats (continued)

Location: 4.2.2.3.2
Report no.: PH-38751

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	oral	Assay:	WBA Radioluminography
Admin. compound:	[^{14}C]BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Gender / no.:	female / 6 (1 per time point)		
Analyte:	Radioactivity	Feeding condition:	fasted		
Dose:	5 mg/kg	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)		

Organs/tissues	**AUC [µg-eq·h/L]**	**AUC(0-t_n) [µg-eq·h/L]**	**$t_{1/2}$ [h]**	**Regression range [h]**
Mammary glands	7070	6580	13.9	4.00-48.0
Ovaries	2730	2640	5.77	4.00-24.0
Placentae	3280	3190	4.99	4.00-24.0
Skeletal muscles (dorsal)	828	774	~2.19	4.00-8.00
Skin (dorsal)	3460	3410	4.35	4.00-24.0
Spleen	2090	2000	6.24	4.00-24.0
Submandibulary gland	2220	2140	5.83	4.00-24.0
Uterus	5630	5500	4.92	4.00-24.0
Fetuses (average)	**2440**	**2310**	**5.82**	**4.00-24.0**
Fetal blood	2260	2200	4.73	4.00-24.0
Fetal brain	1030	877	8.58	4.00-24.0
Fetal kidney	3480	3330	12.1	8.00-48.0
Fetal liver	2910	2840	9.98	8.00-48.0
Fetal meconium	3790	3280	20.0	8.00-48.0
Fetal muscle	2340	2260	5.02	4.00-24.0

~ = rough estimation, half-life was calculated with only 2 points
( ) = rough estimation, because extrapolated portion of AUC > 30%

2.6.5.6 薬物動態試験： タンパク結合

Test article: Molidustat

Table 6-1: Pharmacokinetics: Plasma protein binding in vitro

Location: 4.2.2.3.3
Report no.: A47047

Test compound: [^{14}C]molidustat Method: Ultrafiltration
Analyte: Radioactivity Assay: LSC

Species / strain / Test system	Gender	Matrix	Concentration [µg/L]	Mean fraction bound (f_b) [%]	Mean fraction unbound (f_u) [%]
Dog / Beagle	Female	Plasma	94.2 – 9804	59.8	40.2
Human / Caucasian	Male	Plasma	100 – 10136	79.3	20.7
Monkey / Cynomolgus	Female	Plasma	96.0 – 9114	75.0	25.0
Mouse / CD-1	Male	Plasma	97.2 – 10061	48.6	51.4
Rabbit / CHBB	Female	Plasma	95.4 – 9683	68.3	31.7
Rat / Wistar	Male	Plasma	97.1 – 10090	65.8	34.2
Human / Caucasian (pH 7.0)	Male	Plasma	970	79.2	20.8
Human / Caucasian (pH 7.4)	Male	Plasma	951	82.0	18.0
Human / Caucasian (pH 7.8)	Male	Plasma	961	83.5	16.5
AAGP	n.a.		977	16.3	83.7
α-globulin	n.a.		1010	43.0	57.0
γ-globulin	n.a.		1017	34.1	65.9
HSA	n.a.		974	68.8	31.2
Williams Medium + 10% FCS	n.a.		97.0 – 7932	25.3	74.7

AAGP = alpha-1 acid glycoprotein, FCS = fetal calf serum, HSA = human serum albumin
n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 6-2: Pharmacokinetics: Blood to plasma concentration ratio in vitro

Location: 4.2.2.3.3
Report no.: A47047

Test compound: [^{14}C]molidustat
Analyte: Radioactivity Assay: LSC

Species / strain	**Gender**	**Conc. in blood (C_b) [µg/L]**	**Conc. in plasma (C_p) [µg/L]**	**C_b / C_p**
Dog / Beagle	Female	102 – 3567	131 – 5101	0.73
Human / Caucasian	Male	98.2 – 3998	153 – 6429	0.62
Rat / Wistar	Male	95.7 – 3920	142 – 5531	0.69

Test article: Molidustat

Table 6-3: Pharmacokinetics: Plasma protein binding in vitro / Binding to human liver microsomes (HLMs) in vitro

Location: 4.2.2.3.4
Report no.: PH-38787

Test compound:	[^{14}C]molidustat	Method:	Ultrafiltration
Analyte:	Radioactivity	Assay:	LSC

Test system	Gender	Concentration [µg/L]	Mean fraction bound (f_b) [%]	Mean fraction unbound (f_u) [%]
HLM 0.05 mg/mL	n.a.	108 – 10230	26.0	74.0
HLM 0.1 mg/mL	n.a.	106 – 9053	33.6	66.4
HLM 0.5 mg/mL	n.a..	107 – 9495	45.3	54.7

HLM = human liver microsomes
n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 6-4: Pharmacokinetics: Plasma protein binding in vitro / Binding to human liver microsomes (HLMs) in vitro

Location: 4.2.2.3.5
Report no.: PH-39114

Test compound: [^{14}C]BAY 1163348 (M-1) Method: Ultrafiltration
Analyte: Radioactivity Assay: LSC

Species / strain / Test system	Gender	Matrix	Concentration [µg/L]	Mean fraction bound [%]	Mean fraction unbound (f_u) [%]
Dog / Beagle	Female	Plasma	194 – 19940	9.7	90.3
Human / Caucasian	Female	Plasma	198 – 20113	16.8	83.2
HLM 0.05 mg/mL	n.a.		182 – 20048	5.1	94.9
HLM 0.1 mg/mL	n.a.		201 – 20162	9.6	90.4
HLM 0.5 mg/mL	n.a.		188 – 20439	24.6	75.4
Williams Medium + 10% FCS	n.a.		201 – 19906	8.0	92.0

FCS = fetal calf serum, HLM = human liver microsomes, n.a. = not applicable

2.6.5.7 薬物動態試験： 妊娠または授乳動物における試験（胎盤移行性）

妊娠動物を用いた胎盤移行性の試験成績は 2.6.5.5 Table 5-7 及び Table 5-8 に記載した。

2.6.5.7 薬物動態試験： 妊娠または授乳動物における試験（乳汁排泄）

Test article: Molidustat

Table 7-1: Pharmacokinetics: Secretion into the milk, rodent

Location: 4.2.2.5.2
Report no.: PH-40564

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous	Feeding condition:	ad libitum	
Admin. compound:	[^{14}C]molidustat	Gender / no.:	Female / 5	Assay:	LSC	
Analyte:	Radioactivity	Lactating day:	10 days after parturition			
Dose:	1 mg/kg	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)			

Animal No.		**001**	**002**	**003**	**004**	**005**
Sampling time		**8 h**	**8 h**	**8 h**	**24 h**	**24 h**
Excretion into milk						
% of dose	[%]	0.746	0.484	0.485	0.125	n.c.
Plasma						
Concentration	[µg-eq/L]	6.47	13.0	15.2	1.24	1.49

n.c. = not calculated

2.6.5.8 薬物動態試験： その他の分布試験

その他の分布試験は実施していない。

2.6.5.9 薬物動態試験： In Vivo における代謝

Test article: Molidustat

Table 9-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Unchanged compound and radioactive metabolites in plasma of male mice

Location: 4.2.2.4.10
Report no.: PH-37906

Species / strain:	Mouse / CD-1	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 30 (3 / time point)	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	5 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Plasma	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

Time [h]		Total radioactivity [µg-eq/L]	Molidustat [µg-eq/L]	M-1 [µg-eq/L]
0.25		2680	1240	1440
0.5		1670	630	1040
0.75		1250	529	718
1		1390	428	966
2		463	223	240
4		319	97.2	222
8		130	32.8	91.8
24		12.4	1.91[a]	6.77[a]
32		9.66	-	-
48		7.96	-	-
AUC	[µg-eq·h/L]	5050	1600	3060
	[%]		**31.7**	**60.6**
AUC(0-t_{last})	[µg-eq·h/L]	5050	1500	2490
	[%]		**29.7**	**49.3**
t_{last}	[h]	48	8	8
AUC(0-8)	[µg-eq·h/L]	4020	1500	2490
	[%]		**37.3**	**61.9**
%AUC(0-t_1)	[%]	6.6	9.7	5.9
%AUC($t_{last-inf}$)	[%]	0	6.3	18.7
C_{max}	[µg-eq/L]	2680	1240	1440
t_{max}	[h]	0.25	0.25	0.25
$t_{½}$	[h]	3.25	2.22	4.11
RPoints		3	3	3
RRange		2.00-8.00	2.00-8.00	2.00-8.00

a = values not used for calculation of PK parameters

Test article: Molidustat

Table 9-2: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Unchanged compound and radioactive metabolites in plasma of male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous	Gender / no.:	male / 48 (3 / time point)	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	1 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Plasma	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v), pH 5.0		

Time [h]		**Total radioactivity [µg-eq/L]**	**Molidustat [µg-eq/L]**	**M-1 [µg-eq/L]**
0.033		2340	2150	186
0.083		1890	1540	351
0.167		1370	943	418
0.25		1050	625	425
0.5		593	277	316
0.75		419	147	272
1		328	93.4	235
2		54.2	19.8	34.4
3		35.7	10.7	25
4		24.9	11.4	13.5
5		22.7	12.6	10.1
7		16.6	9.51	7.14
9		6.88	3.36	3.52
12		8.23	-	-
15		2.91	-	-
24		3.36	-	-
AUC	[µg-eq·h/L]	1230	611	518
	[%]		49.7	42.1
AUC(0-t_{last})	[µg-eq·h/L]	1180	600	504
	[%]		50.8	42.7
t_{last}	[h]	24	9	9
AUC(0-9)	[µg-eq·h/L]	1110	600	504
	[%]		**54.1**	**45.4**
%AUC(0-t_1)	[%]	3.1	5.8	0.6
%AUC($t_{last-inf}$)	[%]	4.3	1.9	2.8
C_{max}	[µg-eq/L]	2340	2150	425
t_{max}	[h]	0.033	0.033	0.25
$t_{½}$	[h]	2.6 / 12.5	2.1	2.2
RPoints		6 / 4	3	6
RRange	[h]	2-9 / 9-24	5-9	2-9

Test article: Molidustat

Table 9-3: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Unchanged compound and radioactive metabolites in plasma of male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 42 (3 / time point)	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	5 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Plasma	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v), pH 5.0		

Time [h]		**Total radioactivity [µg-eq/L]**	**Molidustat [µg-eq/L]**	**M-1 [µg-eq/L]**
0.25		2650	1500	1130
0.5		3500	1650	1850
0.75		3500	1450	2050
1		2380	942	1440
2		493	120	373
3		129	36.9	92.1
4		116	54.1	61.9
5		122	54.9	67.1
7		76.6	30.3	46.3
9		46.8	19.2	27.6
12		9.81	-	-
15		2.92	-	-
24		1.21	-	-
32		1.73	-	-
AUC	[µg-eq·h/L]	4890	2030	2880
	[%]		41.5	58.9
AUC(0-t_{last})	[µg-eq·h/L]	4850	1960	2750
	[%]		40.4	56.7
t_{last}	[h]	32	9	9
AUC(0-9)	[µg-eq·h/L]	4730	1960	2750
	[%]		**41.4**	**58.1**
%AUC(0-t_1)	[%]	6.8	9.2	4.9
%AUC($t_{last-inf}$)	[%]	0.9	3.5	4.4
C_{max}	[µg-eq/L]	3500	1650	2050
t_{max}	[h]	0.5	0.5	0.75
$t_{½}$	[h]	2.6 / 21.5	3.4	2.4
RPoints		6 / 3	6	6
RRange	[h]	2-9 / 15-32	2-9	2-9

Test article: Molidustat

Table 9-4: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in urine (mass balance studies) of intact male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous	Gender / no.:	male / 5				Assay:	HPLC-LSC	
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	1 mg/kg								
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Urine	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v), pH 5.0						
Animal No. (pool)					**158-162**						
Collection interval [h]		**0-8**		**8-24**		**24-48**		**48-168[a]**		**0–168**	
%$A_{E,ur}$(t_1-t_2) [% of dose]		**37.8**		**6.33**		**1.01**		**0.660**		**45.8**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose
13.3	Unknown	0.5	0.189	-	-	-	-			0.4	0.189
16.8	Unknown	0.1	0.0378	-	-	-	-			0.1	0.0378
17.5	Unknown	0.4	0.151	0.9	0.0570	-	-			0.5	0.208
18.5	**M-1**	**42.8**	**16.2**	**55.9**	**3.54**	**57.9**	**0.585**			**44.3**	**20.3**
21.2	**Molidustat**	**54.2**	**20.5**	**40.5**	**2.56**	**41.1**	**0.415**			**51.3**	**23.5**
22.2	**M-4**	**1.8**	**0.680**	**2.7**	**0.171**	**1.1**	**0.0111**			**1.9**	**0.862**
22.8	Unknown	0.2	0.0756	-	-	-	-			0.2	0.0756
Compounds balanced		100.0	37.8	100.0	6.33	100.1	1.01			98.7	45.2
Compounds identified		**98.8**	**37.4**	**99.1**	**6.27**	**100.1**	**1.01**			**97.5**	**44.7**

a = no workup for these samples were performed due to low radioactivity concentration

%$A_{E,ur}$(t_1-t_2) = percent amount excreted of administered dose into urine within time interval

Test article: Molidustat

Table 9-5: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in urine (mass balance studies) of intact male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 5	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	5 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Urine	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v), pH 5.0		

Animal No. (pool)		**163-167**							
Collection interval [h]		**0-8**		**8-24**		**24-168[a]**		**0-168**	
$\%A_{E,ur}(t_1-t_2)$ [% of dose]		**29.2**		**4.13**		**0.770**		**34.1**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose
11.8	Unknown	0.2	0.0584	-	-			0.2	0.0584
12.3	Unknown	1.4	0.409	-	-			1.2	0.409
17.5	Unknown	-	-	0.6	0.0248			0.1	0.0248
18.5	**M-1**	**61.9**	**18.1**	**62.4**	**2.58**			**60.7**	**20.7**
18.8	Unknown	-	-	0.3	0.0124			0.0	0.0124
21.2	**Molidustat**	**36.5**	**10.7**	**35.8**	**1.48**			**35.8**	**12.2**
22.8	**M-4**	**-**	**-**	**0.9**	**0.0372**			**0.1**	**0.0372**
Compounds balanced		100.0	29.3	100.0	4.13			98.1	33.4
Compounds identified		**98.4**	**28.8**	**99.1**	**4.10**			**96.6**	**32.9**

a = no workup for these samples were performed due to low radioactivity concentration

$\%A_{E,ur}(t_1-t_2)$ = percent amount excreted of administered dose into urine within time interval

Test article: Molidustat

Table 9-6: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in feces (mass balance studies) of intact male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous	Gender / no.:	male / 5	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	1 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Feces	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v), pH 5.0		

Animal No. (pool)				**158-162**			
Collection interval [h]			**0-24**	**24-144[a]**		**0-144[b]**	
$\%A_{E,fec}(t_1-t_2)$ [% of dose]			**43.0**	**1.20**		**44.2**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose
13.3	Unknown	1.1	0.473			0.9	0.473
19.0	Unknown	1.0	0.430			0.9	0.430
21.0	**Molidustat**	**94.4**	**40.6**			**91.9**	**40.6**
21.8	**M-4**	**3.5**	**1.51**			**3.4**	**1.51**
Compounds balanced		100.0	43.0			97.2	43.0
Compounds identified		**97.9**	**42.1**			**95.3**	**42.1**

a = no workup for these samples were performed due to low radioactivity concentration

b = at time intervals >144 h excreted radioactivity below LOQ

$\%A_{E,fec}(t_1-t_2)$ = percent amount excreted of administered dose into feces within time interval

Test article: Molidustat

Table 9-7: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in feces (mass balance studies) of intact male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 5			Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	5 mg/kg						
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Feces	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v), pH 5.0				
Animal No. (pool)					**163-167**				
Collection interval [h]		**0-24**		**24-48**		**48-120[a]**		**0-120[b]**	
%$A_{E,fec}(t_1-t_2)$ [% of dose]		**62.5**		**1.38**		**0.120**		**64.0**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose
13.3	Unknown	1.1	0.688	-	-			1.1	0.688
16.8	Unknown	0.6	0.375	-	-			0.6	0.375
18.3	Unknown	0.3	0.188	-	-			0.3	0.188
19.0	Unknown	0.5	0.313	-	-			0.5	0.313
21.0	**Molidustat**	**94.9**	**59.3**	**96.7**	**1.33**			**94.7**	**60.6**
21.8	**M-4**	**2.7**	**1.69**	**3.3**	**0.0455**			**2.7**	**1.74**
Compounds balanced		100.1	62.6	100.0	1.38			-	64.0
Compounds identified		**97.6**	**61.0**	**100.0**	**1.38**			**-**	**62.3**

a = no workup for these samples were performed due to low radioactivity concentration

b = at time intervals >120 h excreted radioactivity below LOQ

%$A_{E,fec}(t_1-t_2)$ = percent amount excreted of administered dose into feces within time interval

Test article: Molidustat

Table 9-8: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in bile (mass balance studies) in bile duct-cannulated male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous	Gender / no.:	male / 5	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	1 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Bile	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v), pH 5.0		

Animal No.		**168**		**169**		**170**		**171**		**172**		**168-172**	
Collection interval [h]								**0-24**					
$\%A_{E,bile}(0\text{-}t_{last})$ [% of dose]		**11.7**		**4.60**		**51.3**		**9.19**		**31.7**		**21.7**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose
12.8	Unknown	0.1	0.0130	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0	0.00260
17.2	**M-3**	**-**	**-**	**-**	**-**	**0.1**	**0.0317**	**-**	**-**	**-**	**-**	**0.0**	**0.00634**
18.3	**M-1**	**92.3**	**10.8**	**89.1**	**4.10**	**97.5**	**50.0**	**90.9**	**8.35**	**94.0**	**29.8**	**94.9**	**20.6**
20.7	**Molidustat**	**7.9**	**0.919**	**10.8**	**0.496**	**2.7**	**1.41**	**9.1**	**0.836**	**5.9**	**1.88**	**5.1**	**1.11**
Compounds balanced		100.3	11.7	99.9	4.60	100.3	51.4	100.0	9.19	99.9	31.7	100.0	21.7
Compounds identified		**100.2**	**11.7**	**99.9**	**4.60**	**100.3**	**51.4**	**100.0**	**9.19**	**99.9**	**31.7**	**100.0**	**21.7**

$\%A_{E,bile}(t_1\text{-}t_2)$ = percent amount excreted of administered dose into bile within time interval

Test article: Molidustat

Table 9-9: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in urine (mass balance studies) in bile duct-cannulated male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous	Gender / no.:	male / 5	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	1 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Urine	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v), pH 5.0		

Animal No.		**168**		**169**		**170**		**171**		**172**		**168-172**	
Collection interval [h]							**0-24**						
$\%A_{E,ur}(0\text{-}t_{last})$ [% of dose]		**68.4**		**74.1**		**35.3**		**70.6**		**46.8**		**59.0**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose
5.3	Unknown	-	-	< 0.01	0.0179	-	-	-	-	-	-	< 0.01	0.00358
13.3	Unknown	-	-	-	-	0.8	0.272	-	-	-	-	0.1	0.0544
17.5	Unknown	0.1	0.0361	0.1	0.0536	-	-	-	-	-	-	< 0.01	0.0179
18.5	**M-1**	**77.0**	**52.7**	**73.7**	**54.6**	**71.1**	**25.1**	**78.0**	**55.1**	**87.6**	**41.0**	**77.5**	**45.7**
21.2	**Molidustat**	**22.2**	**15.2**	**25.0**	**18.5**	**22.9**	**8.09**	**21.2**	**15.0**	**11.9**	**5.59**	**21.2**	**12.5**
22.2	**M-4**	**0.7**	**0.510**	**1.1**	**0.797**	**5.4**	**1.91**	**0.8**	**0.571**	**0.4**	**0.203**	**1.4**	**0.803**
Compounds balanced		100.0	68.4	99.9	74.0	100.2	35.4	100.0	70.7	100.0	46.8	100.2	59.1
Compounds identified		**99.9**	**68.4**	**99.8**	**73.9**	**99.4**	**35.1**	**100.0**	**70.7**	**99.9**	**46.8**	**100.1**	**59.0**

$\%A_{E,ur}(t_1\text{-}t_2)$ = percent amount excreted of administered dose into urine within time interval

Test article: Molidustat

Table 9-10: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in feces (mass balance studies) in bile duct-cannulated male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Intravenous	Gender / no.:	male / 5					Assay:	HPLC-LSC		
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	1 mg/kg										
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Feces	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v), pH 5.0								
Animal No.		**168**		**169**		**170**		**171**		**172**		**168-172**	
Collection interval [h]							**0-24**						
$\%A_{E,fec}$(0-t_{last}) [% of dose]		**8.95**		**15.4**		**11.8**		**12.2**		**8.70**		**11.4**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose
5.00	Unknown	0.8	0.0716	0.9	0.139	1.2	0.142	0.9	0.110	0.8	0.0696	0.9	0.106
21.0	**Molidustat**	**96.0**	**8.59**	**97.4**	**15.0**	**97.3**	**11.5**	**97.2**	**11.9**	**97.0**	**8.44**	**97.4**	**11.1**
21.8	**M-4**	**3.2**	**0.286**	**1.7**	**0.262**	**1.5**	**0.177**	**1.9**	**0.232**	**2.2**	**0.191**	**2.0**	**0.230**
Compounds balanced		100.0	8.95	100.0	15.4	100.0	11.8	100.0	12.2	100.0	8.70	100.3	11.4
Compounds identified		**99.2**	**8.88**	**99.1**	**15.3**	**98.8**	**11.7**	**99.1**	**12.1**	**99.2**	**8.63**	**99.4**	**11.3**

$\%A_{E,fec}(t_1\text{-}t_2)$ = percent amount excreted of administered dose into feces within time interval

Test article: Molidustat

Table 9-11: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in bile (mass balance studies) in bile duct-cannulated male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 5	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	5 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Bile	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v), pH 5.0		

Animal No. (pool)				**173, 174, 176, 177**			
Collection interval [h]		**0-8**		**8-24**		**0-24**	
$\%A_{E,bile}(t_1\text{-}t_2)$ [% of dose]		**32.2**		**5.26**		**37.4**	
Retention Time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose
17.2	**M-3**	**-**	**-**	**2.4**	**0.126**	**0.3**	**0.126**
18.3	**M-1**	**96.2**	**31.0**	**95.4**	**5.02**	**96.3**	**36.0**
20.7	**Molidustat**	**3.5**	**1.13**	**1.5**	**0.0789**	**3.2**	**1.21**
21.8	**M-4**	**0.3**	**0.0966**	**0.7**	**0.0368**	**0.4**	**0.133**
Compounds balanced		100.0	32.2	100.0	5.26	100.2	37.5
Compounds identified		**100.0**	**32.2**	**100.0**	**5.26**	**100.2**	**37.5**

$\%A_{E,bile}(t_1\text{-}t_2)$ = percent amount excreted of administered dose into bile within time interval

Test article: Molidustat

Table 9-12: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in urine (mass balance studies) in bile duct-cannulated male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 4	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	5 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Urine	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v), pH 5.0		

Animal No. (pool)				**173, 174, 176, 177**			
Collection interval [h]		**0-8**		**8-24**		**0-24**	
%$A_{E,ur}(t_1-t_2)$ [% of dose]		**27.3**		**8.06**		**35.4**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose
17.5	Unknown	-	-	1.0	0.0806	0.2	0.0806
18.5	**M-1**	**88.4**	**24.1**	**91.6**	**7.38**	**89.0**	**31.5**
21.2	**Molidustat**	**11.0**	**3.00**	**5.3**	**0.427**	**9.7**	**3.43**
21.5	Unknown	-	-	0.8	0.0645	0.2	0.0645
22.2	**M-4**	**0.6**	**0.164**	**1.3**	**0.105**	**0.8**	**0.269**
Compounds balanced		100.0	27.3	100.0	8.06	99.9	35.3
Compounds identified		**100.0**	**27.3**	**98.2**	**7.91**	**99.5**	**35.2**

%$A_{E,ur}(t_1-t_2)$ = percent amount excreted of administered dose into urine within time interval

Test article: Molidustat

Table 9-13: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in feces (mass balance studies) in bile duct-cannulated male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Species / strain:	Rat / Wistar	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 4	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	5 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Feces	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v), pH 5.0		

Animal No. (pool)		**173, 174, 176, 177**	
Collection interval [h]		**0-24**	
%$A_{E,fec}(t_1-t_2)$ [% of dose]		**17.2**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose
21.0	**Molidustat**	**95.1**	**16.4**
21.8	**M-4**	**4.9**	**0.843**
Compounds balanced		100.0	17.2
Compounds identified		**100.0**	**17.2**

%$A_{E,fec}(t_1-t_2)$ = percent amount excreted of administered dose into feces within time interval

Test article: Molidustat

Table 9-14: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in excreta (mass balance studies) in male rats

Location: 4.2.2.4.11
Report no.: PH-37951

Number of animals	5		5		5			4		
Route of administration	IV		PO		IV/BDC			PO/BDC		
Dose [mg/kg b.w.]	1		5		1			5		
Samples analyzed	Urine	Feces	Urine	Feces	Urine[a]	Feces[a]	Bile[a]	Urine	Feces	Bile
$\%A_E(0\text{-}t_{last})$ [% of dose]	45.8	44.2	34.1	64.0	59.0	11.4	21.7	35.4	17.2	37.4
$\%A_{E,ur+fec}(0\text{-}t_{last})$ [% of dose]	**90.5**		**98.1**			-			-	
$\%A_{E,ur+fec+bile}(0\text{-}t_{last})$ [% of dose]	-		-			**92.1**			**90.0**	
Identification	[% of dose]									
Molidustat	23.5	40.6	12.2	60.6	12.5	11.1	1.11	3.43	16.4	1.21
M-1	20.3	-	20.7	-	45.7	-	20.6	31.5	-	36.0
M-3	-	-	-	-	-	-	0.00634	-	-	0.126
M-4	0.862	1.51	0.0372	1.74	0.798	0.230	-	0.269	0.843	0.133
Other	0.500	0.903	0.500	1.60	0.100	0.100	-	0.100	-	-
Calculated	45.2	43.0	33.4	63.9	59.1	11.4	21.7	35.3	17.2	37.5
Calculated total	**88.2**		**97.4**			**92.2**			**90.0**	

a = arithmetic mean of individual samples

$\%A_E$ = percent amount excreted of administered dose

Test article: Molidustat

Table 9-15: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Unchanged compound and radioactive metabolites in plasma of female dogs

Location: 4.2.2.4.12
Report no.: PH-38036

Species / strain:	Dog / Beagle	Route:	Intravenous	Gender / no.:	female / 3	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	3 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Plasma	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v), pH 5.0		

Time point [h]		**Total radioactivity [µg-eq/L]**	**Molidustat [µg-eq/L]**	**M-1 [µg-eq/L]**
0.25		5470	5130	324
1		3890	1320	2540
2		2460	397	2050
3		1410	161	1250
4		744	62.4	668
6		212	15.0	197
8		107	-	107
12		63.8	-	63.8
15		50.0	-	-
24		34.5	-	-
48		26.3	-	-
72		21.6	-	-
96		18.8	-	-
120		17.2	-	-
144		16.4	-	-
168		14.3	-	-
336		7.65	-	-
504		4.34	-	-
672		2.70	-	-
AUC	[µg-eq·h/L]	19100	3960	7690
	[%]		**20.7**	**40.3**
AUC(0-t_{last})	[µg-eq·h/L]	18600	3940	7350
	[%]		**21.2**	**39.5**
t_{last}	[h]	672	6	12
AUC(0-12)	[µg-eq·h/L]	11700	3940	7360
	[%]	**60.6**	**33.7**	**62.9**
%AUC($t_{last-inf}$)	[%]	3.0	0.4	4.4
C_{max}	[µg-eq/L]	5470	5130	2540
t_{max}	[h]	0.25	0.25	1
$t_{½}$	[h]	2.15 / 175	0.849	3.86
Rpoints		8 /11	4	3
Rrange		1-15 / 15-672	2-6	6-12

Test article: Molidustat

Table 9-16: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Unchanged compound and radioactive metabolites in plasma of female dogs

Location: 4.2.2.4.12
Report no.: PH-38036

Species / strain:	Dog / Beagle	Route:	Oral	Gender / no.:	female / 3	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	1.5 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Plasma	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

Time point [h]		**Total radioactivity [µg-eq/L]**	**Molidustat [µg-eq/L]**	**M-1 [µg-eq/L]**
0.25		1190	765	408
1		1570	352	1210
2		1080	163	907
3		677	71.4	599
4		416	32.6	384
6		136	14.2	122
8		58.1	6.57	51.5
12		22.9	2.73	20.2
15		15.5	-	-
24		8.97	-	-
32		7.10	-	-
48		5.73	-	-
72		4.70	-	-
96		4.27	-	-
120		3.84	-	-
144		3.25	-	-
168		3.02	-	-
AUC	[µg-eq·h/L]	5770	987	3720
	[%]		**17.1**	**64.5**
AUC(0-t_{last})	[µg-eq·h/L]	5550	982	3690
	[%]		17.7	66.5
t_{last}	[h]	168	12	12
AUC(0-12)	[µg-eq·h/L]	4730	982	3690
	[%]	**77.4**	**20.8**	**78.0**
%AUC($t_{last-inf}$)	[%]	3.9	0.5	1.0
C_{max}	[µg-eq/L]	1570	765	1210
t_{max}	[h]	1	0.25	1
$t_{½}$	[h]	1.82 / 66.2	1.75	1.75
Rpoints		5 / 10	6	6
Rrange		3-12 / 12-168	2-12	2-12

Test article: Molidustat

Table 9-17: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in urine (mass balance studies) in female dogs

Location: 4.2.2.4.12
Report no.: PH-38036

Species / strain:	Dog / Beagle	Route:	Intravenous	Gender / no.:	female / 3	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	3 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Urine	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v), pH 5.0		

Animal No.		**P497**		**P498**		**P499**		**Arithmetic Mean**	
Collection interval [h]						**0-168**			
$\%A_{E,ur}(0\text{-}t_{last})$ [% of dose]		**81.4**		**78.7**		**86.0**		**82.0**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity.	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose
6.0	Unknown	0.1	0.0912	-	-	-	-	0.0	0.0304
7.5	Unknown	0.2	0.144	-	-	0.0	0.0377	0.1	0.0606
12.3	Unknown	0.1	0.0570	0.1	0.0758	-	-	0.1	0.0443
12.8	Unknown	0.5	0.391	0.5	0.379	0.7	0.609	0.6	0.460
16.7	Unknown	2.5	2.05	1.1	0.867	1.5	1.28	1.7	1.40
17.3	**M-3**	**4.8**	**3.90**	**4.2**	**3.30**	**4.0**	**3.44**	**4.3**	**3.55**
18.2	**M-1**	**69.8**	**56.8**	**92.4**	**72.7**	**78.6**	**67.6**	**80.1**	**65.7**
18.8	Unknown	0.3	0.206	-	-	0.2	0.192	0.2	0.133
20.7	**Molidustat**	**17.1**	**13.9**	**0.6**	**0.465**	**12.0**	**10.3**	**10.0**	**8.22**
22.2	**M-4**	**4.6**	**3.73**	**0.7**	**0.559**	**2.7**	**2.35**	**2.7**	**2.21**
Compounds balanced		100.0	81.3	99.6	78.3	99.7	85.8	99.8	81.8
Compounds identified		**96.3**	**78.3**	**97.9**	**77.0**	**97.3**	**83.7**	**97.1**	**79.7**

$\%A_{E,ur}(0\text{-}t_{last})$ = percent amount excreted of administered dose into urine from zero to last time point

Test article: Molidustat

Table 9-18: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in urine (mass balance studies) in female dogs

Location: 4.2.2.4.12
Report no.: PH-38036

Species / strain:	Dog / Beagle	Route:	Oral	Gender / no.:	female / 3	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	1.5 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Urine	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)		

Animal No.		**P497**		**P498**		**P499**		**Arithmetic mean**	
Collection interval [h]						**0-168**			
%$A_{E,ur}$(0-t_{last}) [% of dose]		**81.7**		**76.0**		**75.5**		**77.7**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose
12.8	Unknown	0.3	0.284	0.4	0.305	0.4	0.325	0.4	0.305
16.7	Unknown	0.2	0.176	0.0	0.0000	0.1	0.0382	0.1	0.0714
17.3	**M-3**	**2.8**	**2.30**	**1.4**	**1.03**	**1.5**	**1.14**	**1.9**	**1.49**
18.2	**M-1**	**84.7**	**69.2**	**94.9**	**72.1**	**87.4**	**66.0**	**88.9**	**69.1**
18.8	Unknown	0.2	0.148	0.2	0.125	0.2	0.153	0.2	0.142
20.7	**Molidustat**	**9.9**	**8.09**	**2.1**	**1.61**	**6.6**	**4.99**	**6.3**	**4.90**
22.2	**M-4**	**0.8**	**0.646**	**0.5**	**0.378**	**0.8**	**0.576**	**0.7**	**0.533**
Compounds balanced		98.9	80.8	99.5	75.5	97.0	73.2	98.5	76.5
Compounds identified		**98.2**	**80.2**	**98.9**	**75.1**	**96.3**	**72.7**	**97.8**	**76.0**

%$A_{E,ur}$(0-t_{last}) = percent amount excreted of administered dose into urine from zero to last time point

Test article: Molidustat

Table 9-19: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in feces (mass balance studies) in female dogs

Location: 4.2.2.4.12
Report no.: PH-38036

Species / strain:	Dog / Beagle	Route:	Intravenous	Gender / no.:	female / 3	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	3 mg/kg				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Feces	Formulation:	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v), pH 5.0		

Animal No. (pool)					**P497-499**		
Collection interval [h]			**0-24**		**24-168[a,b]**		**0-168**
Work up recovery [%]			**90.2**				
Excretion [% of dose]			**13.1**		**1.20**		**14.3**
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose
4.8	Unknown	4.8	0.629			4.4	0.629
17.2	**M-3**	**0.8**	**0.105**			0.7	0.105
20.8	**Molidustat**	**87.6**	**11.5**			80.4	11.5
22.2	**M-4**	**6.8**	**0.891**			6.2	0.891
Compounds balanced		100.0	13.1			91.7	13.1
Compounds identified		**95.2**	**12.5**			**87.3**	**12.5**

a = at time intervals >120 h excreted radioactivity below LOQ

b = due to low radioactivity no workup for these samples performed

Test article: Molidustat

Table 9-20: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in feces (mass balance studies) in female dogs

Location: 4.2.2.4.12
Report no.: PH-38036

Species / strain:	Dog / Beagle	Route:	Oral	Gender / no.:	female / 3			Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	1.5 mg/kg						
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Feces	Formulation:	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)				
Animal No. (pool)					**P497-P499**				
Collection interval [h]			**0-24**		**24-48**		**48-168[a,b]**		**0-168**
Excretion [% of dose]			**13.4**		**1.03**		**0.070**		**14.5**
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose	% of radioactivity	% of dose
17.2	**M-3**	**8.5**	**1.14**	**5.1**	**0.0525**			**8.2**	**1.19**
17.8	Unknown	0.6	0.0804	-	-			0.6	0.0804
18.2	Unknown	0.7	0.0938	-	-			0.6	0.0938
18.7	Unknown	2.3	0.308	-	-			2.1	0.308
19.3	Unknown	0.5	0.0670	-	-			0.5	0.0670
20.8	**Molidustat**	**78.7**	**10.5**	**91.0**	**0.937**			**78.6**	**11.4**
22.2	**M-4**	**8.7**	**1.17**	**3.9**	**0.0402**			**8.3**	**1.21**
Compounds balanced		100.0	13.4	100.0	1.03			98.9	14.3
Compounds identified		**95.9**	**12.8**	**100.0**	**1.03**			**95.1**	**13.8**

a = at time intervals >120 h excreted radioactivity below LOQ
b = due to low radioactivity no workup for these samples performed

Test article: Molidustat

Table 9-21: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in excreta (mass balance studies) in female dogs

Location: 4.2.2.4.12
Report no.: PH-38036

Number of animals		**3**			**3**	
Route of administration		**IV**			**PO**	
Collection interval [h]	**0-168**		**0-168[a]**	**0-168**		**0-168[a]**
Samples analyzed	**Urine**		**Feces**	**Urine**		**Feces**
%A_E(0-t_{last}) [% of dose]	**82.0**		**14.3**	**77.7**		**14.5**
%$A_{E,ur+fec}$(0-t_{last}) [% of dose]		**96.3**			**92.2**	
Identification			[% of dose]			
Molidustat	**8.22**		**11.5**	**4.90**		**11.4**
M-1	**65.7**		**-**	**69.1**		**-**
M-3	**3.55**		**0.105**	**1.49**		**1.19**
M-4	**2.21**		**0.891**	**0.533**		**1.21**
Other	2.10		0.600	1.00		0.500
Calculated	81.8		13.1	77.0		14.3
Calculated total		**94.9**			**91.3**	

a = at time intervals >120 h excreted radioactivity below LOQ

%A_E(0-t_{last}) = percent amount excreted of administered dose from zero to last time point

Test article: Molidustat

Table 9-22: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Unchanged compound and radioactive metabolites in plasma of human

Location: 4.2.2.4.13
Report no.: PH-38218

Species / strain:	Human / Caucasian	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 4	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	25 mg/subject				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Plasma	Formulation:	polyethylene glycol, polysorbate 20, levomenthol		

Time [h]		Subject 001 Total radioactivity [µg-eq/L]	Subject 001 Molidustat [µg-eq/L]	Subject 001 M-1 [µg-eq/L]	Subject 002 Total radioactivity [µg-eq/L]	Subject 002 Molidustat [µg-eq/L]	Subject 002 M-1 [µg-eq/L]
0.25		426	264	162	234	196	37.3
0.5		568	166	402	379	242	136
1		626	78.0	548	539	190	349
2		474	37.4	437	397	86.0	311
3		345	23.0	322	302	54.2	248
4		248	16.6	231	219	36.3	183
8		58.4	-	58.4	57.1	6.40	50.7
12		20.8	-	-	22.8	2.54	20.2
15		12.7	-	-	11.9	-	11.9
AUC	[µg-eq·h/L]	2480	270	2150	2120	522	1600
	[%]		**10.9**	**86.7**		**24.6**	**75.5**
AUC(0-t_{last})	[µg-eq·h/L]	2440	249	1970	2090	517	1560
	[%]		10.2	80.7		24.7	74.6
t_{last}	[h]	15	4	8	15	12	15
AUC(0-15h)	[µg-eq·h/L]	2440	n.c.	n.c.	2090	n.c.	1560
%AUC($t_{last-inf}$)	[%]	1.4	8	8.1	1.8	1	2.4
C_{max}	[µg-eq/L]	626	264	548	539	242	349
t_{max}	[h]	1	0.25	1	1	0.5	1
$t_{½}$	[h]	2.40	1.10	2.05	2.52	1.80	2.67
RPoints		6	5	4	6	6	6
RRange	[h]	2-15	0.5-4	2-8	2-15	1-12	2-15

Test article: Molidustat

Table 9-22: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Unchanged compound and radioactive metabolites in plasma of human (continued)

Location: 4.2.2.4.13
Report no.: PH-38218

Species / strain:	Human / Caucasian	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 4	Assay:	HPLC-LSC
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	25 mg/subject				
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Plasma	Formulation:	polyethylene glycol, polysorbate 20, levomenthol		

Time [h]		Subject 003 Total radioactivity [µg-eq/L]	Subject 003 Molidustat [µg-eq/L]	Subject 003 M-1 [µg-eq/L]	Subject 004 Total radioactivity [µg-eq/L]	Subject 004 Molidustat [µg-eq/L]	Subject 004 M-1 [µg-eq/L]
0.25		511	416	94.9	165	156	8.87
0.5		607	325	282	188	141	47.5
1		650	152	498	504	371	133
2		562	48.2	514	504	110	394
3		461	44.2	417	415	74.8	340
4		376	32.6	343	325	47.6	278
8		129	7.69	121	92.1	6.45	85.6
12		51.2	-	51.2	37.5	-	37.5
15		30.0	-	30.0	21.8	-	21.8
24		9.22	-	-			
AUC	[µg-eq·h/L]	3620	515	3020	2710	647	2050
	[%]		**14.2**	**83.4**		**23.9**	**75.6**
AUC(0-t_{last})	[µg-eq·h/L]	3590	502	2900	2640	633	1960
	[%]		14.0	80.8		24.0	74.2
t_{last}	[h]	24	8	15	15	8	15
AUC(0-15h)	[µg-eq·h/L]	3430	n.c.	2900	n.c.	1960	n.c.
	[%]			84.5		74.2	
AUC(0-24h)	[µg-eq·h/L]	3590	n.c.	n.c.			
%AUC($t_{last-inf}$)	[%]	1	2.6	4.1	2.8	2.1	4.1
C_{max}	[µg-eq/L]	650	416	514	504	371	394
t_{max}	[h]	1	0.25	2	1	1	2
$t_{½}$	[h]	3.56	1.54	3.09	2.76	1.45	2.96
RPoints		7	6	5	6	4	5
RRange	[h]	2-24	0.5-8	3-15	2-15	2-8	3-15

Test article: Molidustat

Table 9-23: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in urine (mass balance studies) in human

Location: 4.2.2.4.13
Report no.: PH-38218

Species / strain:	Human / Caucasian	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 4			Assay:	HPLC-LSC		
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	25 mg/subject								
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Urine	Formulation:	polyethylene glycol, polysorbate 20, levomenthol						
Subject		**001**		**002**		**003[a]**		**004**		**Arithmetic mean 001-004**	
Collection interval [h]						**0-120**					
$\%A_{E,ur}(t_0\text{-}t_{last})$ [% of dose]		**88.9**		**91.5**		**94.2**		**88.1**		**90.7**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity calc.	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose
14.3	M-5	0.5	0.462	0.1	0.0711	0.5	0.506	0.7	0.597	0.5	0.409
15.8	Unknown	-	-	-	-	-	-	0.2	0.181	0.0	0.0453
17.8	**M-1**	**97.6**	**86.8**	**92.0**	**84.2**	**96.7**	**91.1**	**89.2**	**78.6**	**93.9**	**85.2**
18.8	Unknown	-	-	0.7	0.630	0.4	0.397	0.8	0.669	0.5	0.424
20.0	Unknown	-	-	-	-	-	-	0.3	0.249	0.1	0.0621
21.0	**Molidustat**	**1.2**	**1.08**	**7.0**	**6.40**	**1.8**	**1.68**	**8.3**	**7.31**	**4.6**	**4.12**
22.2	Unknown	-	-	-	-	-	-	0.1	0.0775	0.0	0.0194
Compounds balanced		99.3	88.4	99.8	91.3	99.4	93.7	99.5	87.6	99.6	90.2
Compounds identified		**99.3**	**88.4**	**99.1**	**90.7**	**99.0**	**93.3**	**98.2**	**86.5**	**98.9**	**89.7**

a = excreted radioactivity 96-120 h was below LOQ

$\%A_{E,ur}(t_0\text{-}t_{last})$ = percent amount excreted of administered dose into urine from zero to last time point

Test article: Molidustat

Table 9-24: Pharmacokinetics: Metabolism in vivo, Metabolite pattern in feces (mass balance studies) in human

Location: 4.2.2.4.13
Report no.: PH-38218

Species / strain:	Human / Caucasian	Route:	Oral	Gender / no.:	male / 4			Assay:	HPLC-LSC		
Compound:	[^{14}C]molidustat	Dose:	25 mg/subject								
Analyte:	Radioactivity	Matrix:	Feces	Formulation:	polyethylene glycol, polysorbate 20, levomenthol						
Subject		**001**		**002**		**003[a]**		**004**		**Arithmetic mean 001-004**	
Collection interval [h]						**0-120**					
%$A_{E,fec}$(0-t_{last}) [% of dose]		**8.58**		**5.27**		**2.85**		**8.37**		**6.27**	
Retention time [min]	Identification	% of radioactivity calc.	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose	% of radioactivity calc.	% of dose
21.0	**Molidustat**	**97.9**	**8.40**	**86.7**	**4.57**	**74.4**	**2.12**	**99.2**	**8.30**	**93.3**	**5.85**
Compounds balanced		97.9	8.40	86.7	4.57	74.4	2.12	99.2	8.30	93.3	5.85
Compounds identified		**97.9**	**8.40**	**86.7**	**4.57**	**74.4**	**2.12**	**99.2**	**8.30**	**93.3**	**5.85**

a = excreted radioactivity 96-120 h was below LOQ

%$A_{E,fec}$(0-t_{last}) = percent amount excreted of administered dose into feces from zero to last time point

2.6.5.10 薬物動態試験： In Vitro 代謝

Test article: Molidustat

Table 10-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Species comparison in liver microsomes from different species

Location: 4.2.2.4.1
Report no.: PH-39293

Species / strain:	Various	Study type:	*in vitro*
Material:	Liver microsomes	Assay:	HPLC-LSC, HPLC-MS
Incubation time:	1 h		
Compound:	[^{14}C]molidustat		

Species		**Man (pool, mix)**		**Rat Wistar (m)**		**Rat Wistar (f)**		**Dog Beagle (f)**		**Monkey Cynomolgus (mix)**		**Mouse CD-1 (m)**		**Mouse NMRI (m)**		**Rabbit Himalaya (f)**	
Substrate concentration [µM]		1		1		1		1		1		1		1		1	
Time point [h]		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
NADPH		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
R_t [min]	Assignment	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
1.7																	2.5
9.0				1.6	1.6							1.1	1.5	1.1	1.5	1.6	
9.0	**M-2**																19.8
16.2	**Molidustat**	100.0	100.0	98.4	98.4	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	97.8	97.7	98.4	98.4	98.4	81.8
17.5												1.1	0.8	0.5			
Turnover			**-**		**-**		**-**		**-**		**-**				**-**		**22.3**

R_t = retention time

Test article: Molidustat

Table 10-2: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Species comparison in hepatocytes from different species

Location: 4.2.2.4.1
Report no.: PH-39293

Species / strain: Various
Material: Hepatocytes
Incubation time: 4 h
Compound: [^{14}C]molidustat
Study type: *in vitro*
Assay: HPLC-LSC, HPLC-MS

Species		**Man**		**Man**		**Rat Wistar (m)**		**Rat Wistar (m)**		**Dog Beagle (f)**		**Dog Beagle (f)**	
Substrate concentration [µM]		1		1		1		1		1		1	
Time point [h]		0	4	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4
R_t [min]	Assignment	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
9.0						3.7	0.8	1.7	1.7			1.2	2.0
13.5	**M-1**		9.5		15.5		31.0		22.9		8.4		3.8
16.2	**Molidustat**	100	90.5	100	84.5	96.3	68.2	98.3	75.3	100	91.6	98.8	94.2
Turnover			**9.5**		**15.5**		**31.8**		**24.7**		**8.4**		**5.8**

R_t = retention time

Test article: Molidustat

Table 10-3: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, UGT isoforms involved, recombinant UGT

Location: 4.2.2.4.2
Report no.: A51871

Species / strain: Human / n.a. Study type: *in vitro*
Material: Recombinant UGT isoforms Assay: HPLC-LSC
Compound: [^{14}C]molidustat

Human UGT	Concentration [µM]	Time [min]	M-1 [%]	M-1 formation [nmol/mL]	V [pmol M-1/(mg protein·min)]
UGT1A1	9.9	60	34.86	3.45	115.0
UGT1A3	9.9	60	1.78	0.18	5.9
UGT1A4	9.9	60	0.00	0.00	0.0
UGT1A6	9.9	60	0.00	0.00	0.0
UGT1A7	9.9	60	1.75	0.17	5.8
UGT1A8	9.9	60	2.06	0.20	6.8
UGT1A9	9.9	60	11.85	1.17	39.1
UGT1A10	9.9	60	0.00	0.00	0.0
UGT2B4	9.9	60	0.00	0.00	0.0
UGT2B7	9.9	60	0.00	0.00	0.0
UGT2B15	9.9	60	0.00	0.00	0.0
UGT2B17	9.9	60	0.00	0.00	0.0
UGT insect control	9.9	60	0.00	0.00	0.0

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 10-3: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, UGT isoforms involved, recombinant UGT (continued)

Location: 4.2.2.4.2
Report no.: A51871

Species / strain: Human / n.a. Study type: *in vitro*
Material: Recombinant UGT isoforms Assay: HPLC-LSC
Compound: [^{14}C]molidustat

Human UGT	Concentration [µM]	Time [min]	M-1 [%]	M-1 formation [nmol/mL]	V [pmol M-1/(mg protein·min)]
UGT1A1	1.0	60	39.02	0.39	13.01
UGT1A3	1.0	60	2.38	0.02	0.79
UGT1A4	1.0	60	0.00	0.00	0.00
UGT1A6	1.0	60	0.00	0.00	0.00
UGT1A7	1.0	60	3.65	0.04	1.22
UGT1A8	1.0	60	2.46	0.02	0.82
UGT1A9	1.0	60	17.97	0.18	5.99
UGT1A10	1.0	60	0.00	0.00	0.00
UGT2B4	1.0	60	0.00	0.00	0.00
UGT2B7	1.0	60	0.00	0.00	0.00
UGT2B15	1.0	60	0.00	0.00	0.00
UGT2B17	1.0	60	0.00	0.00	0.00
UGT insect control	1.0	60	0.00	0.00	0.00

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 10-4: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, UGT isoforms involved, recombinant UGT1A1 and 1A9 (concentration dependency)

Location: 4.2.2.4.2
Report no.: A51871

Species / strain: Human / n.a. Study type: *in vitro*
Material: Recombinant UGT1A1 and 1A9 isoforms Assay: HPLC-LSC
Compound: [^{14}C]molidustat

UGT1A1

N	Concentration [µM]	M-1 [%]	M-1 [nmol/mL]	V/c	V [pmol /(mg protein·min)]
2	96.6	15.62	15.09	10.41	1006
2	49.1	17.33	8.51	11.55	567.3
2	24.9	17.02	4.24	11.35	282.5
2	9.9	17.04	1.69	11.36	112.4
2	4.9	15.64	0.76	10.43	50.57
2	2.4	16.21	0.39	10.80	26.04

UGT1A9

N	Concentration [µM]	M-1 [%]	M-1 [nmol/mL]	V/c	V [pmol /(mg protein·min)]
2	96.6	10.69	10.32	3.56	344
2	49.1	12.61	6.19	4.20	206.3
2	24.9	14.58	3.63	4.86	121.0
2	9.9	14.36	1.42	4.79	47.3
2	4.9	14.30	0.69	4.77	23.12
2	2.4	15.46	0.37	5.15	12.42

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 10-5: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, UGT isoforms involved, human liver microsomes

Location: 4.2.2.4.2
Report no.: A51871

Species / strain: Human / n.a. Study type: *in vitro*
Material: Human liver microsomes Assay: HPLC-LSC
Compound: [^{14}C]molidustat Substrate concentration [µM]: 4.9

Inhibitor	Concentration [inhibitor] [µM]	M-1 [%]	mean	% control
Control (ACN)	-	14.10		
Control (ACN)	-	15.91	15.01	n.a.
Atazanavir	5	4.52		
Atazanavir	5	4.98	4.75	31.7
Hecogenin	10	15.93		
Hecogenin	10	15.49	15.71	104.7
Control (ACN: 20 mM NaOH 1:1)	-	19.04		
Control (ACN: 20 mM NaOH 1:1)	-	19.09	19.07	n.a.
Niflumic acid	5	14.25		
Niflumic acid	5	14.84	14.55	76.3
Mefenamic acid	10	17.47		
Mefenamic acid	10	17.42	17.45	91.5

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 10-6: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, UGT isoforms involved, human intestinal microsomes

Location: 4.2.2.4.2
Report no.: A51871

Species / strain: Human / n.a. Study type: *in vitro*
Material: Human intestinal microsomes Assay: HPLC-LSC
Compound: [^{14}C]molidustat Substrate concentration [µM]: 4.9

Inhibitor	Concentration [inhibitor] [µM]	M-1 [%]	mean	% control
Control (ACN)	-	7.32		
Control (ACN)	-	7.61	7.47	n.a.
Atazanavir	5	1.90		
Atazanavir	5	1.81	1.86	24.8
Hecogenin	10	7.93		
Hecogenin	10	7.90	7.92	106.0
Control (ACN: 20 mM NaOH 1:1)	-	10.19		
Control (ACN: 20 mM NaOH 1:1)	-	9.88	10.04	n.a.
Niflumic acid	5	9.36		
Niflumic acid	5	8.91	9.14	91.0
Mefenamic acid	10	8.68		
Mefenamic acid	10	8.78	8.73	87.0

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 10-7: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, UGT isoforms involved, human renal microsomes

Location: 4.2.2.4.2
Report no.: A51871

Species / strain: Human / n.a. Study type: *in vitro*
Material: Human renal microsomes Assay: HPLC-LSC
Compound: [^{14}C]molidustat Substrate concentration [µM]: 4.8

Inhibitor	Concentration [inhibitor] [µM]	M-1 [%]	mean	% control
Control (ACN)	-	16.92		
Control (ACN)	-	15.17	16.05	n.a.
Atazanavir	5	15.87		
Atazanavir	5	15.83	15.85	98.8
Hecogenin	10	16.93		
Hecogenin	10	15.93	16.43	102.4
Control (ACN: 20 mM NaOH 1:1)	-	16.17		
Control (ACN: 20 mM NaOH 1:1)	-	16.60	16.39	n.a.
Niflumic acid	5	3.09		
Niflumic acid	5	3.31	3.20	19.5
Mefenamic acid	10	11.34		
Mefenamic acid	10	11.80	11.57	70.6

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 10-8: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, UGT isoforms involved, human liver microsomes (concentration dependency)

Location: 4.2.2.4.2
Report no.: A51871

Species / strain: Human / n.a. Study type: *in vitro*
Material: Human liver microsomes Assay: HPLC-LSC
Compound: [^{14}C]molidustat

	Concentration		M-1	V/c	V
N	[µM]	[%]	[nmol/mL]		[pmol /(mg prot•min)]
2	49.1	15.43	7.58	10.29	505.1
2	24.9	17.50	4.36	11.66	290.4
2	9.9	18.82	1.86	12.55	124.1
2	4.9	16.84	0.82	11.23	54.45
2	2.4	17.26	0.42	11.50	27.72

n.a. = not applicable

2.6.5.11 薬物動態試験： 推定代謝経路

推定代謝経路については2.6.4.5を参照。

2.6.5.12 薬物動態試験： 薬物代謝酵素の誘導／阻害

Test article: Molidustat

Table 12-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, CYP Inhibitory Potential

Location: 4.2.2.4.3
Report no.: A51956

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS

CYP isoform	Substrate	Enzyme source	IC_{50} [µM]	IC_{50} positive control inhibitor [µM]
CYP1A1	Granisetron	Recombinant enzymes	5.0	0.09
CYP1A2	Phenacetin	Human liver microsomes	>150	2.1
CYP2A6	Coumarin	Human liver microsomes	>150	0.25
CYP2B6	Bupropion	Human liver microsomes	>150	0.46
CYP2C8	Amodiaquine	Human liver microsomes	>150	0.17
CYP2C9	Diclofenac	Human liver microsomes	>150	0.20
CYP2C19	Mephenytoin	Human liver microsomes	>150	0.29
CYP2D6	Dextromethorphan	Human liver microsomes	>150	0.20
CYP2E1	Chlorzoxazone	Human liver microsomes	>150	1.6
CYP2J2	Ebastine	Recombinant enzymes	>150	0.65
CYP3A4	Midazolam	Human liver microsomes	>150	0.0080
	Midazolam (30 min pre-incubation)	Human liver microsomes	>150	0.044
CYP3A4	Testosterone	Human liver microsomes	>150	0.011
	Testosterone (30 min pre-incubation)	Human liver microsomes	>150	0.068

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 12-2: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, CYP Inhibitory Potential

Location: 4.2.2.4.4
Report no.: PH-38686

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	M-1 (BAY 1163348)	Assay:	HPLC-MS/MS

CYP isoform	Substrate	Enzyme source	IC_{50} [µM]	IC_{50} positive control inhibitor [µM]
CYP1A1	Granisetron	Recombinant enzymes	>1000	0.09
CYP1A2	Phenacetin	Human liver microsomes	>1000	2.1
CYP2A6	Coumarin	Human liver microsomes	>1000	0.25
CYP2B6	Bupropion	Human liver microsomes	>1000	0.46
CYP2C8	Amodiaquine	Human liver microsomes	>1000	0.17
CYP2C9	Diclofenac	Human liver microsomes	>1000	0.20
CYP2C19	Mephenytoin	Human liver microsomes	>1000	0.29
CYP2D6	Dextromethorphan	Human liver microsomes	621	0.20
CYP2E1	Chlorzoxazone	Human liver microsomes	>1000	1.6
CYP2J2	Ebastine	Recombinant enzymes	>1000	0.65
CYP3A4	Midazolam	Human liver microsomes	>1000	0.0080
	Midazolam (30 min pre-incubation)	Human liver microsomes	>1000	0.044
CYP3A4	Testosterone	Human liver microsomes	>1000	0.017
	Testosterone (30 min pre-incubation)	Human liver microsomes	>1000	0.15

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 12-3: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, CYP Inhibitory Potential

Location: 4.2.2.4.5
Report no.: PH-40765

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat), M-1 (BAY 1163348)	Assay:	HPLC-MS/MS

CYP isoform	Substrate	Reaction	IC_{50} for Molidustat [µM]	IC_{50} for M-1 [µM]	IC_{50} positive control inhibitor [µM]
CYP1A2	Phenacetin	30 min pre-incubation / - NADPH	>100	>100	>2.5
		30 min pre-incubation / + NADPH	>100	>100	0.57
CYP2B6	Bupropion	30 min pre-incubation / - NADPH	>100	>100	>1
		30 min pre-incubation / + NADPH	>100	>100	0.74
CYP2C8	Amodiaquine	30 min pre-incubation / - NADPH	>100	>100	6.5
		30 min pre-incubation / + NADPH	>100	>100	2.0
CYP2C9	Diclofenac	30 min pre-incubation / - NADPH	>100	>100	>0.1
		30 min pre-incubation / + NADPH	>100	>100	0.028
CYP2C19	Mephenytoin	30 min pre-incubation / - NADPH	>100	>100	>74
		30 min pre-incubation / + NADPH	>100	>100	44
CYP2D6	Dextromethorphan	30 min pre-incubation / - NADPH	>100	>100	0.48
		30 min pre-incubation / + NADPH	>100	>100	0.089

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 12-4: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, UGT Inhibitory Potential

Location: 4.2.2.4.6
Report no.: A51875

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	Molidustat	Assay:	HPLC-MS/MS

UGT isoform	Substrate / Product	IC_{50} [µM]
Various	β-Estradiol / β-Estradiol 17-glucuronide	>50
UGT1A1	β-Estradiol / β-Estradiol 3-glucuronide	>50
UGT1A4	Trifluoperazine / Trifluoperazine glucuronide	>50
UGT1A4	1'-Hydroxymidazolam / 1'-Hydroxymidazolam N-glucuronide	>50
UGT1A6	α−Naphthol / α−Naphthol glucuronide	>50
UGT1A9	Propofol / Propofol glucuronide	>50
UGT2B4	1'-Hydroxymidazolam / 1'-Hydroxymidazolam O-glucuronide	>50
UGT2B7	3'-Azido-3'-deoxythymidine / 3'-Azido-3'-deoxythymidine glucuronide	>50

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 12-5: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, UGT Inhibitory Potential

Location: 4.2.2.4.7
Report no.: PH-38919

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat), M-1 (BAY 1163348)	Assay:	HPLC-MS/MS

		Molidustat	**M-1**
UGT isoform	**Substrate / Product**	**IC_{50} [µM]**	**IC_{50} [µM]**
Various	β-Estradiol / β-Estradiol 17-glucuronide	>150	>555
UGT1A1	β-Estradiol / β-Estradiol 3-glucuronide	>150	>555
UGT1A1	SN-38 / SN-38 glucuronide	>150	>555
UGT1A4	Trifluoperazine / Trifluoperazine glucuronide	>150	>555
UGT1A4	1'-Hydroxymidazolam / 1'-Hydroxymidazolam N-glucuronide	>150	>555
UGT1A6	α−Naphthol / α−Naphthol glucuronide	>150	>555
UGT1A9	Propofol / Propofol glucuronide	>150	>555
UGT2B4	1'-Hydroxymidazolam / 1'-Hydroxymidazolam O-glucuronide	>150	>555
UGT2B7	Tarenflurbil / Tarenflurbil glucuronide	>150	>555

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 12-6: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Induction of CYP isoforms

			Location: 4.2.2.4.8 Report no.: A52830
Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human hepatocytes	Assay:	HPLC-MS/MS
Compound:	Molidustat		

CYP isoform	**Result**
CYP1A2 (activity)	No induction up to 10000 µg/L
CYP2B6 (activity)	No induction up to 10000 µg/L
CYP2C19 (activity)	No induction up to 10000 µg/L
CYP3A4 (activity)	No induction up to 10000 µg/L

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 12-7: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Induction of CYP isoforms

			Location:	4.2.2.4.9
			Report no.:	PH-39750
Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*	
Material:	Human hepatocytes	Assay:	qRT-PCR, HPLC-MS/MS	
Compound:	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat)			

CYP isoform	**Result**
CYP1A2 (mRNA / activity)	No induction up to 10000 µg/L
CYP2B6 (mRNA / activity)	No induction up to 10000 µg/L
CYP3A4 (mRNA / activity)	No induction up to 10000 µg/L

n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 12-8: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects on biotransformation of other drugs

Location: 4.2.2.4.14
Report no.: PH-40834

Species / strain:	Human / n.a.		Study type:	*in vitro*
Material:	Recombinant CYP1A1 and 3A4 isoforms			
Compound:	BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat)		Assay:	HPLC-MS/MS

Inhibitor	**Max. inhibitor concentration [µM]**	**CYP isoform**	**Mean IC_{50} [µM] (95% CI) on the formation of metabolite M-1 (BAY 60-4552) of riociguat**		
			Co-incubation	**Pre-incubation with NADPH generating system**	**Pre-incubation w/o NADPH generating system**
Molidustat	25	CYP1A1	1.3 (1.2-1.4)	2.2 (2.1-2.4)	1.7 (1.6-1.9)
	100	CYP3A4	72 (63-82)	>100 (n.c.)	91 (n.c.)

n.a. = not applicable
n.c. = not calculated
95% CI= 95% confidence interval

Test article: Molidustat

Table 12-9: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects on Biotransformation of other drugs

Location: 4.2.2.4.14
Report no.: PH-40834

Species / strain: Human / n.a. Study type: *in vitro*
Material: Human hepatocytes
Compound: BAY 1053048 (Sodium salt of molidustat) Assay: HPLC-MS/MS
In vitro rate constant of substrate loss (k), intrinsic clearance (CL_{int}), hepatic blood clearance (CL_h) and ratio of hepatic blood clearance values ($CL_{h,inh}/CL_{h,w/o\ inh}$) of 0.1 µM riociguat in the presence of molidustat (2-30 µM) incubated with human hepatocytes

Inhibitor	**Conc. [µM]**	**hHep Lot#**	**k [1/min]**	**CL_{int} [L/h/kg]**	**CL_h [L/h/kg]**	**Ratio CL_h ($CL_{h,inh}$/ $CL_{h,w/o\ inh}$)**
Control		B1470T	0.01354	1.88	0.77	-
(without inhibitor)		S1362T	0.00725	1.01	0.57	-
Molidustat	2	B1470T	0.01146	1.59	0.72	0.93
		S1362T	0.00638	0.88	0.53	0.93
Molidustat	5	B1470T	0.00933	1.29	0.65	0.84
		S1362T	0.00502	0.70	0.46	0.80
Molidustat	10	B1470T	0.00749	1.04	0.58	0.75
		S1362T	0.00418	0.58	0.40	0.71
Molidustat	20	B1470T	0.00523	0.72	0.47	0.60
		S1362T	0.00288	0.40	0.31	0.54
Molidustat	30	B1470T	0.00439	0.61	0.42	0.54
		S1362T	0.00227	0.31	0.25	0.45

n.a. = not applicable

2.6.5.13 薬物動態試験： 累積排泄

Test article: Molidustat

Table 13-1: Pharmacokinetics: Excretion, Rat

Location: 4.2.2.5.1
Report no.: A47089

Species / strain	Rat / Wistar			
Admin. compound	[^{14}C]molidustat			
Analyte	Radioactivity			
Assay	LSC			
Gender / No. of animals	male / 5	male / 5	male / 5	male / 4
Route of administration	IV	PO	IV	PO
Formulation	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v)	20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)
Dose [mg/kg]	1	5	1	5
Pretreatment			Bile duct cannulation	Bile duct cannulation
Duration [h]	168	168	24	24

	Excretion [% of dose]							
Matrix	**Mean [%] arithmetic**	CV [%]	**Mean [%] arithmetic**	CV [%]	**Mean [%] arithmetic**	CV [%]	**Mean [%] arithmetic**	CV [%]
Expired air	**n.p.**	n.p.	**2.38**	5.97	**n.p.**	n.p.	**n.p.**	n.p.
Urine	**45.8**	7.55	**34.1**	16.5	**59.0**	28.8	**35.4**	21.5
Bile	**n.p.**	n.p.	**n.p.**	n.p.	**21.7**	90.0	**37.4**	15.2
Feces	**44.2**	7.16	**64.0**	7.74	**11.4**	24.0	**17.2**	49.3
Cage wash	**0.977**	69.0	**0.189**	40.8	**2.41**	72.5	**2.67**	66.9
Expired air, rinsing	**n.p.**	n.p.	**0.284**	36.8	**n.p.**	n.p.	**n.p.**	n.p.
Body excluding GIT	**0.0285**	89.5	**0.0415**	9.20	**0.587**	12.8	**0.548**	35.7
GIT	**0.00462**	20.2	**n.c.**	n.c.	**0.618**	53.9	**2.24**	89.5
Body	**0.0331**	78.7	**0.0415**	9.20	**1.20**	27.1	**2.78**	78.5
Recovery	**91.0**	1.03	**101**	1.99	**95.7**	3.85	**95.4**	2.31

n.p. = not planned
n.c. = not calculated

Test article: Molidustat

Table 13-2: Pharmacokinetics: Excretion, Dog

			Location:	4.2.2.2.3
			Report no.:	PH-37979
Species / strain	Dog / Beagle			
Admin. Compound	[^{14}C] molidustat			
Analyte	Radioactivity			
Assay	LSC			
Gender / No. of animals	female / 3		female / 3	
Route of administration	IV		PO	
Formulation	10% Ethanol, 60% PEG 400, 30% Aqua demin. (v/v/v), pH 5.0		20% ethanol, 80% PEG 400 (v/v)	
Dose [mg/kg]	3		1.5	
Duration [h]	168		168	
	Excretion [% of dose]			
Matrix	Mean [%] arithmetic	CV [%]	Mean [%] arithmetic	CV [%]
Urine	82.0	4.51	77.8	4.40
Feces	14.3	8.71	14.5	3.24
Cage wash	2.81	49.4	3.56	37.7
Recovery	99.1	1.71	95.9	3.70

Test article: Molidustat

Table 13-3: Pharmacokinetics: Excretion, Human

Location: 4.2.2.4.13
Report no.: PH-38218

Species / strain	Human / Caucasian									
Admin. Compound	[^{14}C]molidustat									
Analyte	Radioactivity									
Assay	LSC									
Gender / No.	male / 4									
Route of administration	Oral									
Formulation	polyethylene glycol, polysorbate 20, levomenthol									
Dose [mg/subject]	25									
Subject	**001**		**002**		**003**		**004**		**Arithmetic mean (%CV) 001-004**	
Samples analyzed	Urine	Feces	Urine	Feces[a]	Urine[a]	Feces	Urine	Feces[a]	Urine	Feces
Collection interval [h]	0-120									
%A_E(0-t_{last}) [% of dose]	88.9	8.58	91.5	5.27	94.2	2.85	88.1	8.37	90.7 (2.76)	6.27 (2.73)
%$A_{E,ur+fec}$(0-t_{last}) [% of dose]	**97.5**		**96.8**		**97.0**		**96.5**		**97.0 (0.42)**	

a = excreted radioactivity 96-120 h was below LOQ

2.6.5.14 薬物動態試験： 胆汁中排泄

2.6.5.9 (Table 9-8～Table 9-14) 及び2.6.5.13 (Table 13-1) 参照。

2.6.5.15 薬物動態試験： 薬物相互作用

Test article: Molidustat

Table 15-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation of molidustat

Location: 4.2.2.6.1
Report no.: PH-39762

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS

Inhibitory potential of investigated compounds on formation of BAY 1163348 (M-1) *in vitro*

Inhibitor	Maximal inhibitor concentration [µM]	IC_{50} [µM]
Acetaminophen	200	> 200 (97.9% of control)[a]
Acyclovir	50	> 50.0 (102.6% of control)[a]
Allopurinol	50	> 50.0 (103.3% of control)[a]
Amiodarone	50	49.7
Amitriptyline	50	> 50.0 (84.9% of control)[a]
Anastrozole	50	> 50.0 (73.2% of control)[a]
Androsterone	50	44.0
Astemizole	50	23.5
Atazanavir	2	0.42
Atenolol	50	> 50.0 (107.3% of control)[a]
Atorvastatin	50	2.6
Axitinib	50	1.5
Azathioprin	50	> 50.0 (96.2% of control)[a]
Bergamottin	50	14.8
Bilirubin	50	1.5
Bupropion	50	> 50.0 (92.8% of control)[a]
Candesartan	50	> 50.0 (76.5% of control)[a]

Test article: Molidustat

Table 15-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation of molidustat (continued)

Location: 4.2.2.6.1
Report no.: PH-39762

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS

Inhibitory potential of investigated compounds on formation of BAY 1163348 (M-1) *in vitro*

Inhibitor	**Maximal inhibitor concentration [µM]**	**IC_{50} [µM]**
Captopril	50	> 50.0 (90.1% of control)[a]
Carbamazepine	50	> 50.0 (71.8% of control)[a]
Carmustine	50	> 50.0 (99.0% of control)[a]
Carvedilol	50	2.9
(±)-Catechin	50	> 50.0 (72.4% of control)[a]
Celecoxib	50	10.6
Cimetidine	50	> 50.0 (87.3% of control)[a]
Cisapride	50	4.1
Citalopram	50	> 50.0 (98.7% of control)[a]
Clarithromycin	50	> 50.0 (103.6% of control)[a]
Clomipramine	50	> 50.0 (90.4% of control)[a]
Clopidogrel	50	> 50.0 (50.6% of control)[a]
Clotrimazole	50	10.2
Clozapine	50	> 50.0 (73.1% of control)[a]
Codeine	25	> 25.0 (103.5% of control)[a]
Curcumin	50	2.2
Cyclophosphamide	200	> 200.0 (90.4% of control)[a]
Cyclosporin	20	4.9

Test article: Molidustat

Table 15-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation of molidustat (continued)

Location: 4.2.2.6.1
Report no.: PH-39762

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS

Inhibitory potential of investigated compounds on formation of BAY 1163348 (M-1) in vitro

Inhibitor	Maximal inhibitor concentration. [µM]	IC_{50} [µM]
Cytarabine	50	> 50.0 (98.5% of control)[a]
Dacarbazine	50	> 50.0 (107.0% of control)[a]
Daidzein	50	6.8
Dasatinib	50	1.4
Dexamethasone	50	> 50.0 (96.6% of control)[a]
Dextromethorphan	50	> 50.0 (98.2% of control)[a]
Diazepam	50	34.8
Diclofenac	50	38.2
Diflunisal	200	75.6
Diphenhydramine	50	> 50.0 (94.8% of control)[a]
Docetaxel	50	10.5
Domperidone	50	4.3
Doxorubicin	50	40.4
Droperidol	50	17.3
Duloxetine	50	> 50.0 (100.8% of control)[a]
Efavirenz	50	8.0
(-)-Epicatechin	50	> 50.0 (70.5% of control)[a]
(-)-Epigallocatechin	50	5.1
Epirubicin	50	> 50.0 (58.7% of control)[a]

Test article: Molidustat

Table 15-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation of molidustat (continued)

Location: 4.2.2.6.1
Report no.: PH-39762

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS

Inhibitory potential of investigated compounds on formation of BAY 1163348 (M-1) *in vitro*

Inhibitor	Maximal inhibitor concentration [µM]	IC_{50} [µM]
Erlotinib	2	0.13
Erythromycin	50	> 50.0 (84.3% of control)[a]
Escitalopram	50	> 50.0 (91.7% of control)[a]
17α-Ethynylestradiol	50	10.8
Etoposide	50	> 50.0 (69.5% of control)[a]
Everolimus	50	4.5
Exemestane	50	> 50.0 (52.5% of control)[a]
Febuxostat	50	7.2
Fenofibrate	50	> 50.0 (80.4% of control)[a]
Fluconazole	50	> 50.0 (102.1% of control)[a]
Fluoxetine	50	> 50.0 (112.1% of control)[a]
Flurbiprofen	200	> 200.0 (61.9% of control)[a]
Fluvastatin	50	13.4
Fluvoxamine	50	> 50.0 (96.9% of control)[a]
Furafylline	50	> 50.0 (83.6% of control)[a]
Gefitinib	50	1.8
Gemcitabine	50	> 50.0 (104.0% of control)[a]

Test article: Molidustat

Table 15-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation of molidustat (continued)

Location: 4.2.2.6.1
Report no.: PH-39762

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS

Inhibitory potential of investigated compounds on formation of BAY 1163348 (M-1) *in vitro*

Inhibitor	**Maximal inhibitor concentration [µM]**	**IC_{50} [µM]**
Gemfibrozil	100	> 100.0 (78.3% of control)[a]
Gemfibrozil-glucuronide	100	96.1
Genistein	50	2.3
Glybenclamide	50	6.3
Hecogenin	25	> 25.0 (59.9% of control)[a]
10-Hydroxy-carbamazepine	50	> 50.0 (79.1% of control)[a]
Ibuprofen	50	> 50.0 (97.0% of control)[a]
Ifosfamide	200	> 200.0 (92.3% of control)[a]
Imatinib	50	9.4
Imipramine	50	> 50.0 (111.2% of control)[a]
Indinavir	50	3.0
Irinotecan	50	> 50.0 (61.6% of control)[a]
Itraconazole	20	1.2
Ketoconazole	50	6.1
Ketoprofen	50	> 50.0 (104.6% of control)[a]
Lamotrigine	50	> 50.0 (91.2% of control)[a]
Lansoprazole	50	36.8
Lapatinib	50	2.5
Letrozole	50	> 50.0 (98.4% of control)[a]

Test article: Molidustat

Table 15-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation of molidustat (continued)

Location: 4.2.2.6.1
Report no.: PH-39762

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS
Table:	Inhibitory potential of investigated compounds on formation of BAY 1163348 (M-1) *in vitro*		

Inhibitor	**Maximal inhibitor concentration [µM]**	**IC_{50} [µM]**
Lidocaine	50	> 50.0 (87.1% of control)[a]
Loperamide	50	17.9
Lopinavir	2	1.3
Lovastatin	50	10.5
Mefenamic Acid	50	16.0
Mefloquine	50	> 50.0 (87.2% of control)[a]
6-Mercaptopurin	50	> 50.0 (96.8% of control)[a]
6α-Methylprednisolone	50	> 50.0 (86.1% of control)[a]
Metformin	50	> 50.0 (91.5% of control)[a]
Methotrexat i.v.	50	> 50.0 (99.4% of control)[a]
Methotrexat s.c.	50	> 50.0 (99.4% of control)[a]
Metoclopramide	50	> 50.0 (98.2% of control)[a]
Metoprolol	50	> 50.0(88.4% of control)[a]
Mevastatin	50	13.2
Mibefradil	50	20.2
Miconazole	50	19.3
Midazolam	50	11.1
Mifepristone	50	1.4

Test article: Molidustat

Table 15-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation of molidustat (continued)

Location: 4.2.2.6.1
Report no.: PH-39762

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS

Inhibitory potential of investigated compounds on formation of BAY 1163348 (M-1) *in vitro*

Inhibitor	Maximal inhibitor concentration [µM]	IC_{50} [µM]
Mitomycin C from streptomyces caespitosus	50	> 50.0 (80.6% of control)[a]
Montelukast	10	0.49
Morphine	50	> 50.0 (95.3% of control)[a]
Moxifloxacin	50	> 50.0 (108.0% of control)[a]
Mycophenolic acid	50	> 50.0 (76.6% of control)[a]
Naproxen	200	> 200.0 (87.9% of control)[a]
Naringenin	50	11.6
Nefazodone	50	11.4
Nelfinavir	50	1.5
Nevirapine	50	> 50.0 (83.6% of control)[a]
Nifedipine	50	1.7
Niflumic acid	50	14.6
Nilotinib	0.5	0.17
Omeprazole[b]	50	17.1
Ondansetron	50	> 50.0 (76.1% of control)[a]
Oxcarbazepine	50	> 50.0 (88.1% of control)[a]
Paclitaxel	50	10.8
Palonosetron	50	> 50.0 (91.3% of control)[a]
Pantoprazole	50	19.7

Test article: Molidustat

Table 15-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation of molidustat (continued)

Location: 4.2.2.6.1
Report no.: PH-39762

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS

Inhibitory potential of investigated compounds on formation of BAY 1163348 (M-1) *in vitro*

Inhibitor	**Maximal inhibitor concentration [µM]**	**IC_{50} [µM]**
Paroxetine	50	> 50.0 (95.5% of control)[a]
Perphenazine	50	> 50.0 (76.8% of control)[a]
Phenobarbital	50	> 50.0 (79.6% of control)[a]
Phenprocoumon	50	> 50.0 (64.7% of control)[a]
Phenylbutazone	50	> 50.0 (70.4% of control)[a]
Phenytoin (5,5-diphenylhydantoin)	50	> 50.0 (71.4% of control)[a]
Pitavastatin	50	14.8
Pravastatin	50	> 50.0 (126.8% of control)[a]
Prednisolone	50	> 50.0 (95.6% of control)[a]
Probenecid	200	> 200.0 (77.4% of control)[a]
Propofol	50	> 50.0 (75.8% of control)[a]
Propranolol	50	> 50.0(108.8% of control)[a]
Pseudoephedrine	50	> 50.0 (93.8% of control)[a]
Quercetin	50	5.5
Raloxifene	50	2.3
Ranitidine	50	> 50.0 (98.1% of control)[a]
Rifampicin	50	4.3
Ritonavir	10	0.60

Test article: Molidustat

Table 15-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation of molidustat (continued)

Location: 4.2.2.6.1
Report no.: PH-39762

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS

Inhibitory potential of investigated compounds on formation of BAY 1163348 (M-1) *in vitro*

Inhibitor	Maximal inhibitor concentration [µM]	IC_{50} [µM]
Rosiglitazone	50	10.7
Rosuvastatin	50	> 50.0 (61.1% of control)[a]
Saquinavir	2	0.50
Sertraline	50	> 50.0 (117.8% of control)[a]
Sildenafil	50	46.2
Simvastatin	50	15.1
SN-38 (7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin)	50	> 50.0 (82.3% of control)[a]
Sorafenib	1	0.30
Sulfamethazine	50	> 50.0 (91.2% of control)[a]
Sulfinpyrazone	50	31.4
Sulindac	50	> 50.0 (74.0% of control)[a]
Sulindac sulfone	50	37.5
(±)-Sulpiride	50	> 50.0 (100.2% of control)[a]
Sunitinib	50	18.7
Tamoxifen	50	> 50.0 (51.4% of control)[a]
Tacrolimus	5	0.70
Telmisartan	50	2.8
Terfenadine	50	> 50.0 (53.3% of control)[a]
Theophylline	100	> 100.0 (89.5% of control)[a]
Ticlopidine	50	> 50.0 (72.4% of control)[a]

Test article: Molidustat

Table 15-1: Pharmacokinetics: Metabolism in vitro, Inhibitory effects of other drugs on glucuronidation of molidustat (continued)

Location: 4.2.2.6.1
Report no.: PH-39762

Species / strain:	Human / n.a.	Study type:	*in vitro*
Material:	Human liver microsomes		
Compound:	BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)	Assay:	HPLC-MS/MS

I Inhibitory potential of investigated compounds on formation of BAY 1163348 (M-1) *in vitro*

Inhibitor	**Maximal inhibitor concentration [µM]**	**IC_{50} [µM]**
Tolbutamide	200	> 200.0 (88.9 of control)[a]
Tranilast	50	1.7
Troleandomycin	50	> 50.0 (57.4% of control)[a]
Tropisetron	50	> 50.0 (81.0% of control)[a]
Valproic acid	200	> 200.0 (87.6% of control)[a]
Verapamil	50	14.1
Warfarin	50	> 50.0 (75.6% of control)[a]
Zidovudine	50	> 50.0 (86.4% of control)[a]
Zomepirac	50	> 50.0 (84.0% of control)[a]

n.a. = not applicable

a = remaining activity at the highest test concentration

b = calculated for CYP2C19 PM (poor metabolizers)

2.6.5.16 薬物動態試験： その他

Test article: Molidustat

Table 16-1: Pharmacokinetics: Investigation on Cell Permeability of Molidustat in Caco-2 Cells

Location: 4.2.2.7.1
Report no.: PH-40723

Species: Human
Material: Caco-2 cells
Test compound: BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)
Study type: *in vitro*
Assay: HPLC-MS/MS

Test item (+ inhibitor)	Concentration	P_{app} A-B		P_{app} B-A		Efflux ratio	Recovery A-B		Recovery B-A	
Compound	[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	Mean [%]	SD [%]	Mean [%]	SD [%]
Molidustat	0.2	104	15.7	138	15.5	1.33	115	8.93	92.3	3.90
Molidustat	2	87.7	5.74	127	26.2	1.45	104	3.63	92.9	1.55
Molidustat	10	102	18.0	150	12.6	1.47	116	0.24	98.5	6.73
Molidustat + KO143 (1 µM)	0.2	102	7.31	75.8	14.2	0.74	99.5	12.7	82.8	5.61
Molidustat + KO143 (1 µM)	2	130	14.2	71.8	18.8	0.55	120	12.2	96.5	24.2
Molidustat + KO143 (1 µM)	10	125	8.33	77.4	9.05	0.62	110	8.60	85.5	1.96
Sulfasalazine	10	1.02	0.2	138	1.4	136	110	3.67	89.3	3.82
Atenolol	10	4.09	0.5	5.95	1.2	1.46	106	4.97	95.2	0.06

Test article: Molidustat

Table 16-2: Pharmacokinetics: In vitro studies in L-MDR1 cells to evaluate the P-gp substrate characteristics

Location: 4.2.2.7.2
Report no.: PH-40406

Species: Human
Material: L-MDR1, LLC-PK1
Test compound: BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)
Study type: *in vitro*
Assay: HPLC-MS/MS

Cell type	Molidustat	Inhibitor	Inhibitor Conc.	P_{app} A-B		P_{app} B-A		Efflux ratio	
	[µM]		[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD
LLC-PK1	2.00			54.4	2.98	256	72.7	4.72	1.36
L-MDR1	2.00			40.5	1.28	194	11.1	4.80	0.315
L-MDR1	2.00	Ivermectin	5	47.0	2.43	175	17.3	3.73	0.414
L-MDR1	0.200			36.4	1.53	82.0	5.04	2.25	0.168
L-MDR1	10.0			46.9	3.52	86.6	10.5	1.85	0.264

Test article: Molidustat

Table 16-3: Pharmacokinetics: In vitro studies in L-MDR1 cells to evaluate the inhibitory potency towards P-gp

Location: 4.2.2.7.2
Report no.: PH-40406

Species: Human
Material: L-MDR1
Test compound: BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)
Study type: *in vitro*
Assay: HPLC-MS/MS

Digoxin	**Inhibitor**	**Inhibitor concentration**	**P_{app} A-B**		**P_{app} B-A**		**Efflux ratio**	
[µM]		[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD
25.00	Control	0.00	2.90		82.6	13.3	28.4	4.59
25.00	Molidustat	0.100	3.46	0.333	77.8		22.5	1.95
25.00	Molidustat	1.00	4.57	0.488	76.7	5.98	16.8	2.26
25.00	Molidustat	3.00	3.03	0.05	73.8	6.35	24.3	2.11
25.00	Molidustat	10.0	5.63	0.742	79.5	4.00	14.1	1.89
25.00	Molidustat	30.0	3.79	0.184	77.8	0.585	20.5	1.09
25.00	Molidustat	100	4.83	0.339	80.3	6.65	16.6	1.73
25.00	Molidustat	300	4.08	0.228	83.2	6.87	20.4	1.96
IC_{50}		**>300**						

Test article: Molidustat

Table 16-4: Pharmacokinetics: In vitro studies in L-MDR1 cells to evaluate the inhibitory potency towards P-gp

Location: 4.2.2.7.2
Report no.: PH-40406

Species: Human
Material: L-MDR1
Test compound: BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)
Study type: *in vitro*
Assay: HPLC-MS/MS

Dipyridamole	**Inhibitor**	**Inhibitor concentration**	**P_{app} A-B**		**P_{app} B-A**		**Efflux ratio**	
[µM]		[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD
1.0	Control	0.00	16.9	1.30	561	22.3	33.2	2.88
1.0	Molidustat	0.100	20.1	2.90	580	35.7	28.9	4.53
1.0	Molidustat	1.00	20.9	1.00	547	38.7	26.3	2.24
1.0	Molidustat	3.00	20.8	1.60	554	11.7	26.7	2.13
1.0	Molidustat	10.0	19.3	0.00	560	6.88	29.0	0.357
1.0	Molidustat	30.0	20.6	1.40	635	9.55	26.2	2.14
1.0	Molidustat	100	23.6	2.02	719	9.43	30.5	2.62
1.0	Molidustat	300	34.0	9.47	622	60.7	18.3	5.43
IC_{50}		**>300**						

Test article: Molidustat

Table 16-5: Pharmacokinetics: In vitro studies in MDCKII-BCRP cells to evaluate the BCRP substrate characteristics

Location: 4.2.2.7.3
Report no.: PH-40647

Species: Human
Material: MDCKII-BCRP, MDCKII
Test compound: BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)
Study type: *in vitro*
Assay: HPLC-MS/MS

Molidustat concentration	Cell type	Inhibitor	Inhibitor conc.	P_{app} A-B		P_{app} B-A		Efflux ratio	
[µM]			[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD
1.0	MDCKII-BCRP			54.3	5.4	192.1	22.2	3.54	0.5
1.0	MDCKII-BCRP	Ko143	1	115.0	15.9	46.0	5.5	0.40	0.07
10.0	MDCKII-BCRP			56.5	4.8	178.7	4.6	3.16	0.3
30.0	MDCKII-BCRP			57.3	5.4	171.0	21.4	2.99	0.5
100.0	MDCKII-BCRP			61.2	3.6	127.0	12.8	2.08	0.2
300.0	MDCKII-BCRP			71.7	0.6	144.1	2.3	2.01	0.04
1.0	MDCKII			134.8	12.4	74.9	0.1	0.56	0.05
1.0	MDCKII	Ko143	1	131.8	7.9	76.5	6.2	0.58	0.06
10.0	MDCKII			148.1	4.2	74.9	6.9	0.51	0.05
30.0	MDCKII			128.5	15.2	86.7	5.4	0.67	0.09
100.0	MDCKII			130.9	12.0	87.3	7.1	0.67	0.08
300.0	MDCKII			130.0	9.4	95.4	1.7	0.73	0.05

Test article: Molidustat

Table 16-6: Pharmacokinetics: In vitro studies in MDCKII-BCRP cells to evaluate the BCRP substrate characteristics

Location: 4.2.2.7.3
Report no.: PH-40647

Species: Human
Material: MDCKII-BCRP, MDCKII
Test compound: BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)
Study type: *in vitro*
Assay: HPLC-MS/MS

Molidustat concentration	MDCKII-BCRP Efflux ratio		MDCKII Efflux ratio		MDCKII-BCRP/ MDCKII	
[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD
1.0	3.54	0.5	0.56	0.05	6.4	0.03
10.0	3.16	0.3	0.51	0.05	6.3	0.02
30.0	2.99	0.5	0.67	0.09	4.4	0.05
100.0	2.08	0.2	0.67	0.08	3.1	0.05
300.0	2.01	0.04	0.73	0.05	2.7	0.03

Test article: Molidustat

Table 16-7: Pharmacokinetics: In vitro studies in MDCKII-BCRP cells to evaluate the inhibitory potency towards BCRP

Location: 4.2.2.7.12
Report no.: PH-37357

Species: Human
Material: MDCKII-BCRP
Test compound: BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)
Study type: *in vitro*
Assay: HPLC-MS/MS

Topotecan	Inhibitor	Inhibitor concentration	P_{app} A-B		P_{app} B-A		Efflux ratio		% of control	
[µM]		[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD	Mean	SD
2	Control	0	7.77	0.406	153	5.00	19.7	1.21	100	6.17
2	Molidustat	0.1	9.28	1.01	154	10.7	16.6	2.14	84.7	12.9
2	Molidustat	0.3	9.21	0.813	147	2.38	15.9	1.43	81.1	8.97
2	Molidustat	1	8.34	0.305	145	2.65	17.4	0.710	88.4	4.09
2	Molidustat	3	11.0	0.850	159	2.35	14.4	1.13	73.4	7.85
2	Molidustat	10	12.0	-	162	3.12	11.6	1.16	59.0	10.0
2	Molidustat	30	17.6	7.88	139	5.33	7.91	3.56	40.2	45.1
2	Molidustat	100	14.2	1.35	115	14.8	8.11	1.30	41.3	16.0
IC_{50}		**6.39**								

Test article: Molidustat

Table 16-8: Pharmacokinetics: In vitro studies in MDCKII-BCRP cells to evaluate the inhibitory potency towards BCRP

Location: 4.2.2.7.12
Report no.: PH-37357

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MDCKII-BCRP
Test compound: Molidustat Assay: HPLC-MS/MS

PhIP	Inhibitor	Inhibitor concentration	P_{app} A-B		P_{app} B-A		Efflux ratio		% of control	
[µM]		[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD	Mean	SD
2	Control	0	61.2	4.11	597	16.7	9.76	0.709	100	7.27
2	Molidustat	0.1	63.8	4.19	650	70.2	10.2	1.29	104	12.6
2	Molidustat	0.3	74.3	11.7	565	28.2	7.60	1.26	77.9	16.5
2	Molidustat	1	59.3	2.39	567	27.1	9.56	0.597	97.9	6.25
2	Molidustat	3	71.7	8.3	625	14.3	8.73	1.03	89.5	11.8
2	Molidustat	10	75.6	1.48	641	16.0	8.48	0.269	86.9	3.17
2	Molidustat	30	98.1	18.2	582	12.6	5.94	1.11	60.9	18.7
2	Molidustat	100	107	3.49	511	17.6	4.76	0.225	48.8	4.73
IC_{50}		**20.3**								

PhIP = 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine

Test article: Molidustat

Table 16-9: Pharmacokinetics: In vitro studies in L-MDR1 cells to evaluate the P-gp substrate characteristics

Location: 4.2.2.7.4
Report no.: PH-38971

Species: Human | Study type: *in vitro*
Material: L-MDR1, LLC-PK1
Test compound: M-1 (BAY 1163348) | Assay: HPLC-MS/MS

M-1 (BAY 1163348) concentration	**Cell type**	**Inhibitor**	**Inhibitor conc.**	**P_{app} A-B**		**P_{app} B-A**		**Efflux ratio**	
[µM]			[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD
1.0	L-MDR1			12.9	1.8	14.5	0.0	1.1	0.16
3.0	L-MDR1			12.7	1.6	18.8	3.4	1.5	0.33
10.0	L-MDR1	Ivermectin	5	7.6	0.9	23.6	4.1	3.1	0.66
10.0	L-MDR1			15.1	0.9	20.2	2.4	1.3	0.2
30.0	L-MDR1			12.4	0.6	17.7	0.4	1.4	0.1
100.0	L-MDR1			9.1		27.3	2.8	3.0	
1.0	LLC-PK1			16.5	1.6	7.3	2.6	0.4	0.16
3.0	LLC-PK1			11.5	1.3	18.5	1.9	1.6	0.25
10.0	LLC-PK1	Ivermectin	5	9.3	1.0	17.7	1.7	1.9	0.27
10.0	LLC-PK1			6.2	0.9	11.5	1.7	1.9	0.38
30.0	LLC-PK1			12.7	1.3	14.7	3.0	1.2	0.27
100.0	LLC-PK1			2.8	1.3	9.8	0.7	3.5	1.67

Test article: Molidustat

Table 16-10: Pharmacokinetics: In vitro studies in L-MDR1 cells to evaluate the P-gp substrate characteristics

Location: 4.2.2.7.4
Report no.: PH-38971

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: L-MDR1, LLC-PK1
Test compound: M-1 (BAY 1163348) Assay: HPLC-MS/MS

M-1 (BAY 1163348) concentration	L-MDR1 Efflux ratio		LLC-PK1 Efflux ratio		L-MDR1/LLC-PK1	
[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD
1	1.1	0.2	0.4	0.2	0.6	0.16
3	1.5	0.3	1.6	0.2	0.7	0.29
10	1.3	0.2	1.9	0.4	0.7	0.34
30	1.4	0.1	1.2	0.3	1.0	0.19
100	3.0		3.5	1.7	0.9	0.56

Test article: Molidustat

Table 16-11: Pharmacokinetics: In vitro studies in L-MDR1 cells to evaluate the inhibitory potency towards P-gp

Location: 4.2.2.7.4
Report no.: PH-38971

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: L-MDR1
Test compound: M-1 (BAY 1163348) Assay: HPLC-MS/MS

Dipyridamole	**Inhibitor**	**Inhibitor concentration**	**P_{app} A-B**		**P_{app} B-A**		**Efflux ratio**		**% of control**
[µM]		[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD	Mean
2	control	0	16.7	0.5	676.0	37.6	40.4	2.61	100
2	BAY 1163348	1.2	16.8	0.3	627.1	36.0	37.3	2.22	92.4
2	BAY 1163348	12	15.5	0.6	640.5	44.5	41.3	3.33	102.3
2	BAY 1163348	120	16.8	1.3	578.3	37.9	34.3	3.54	85.0
2	BAY 1163348	300	15.4	1.1	531.1	26.7	34.4	3.01	85.2
2	BAY 1163348	600	15.9	0.9	489.3	72.3	30.9	4.89	76.5
2	BAY 1163348	1200	20.6	1.2	569.3	23.0	27.7	1.96	68.6
IC_{50}		**>1200**							

Test article: Molidustat

Table 16-12: Pharmacokinetics: In vitro studies in L-MDR1 cells to evaluate the inhibitory potency towards P-gp

Location: 4.2.2.7.4
Report no.: PH-38971

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: L-MDR1
Test compound: M-1 (BAY 1163348) Assay: HPLC-MS/MS

Digoxin	**Inhibitor**	**Inhibitor conc.**	**P_{app} A-B**		**P_{app} B-A**		**Efflux ratio**		**% of control**
[µM]		[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD	Mean
20	control	0	10.8	0.1	102.8	6.7	9.5	0.63	100
20	BAY 1163348	1.2	8.2	0.2	100.6	6.2	12.2	0.80	128.1
20	BAY 1163348	12	8.8	0.1	95.7	2.4	10.9	0.28	114.2
20	BAY 1163348	120	9.3	0.2	95.7	2.7	10.3	0.36	107.8
20	BAY 1163348	300	9.2	0.4	95.7	9.7	10.4	1.15	109.5
20	BAY 1163348	600	8.7	0.3	92.3	4.2	10.6	0.57	111.2
20	BAY 1163348	1200	9.8	0.8	92.0	9.2	9.4	1.23	98.9
IC_{50}		**>1200**							

Test article: Molidustat

Table 16-13: Pharmacokinetics: In vitro studies in MDCKII-BCRP cells to evaluate the BCRP substrate characteristics

Location: 4.2.2.7.5
Report no.: PH-38980

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MDCKII-BCRP, MDCKII
Test compound: M-1 (BAY 1163348) Assay: HPLC-MS/MS

M-1 (BAY1163348) concentration	Cell type	Inhibitor	Inhibitor concentration	P_{app} A-B		P_{app} B-A		Efflux ratio	
[µM]			[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD
1.0	MDCKII-BCRP			2.6	0.3	5.9	0.8	2.3	0.43
3.0	MDCKII-BCRP			3.5	0.2	7.2	1.0	2.1	0.32
10.0	MDCKII-BCRP	Ko143	1	5.2	0.2	6.8	0.8	1.3	0.17
10.0	MDCKII-BCRP			3.0	0.5	8.0	0.9	2.7	0.52
30.0	MDCKII-BCRP			2.3	0.3	7.9	1.0	3.4	0.62
100.0	MDCKII-BCRP			2.1	0.1	7.5	0.3	3.5	0.23
1.0	MDCKII			3.5	0.1	11.6	1.0	3.4	0.31
3.0	MDCKII			3.8	0.5	12.0	1.0	3.1	0.48
10.0	MDCKII	Ko143	1	3.3	0.1	11.5	1.6	3.4	0.50
10.0	MDCKII			2.8	0.3	11.2	1.1	4.0	0.57
30.0	MDCKII			3.2	0.8	12.1	0.8	3.8	0.94
100.0	MDCKII			2.1	0.1	10.2	0.1	5.0	0.15

Test article: Molidustat

Table 16-14: Pharmacokinetics: In vitro studies in MDCKII-BCRP cells to evaluate the BCRP substrate characteristics

Location: 4.2.2.7.5
Report no.: PH-38980

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MDCKII-BCRP, MDCKII
Test compound: M-1 (BAY 1163348) Assay: HPLC-MS/MS

M-1 (BAY 1163348) concentration	MDCKII-BCRP		MDCKII		MDCKII-BCRP/ MDCKII	
	Efflux ratio		Efflux ratio			
[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD
1.0	2.3	0.4	3.4	0.3	0.6	0.30
3.0	2.1	0.3	3.1	0.5	0.7	0.32
10.0	2.7	0.5	4.0	0.6	0.6	0.09
30.0	3.4	0.6	3.8	0.9	1.0	0.34
100.0	3.5	0.2	5.0	0.2	0.9	0.10

Test article: Molidustat

Table 16-15: Pharmacokinetics: In vitro studies in MDCKII-BCRP cells to evaluate the inhibitory potency towards BCRP

Location: 4.2.2.7.5
Report no.: PH-38980

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MDCKII-BCRP
Test compound: M-1 (BAY 1163348) Assay: HPLC-MS/MS

Topotecan	**Inhibitor**	**Inhibitor concentration**	**P_{app} A-B**		**P_{app} B-A**		**Efflux ratio**		**% of control**
[µM]		[µM]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean [nm/s]	SD [nm/s]	Mean	SD	Mean
2	Control	0	7.7	0.2	103.9	14.4	13.5	1.90	100
2	BAY 1163348	1.2	8.9	0.4	106.6	8.5	11.9	1.07	88.0
2	BAY 1163348	12	7.7	0.6	92.1	6.3	11.9	1.22	88.0
2	BAY 1163348	120	9.0	0.7	97.4	3.3	10.8	0.90	79.9
2	BAY 1163348	300	10.1	0.7	108.8	5.0	10.7	0.86	79.3
2	BAY 1163348	600	9.5	0.6	94.2	12.1	9.9	1.41	73.3
2	BAY 1163348	1200	10.0	0.6	99.2	14.9	9.9	1.59	73.4
IC_{50}		**>1200**							

Test article: Molidustat

Table 16-16: Pharmacokinetics: In vitro studies in transfected vesicles to evaluate the MRP2 substrate characteristics

Location: 4.2.2.7.6
Report no.: R-12001

Species:	Human		Study type:	*in vitro*			
Material:	MRP2 transfected vesicles						
Test compound:	M-1 (BAY 1163348)		Assay:	HPLC-MS/MS			
BAY 1163348 (µM)	**Incubation (min)**	**5**		**15**		**30**	
	In the presence of	**AMP**	**ATP**	**AMP**	**ATP**	**AMP**	**ATP**
				Influx rate (pmol/mg protein/minute)			
10	Replicate 1	0.530	0.491	0.162	0.220	0.115	0.144
	Replicate 2	0.510	0.587	0.196	0.213	0.126	0.137
	Replicate 3	0.525	0.527	0.217	0.154	0.111	0.152
	Average	0.521	0.535	0.191	0.196	0.117	0.144
	SD	0.010	0.048	0.028	0.037	0.008	0.008
	Ratio[a]	n.a.	1.03 ± 0.10	n.a.	1.02 ± 0.24	n.a.	1.23 ± 0.10
				Influx rate (pmol/mg protein/minute)			
100	Replicate 1	5.49	4.70	1.54	1.70	0.817	0.969
	Replicate 2	4.38	6.03	1.41	2.06	0.916	1.08
	Replicate 3	4.31	4.34	1.71	1.61	0.792	0.987
	Average	4.73	5.02	1.55	1.79	0.841	1.01
	SD	0.66	0.89	0.15	0.24	0.065	0.16
	Ratio[a]	n.a.	1.06 ± 0.24	n.a.	1.15 ± 0.19	n.a.	1.20 ± 0.12

a = The value was designated as average ± SD.
n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 16-17: Pharmacokinetics: In vitro studies in transfected vesicles to evaluate the inhibitory potency towards MRP2

Location: 4.2.2.7.6
Report no.: R-12001

Species: Human | Study type: *in vitro*
Material: MRP2 transfected vesicles
Test compound: M-1 (BAY 1163348) | Assay: HPLC-MS/MS

Treatments		Incubation (min)	30	
			Influx rate (pmol/mg protein/minute)	
CDCF (µM)	BAY 1163348 (µM)	Replicate	In the presence of AMP	In the presence of ATP
5	0	Replicate 1	<0.0444[b]	1.05
		Replicate 2	0.0602	1.02
		Replicate 3	0.0543	0.588[c]
		Average	0.0572	1.04
		SD	0.004	0.019
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**0.978 ± 0.019**
		Influx rate ratio[a]	**n.a.**	**18.1 ± 1.4**
5	130	Replicate 1	<0.0444[b]	1.03
		Replicate 2	<0.0444[b]	0.763
		Replicate 3	0.0676	1.13
		Average	n.a.	0.974
		SD	n.a.	0.190
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**0.907 ± 0.190**
		Percentage inhibition[a]	**n.a.**	**7.32 ± 19.5**

Test article: Molidustat

Table 16-17: Pharmacokinetics: In vitro studies in transfected vesicles to evaluate the inhibitory potency towards MRP2 (continued)

Location: 4.2.2.7.6
Report no.: R-12001

Species: Human | Study type: *in vitro*
Material: MRP2 transfected vesicles
Test compound: M-1 (BAY 1163348) | Assay: HPLC-MS/MS

Treatments		Incubation (min)	30	
			Influx rate (pmol/mg protein/minute)	
CDCF (µM)	BAY 1163348 (µM)	Replicate	In the presence of AMP	In the presence of ATP
5	1300	Replicate 1	<0.0444[b]	0.639
		Replicate 2	0.0480	0.857
		Replicate 3	0.0576	0.933
		Average	0.0528	0.81
		SD	0.007	0.153
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**0.757 ± 0.153**
		Parcentage inhibition[a]	**n.a.**	**22.6 ± 15.7**

a = The value is reported as average ± SD.
b = The measured concentration of CDCF was less than the lower limit of quantification (0.0005 µM); the value of 0.0005 was used to estimate the influx rate. The actual influx rate was less than the reported one.
c = The value was a statistical outlier per Q-test. It was excluded from the calculation of the average.
n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 16-18: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate substrate characteristics towards human uptake transporter OATP1B1

Location: 4.2.2.7.7
Report no.: PH-40740

Species: Human
Study type: *in vitro*
Material: OATP1B1 transfected HEK-cells (hOATP1B1-HEK), vector HEK-cells
Test compound: BAY 1053048 (sodium salt of molidustat)
Assay: HPLC-MS/MS

Molidustat concentration [µM]	**Time**	**Vector-HEK Transport rate [pmol/mg/min]**		**hOATP1B1-HEK Transport rate [pmol/mg/min]**		**Net uptake [pmol/mg/min]**		**Uptake ratio**	
	min	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
0.1	2.5	0.116	n.d.	0.074	0.011	-0.182	n.d.	0.586	n.d.
0.3	2.5	0.100	0.005	0.111	0.013	0.0071	0.0512	1.02	0.136
1	2.5	0.390	0.034	0.463	0.076	0.426	0.324	1.30	0.243
3	2.5	1.03	0.158	1.04	0.076	0.408	0.642	1.11	0.189
10	2.5	3.25	0.723	2.76	0.516	-0.708	3.30	0.933	0.271

n.d. = not determined

Test article: Molidustat

Table 16-19: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate substrate characteristics towards human uptake transporter OATP1B3

Location: 4.2.2.7.8
Report no.: R-9677

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: OATP1B3 transfected HEK-cells (hOATP1B3-HEK), vector HEK-cells
Test compound: [^{14}C]molidustat Assay: LSC

Transporter: hOATP1B3		Uptake of [^{14}C]molidustat (pmol/mg protein/10 min)				
		Vector-HEK		hOATP1B3-HEK		
Test item	**± Probe substrate/inhibitor**	**Mean**	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**	**Uptake ratio**
[^{14}C]molidustat (0.5 µM)	-	**3.99**	0.45	**4.98**	0.23	**1.2**
	+ 10 µM BSP	**4.57**	0.52	**5.49**	0.57	**1.2**
	+ 5 µM Rifampicin	**4.74**	0.02	**5.33**	0.69	**1.1**
[^{14}C]molidustat (5 µM)	-	**24.3**	2.8	**26.3**	0.5	**1.1**
	+ 10 µM BSP	**23.3**	2.8	**27.3**	0.9	**1.2**
	+ 5 µM Rifampicin	**24.6**	2.1	**27.6**	1.1	**1.1**

BSP = sulfobromophthalein

Test article: Molidustat

Table 16-20: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate inhibition towards human uptake transporters OATP1B1 and OATP1B3

Location: 4.2.2.7.8
Report no.: R-9677

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: OATP1B1 transfected HEK-cells (hOATP1B1-HEK), OATP1B3 transfected HEK-cells (hOATP1B3-HEK), vector HEK-cells
Test compound: Molidustat, M-1 (BAY 1163348) Assay: LSC

		Inhibitory effect (%)					
		Mean	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**
Transporter	**Probe substrate**	**Molidustat (50 µM)**		**Molidustat (500 µM)**		**Control inhibitor[a]**	
hOATP1B1	0.03 µM [^{3}H]ES	**-16**	3	**-19**	0.3	**81**	0.3
hOATP1B3	0.05 µM [^{3}H]BSP	**6.7**	2.3	**15**	2	**103**	12
Transporter	**Probe substrate**	**BAY 1163448 (130 µM)**		**BAY 1163348 (1300 µM)**		**Control inhibitor[a]**	
hOATP1B1	0.03 µM [^{3}H]ES	**1.9**	1	**-2.3**	4.3	**79**	1.4
hOATP1B3	0.05 µM [^{3}H]BSP	**-0.3**	1.8	**14**	1	**90**	0.3

a = control inhibitor: hOATP1B1 and hOATP1B3 experiments: rifampicin (50 µM and 5 µM, respectively)
ES = estrone 3-sulfate
BSP = sulfobromophthalein

Test article: Molidustat

Table 16-21: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate substrate characteristics towards human uptake transporter OCT1

Location: 4.2.2.7.9
Report no.: R-9682

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: OCT1 transfected HEK-cells (hOCT1-HEK), vector HEK-cells
Test compound: [^{14}C]molidustat Assay: LSC

Transporter: hOCT1		**Uptake of [^{14}C]molidustat (pmol/mg protein/5 min)**					
Test item	**± Probe substrate/inhibitor**	**Mean**	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**	**Uptake ratio**	**Inhibitory effect (%)**
		vector-HEK		**hOCT1-HEK**			
[^{14}C]molidustat (0.5 µM)	-	**4.0**	0.2	**3.3**	0.1	**0.83**	n.d.
	+ 100 µM MPP	**3.5**	0.03	**3.9**	0.2	**1.10**	n.d.
	+ 50 µM Decynium22	**5.4**	0.04	**4.7**	0.01	**0.88**	n.d.
[^{14}C]molidustat (5 µM)	-	**24**	1	**21**	0.3	**0.89**	n.d.
	+ 100 µM MPP	**25**	2	**27**	1	**1.12**	n.d.
	+ 50 µM Decynium22	**42**	1	**39**	1	**0.93**	n.d.
		Uptake rate of [^{3}H]MPP (pmol/mg protein/min)					
[^{3}H]MPP (10 µM)	-	**91**	49	**518**	26	**5.7**	
	+ 50 µM Decynium22	**22**	3	**72**	12	**2.3**	88 ± 1

n.d. = not determined
MPP = 1-Methyl-4-phenylpyridinium

Test article: Molidustat

Table 16-22: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate inhibition towards human uptake transporter OCT1

Location: 4.2.2.7.9
Report no.: R-9682

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: OCT1 transfected HEK-cells (hOCT1-HEK), vector-HEK cells
Test compound: Molidustat, M-1 (BAY 1163348) Assay: LSC

		Inhibitory effect (%)					
		Mean	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**
Transporter	**Probe substrate**	**Molidustat (50 µM)**		**Molidustat (500 µM)**		**Control inhibitor[a]**	
hOCT1	10 µM [^{3}H]MPP	**13**	6	**11**	6	**88**	1
Transporter	**Probe substrate**	**BAY 1163448 (130 µM)**		**BAY 1163348 (1300 µM)**		**Control inhibitor[a]**	
hOCT1	10 µM [^{3}H]MPP	**12**	5	**5**	2	**88**	1

a = control inhibitor: 50 µM decynium22
MPP = 1-Methyl-4-phenylpyridinium

Test article: Molidustat

Table 16-23: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate substrate characteristics towards human uptake transporter OCT2

Location: 4.2.2.7.11
Report no.: R-9684

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: OCT2 transfected HEK-cells (hOCT2-HEK), vector HEK-cells
Test compound: [^{14}C]M-1 (BAY 1163348) Assay: LSC

Transporter: hOCT2		**Uptake of [^{14}C]BAY 1163348 (pmol/mg protein/5 min)**					
Test item	**± Probe substrate/inhibitor**	**Mean**	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**	**Uptake ratio**	**Inhibitory effect (%)**
		vector-HEK		**hOCT2-HEK**			
[^{14}C]BAY 1163348 (10 µM)	-	22	3	23	0	1.01	n.d.
	+ 100 µM MPP	32	5	21	2	0.67	n.d.
	+ 50 µM Decynium22	21	3	21	1	0.99	n.d.
[^{14}C]BAY 1163348 (100 µM)	-	57	6	48	3	0.84	n.d.
	+ 100 µM MPP	46	0	40	5	0.87	n.d.
	+ 50 µM Decynium22	50	6	41	1	0.81	n.d.
		Uptake rate of [^{3}H]MPP (pmol/mg protein/min)					
[^{3}H]MPP (10 µM)	-	**25**	2	**285**	6	**11**	
	+ 50 µM Decynium22	**14**	0.3	**54**	1	**3**	85 ± 1

n.d. = not determined
MPP = 1-Methyl-4-phenylpyridinium

Test article: Molidustat

Table 16-24: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate inhibition towards human uptake transporter OCT2

Location: 4.2.2.7.11
Report no.: R-9684

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: OCT2 transfected HEK-cells (hOCT2-HEK), vector HEK-cells
Test compound: Molidustat, M-1 (BAY 1163348) Assay: LSC

		Inhibitory effect (%)					
		Mean	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**
Transporter	**Probe substrate**	**Molidustat (50 µM)**		**Molidustat (500 µM)**		**Control inhibitor[a]**	
hOCT2	10 µM [^{3}H]MPP	**7**	4	**5**	6	**85**	1
Transporter	**Probe substrate**	**BAY 1163448 (130 µM)**		**BAY 1163348 (1300 µM)**		**Control inhibitor[a]**	
hOCT2	10 µM [^{3}H]MPP	**3**	4	**3**	5	**85**	1

a = control inhibitor: 50 µM decynium22
MPP = 1-Methyl-4-phenylpyridinium

Test article: Molidustat

Table 16-25: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate substrate characteristics towards human uptake transporters OAT1 and OAT3

Location: 4.2.2.7.10
Report no.: R-9680

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: OAT1 transfected HEK-cells (hOAT1-HEK), OAT3 transfected HEK-cells (hOAT3-HEK), vector HEK-cells
Test compound: [^{14}C]M-1 (BAY 1163348) Assay: LSC

Uptake of [^{14}C] BAY 1163348 (pmol/mg protein/5 min)

Transporter: hOAT1	± Probe substrate/inhibitor	Mean vector-HEK	Average deviation vector-HEK	Mean hOAT1-HEK	Average deviation hOAT1-HEK	Uptake ratio	Inhibitory effect (%)
[^{14}C]BAY 1163348 (10 µM)	-	**24**	3	**24**	3	**1.02**	n.d.
	+ 100 µM PAH	**23**	3	**26**	4	**1.10**	n.d.
	+ 100 µM Probenecid	**25**	2	**29**	5	**1.13**	n.d.
[^{14}C]BAY 1163348 (100 µM)	-	**60**	7	**57**	3	**0.95**	n.d.
	+ 100 µM PAH	**56**	13	**61**	15	**1.10**	n.d.
	+ 100 µM Probenecid	**61**	15	**52**	12	**0.85**	n.d.
Transporter: hOAT3	**± Probe substrate/inhibitor**	**Mean vector-HEK**	**Average deviation vector-HEK**	**Mean hOAT3-HEK**	**Average deviation hOAT3-HEK**	**Uptake ratio**	**Inhibitory effect (%)**
[^{14}C]BAY 1163348 (10 µM)	-	**27**	2	**49**	20	**1.83**	n.d.
	+ 100 µM ES	**33**	12	**44**	17	**1.33**	n.d.
	+ 100 µM Probenecid	**32**	7	**59**	39	**1.86**	n.d.
[^{14}C]BAY 1163348 (100 µM)	-	**57**	4	**143**	16	**2.52**	0
	+ 100 µM ES	**52**	5	**61**	12	**1.17**	89
	+ 100 µM Probenecid	**47**	1	**50**	9	**1.06**	97

n.d. = not determined
PAH = p-aminohippuric acid, ES = estrone-3-sulfate

Test article: Molidustat

Table 16-26: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate inhibition towards human uptake transporter OAT1

Location: 4.2.2.7.10
Report no.: R-9680

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: OAT1 transfected HEK-cells, vector HEK-cells
Test compound: Molidustat, M-1 (BAY 1163348) Assay: LSC

		Inhibitory effect (%)					
		Mean	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**	**Mean**	**Average deviation**
Transporter	**Probe substrate**	**Molidustat (50 µM)**		**Molidustat (500 µM)**		**Control inhibitor[a]**	
hOAT1	10 µM [^{3}H]PAH	**4**	6	**35**	4	**93**	1
Transporter	**Probe substrate**	**BAY 1163448 (130 µM)**		**BAY 1163348 (1300 µM)**		**Control inhibitor[a]**	
hOAT1	10 µM [^{3}H]PAH	**7**	2	**37**	3	**93**	1

a = control inhibitor: 100 µM Probenecid
PAH = p-aminohippuric acid

Test article: Molidustat

Table 16-27: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate inhibition towards human uptake transporter OAT3

Location: 4.2.2.7.10
Report no.: R-9680

Species:	Human	Study type:	*in vitro*
Material:	OAT3 transfected HEK-cells, vector HEK-cells		
Test compound:	Molidustat, M-1 (BAY 1163348)	Assay:	LSC

Inhibitory effect (%) on probe substrate uptake

Assay No.	Transporter	Substrate	Control inhibitor[a]	Concentration of molidustat								
				0.3 µM	1 µM	3 µM	10 µM	30 µM	50 µM	100 µM	500 µM	IC_{50} (µM)
1	hOAT3	[^{3}H]ES (1 µM)	93						83		95	
2			93						74		90	
Mean± Av. Dev.			93±0.4						78±5		93±2	
3			93	-1	9	18	38	67		86		**16** ± 4

Assay No.	Transporter	Substrate	Control inhibitor[a]	Concentration of BAY 1163348							IC_{50} (µM)
				30 µM	100 µM	130 µM	500 µM	1300 µM	2000 µM	3000 µM	
1	hOAT3	[^{3}H]ES (1 µM)	93			15		50			
2			93			4		52			
Mean± Av. Dev.			93±0.4			10±6		51±1			
3			93	3	9		23	47	60	66	**1579** ± 889

a = control inhibitor: 100 µM Probenecid
Av. Dev. = average deviation; ES = estrone 3-sulfate

Test article: Molidustat

Table 16-28: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate the inhibitory potency towards MATE1

Location: 4.2.2.7.13
Report no.: R-9692

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MATE1 transfected HEK-cells, vector HEK-cells
Test compound: Molidustat Assay: HPLC-MS/MS

Treatments		Incubation (min)	10	
			Influx rate (pmol/mg protein/minute)	
Metformin (µM)	Molidustat (µM)	Replicate	HEK vector control cells	MATE1-HEK cells
50	0	Replicate 1	7.41	909
		Replicate 2	6.54	937
		Replicate 3	6.42	1047
		Average	6.79	964
		SD	0.54	73
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**958 ± 73**
		Influx rate ratio[a]	**n.a.**	**142 ± 16**
50	50	Replicate 1	7.43	682
		Replicate 2	5.09	692
		Replicate 3	4.13	757
		Average	5.55	710
		SD	1.70	41
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**705 ± 41**
		Percentage Inhibition[a]	**n.a.**	**26.4 ± 7.0**

Test article: Molidustat

Table 16-28: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate the inhibitory potency towards MATE1 (continued)

Location: 4.2.2.7.13
Report no.: R-9692

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MATE1 transfected HEK-cells, vector HEK-cells
Test compound: Molidustat Assay: HPLC-MS/MS

Treatments		Incubation (min)	10	
			Influx rate (pmol/mg protein/minute)	
Metformin (µM)	Molidustat (µM)	Replicate	HEK vector control cells	MATE1-HEK cells
50	500	Replicate 1	6.98	575
		Replicate 2	5.67	582
		Replicate 3	4.62	650
		Average	5.76	602
		SD	1.18	41
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**596 ± 41**
		Percentage Inhibition[a]	**n.a.**	**37.7 ± 6.4**

a = The value is reported as average ± SD
n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 16-29: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate the inhibitory potency towards MATE1

Location: 4.2.2.7.13
Report no.: R-9692

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MATE1 transfected HEK-cells, vector HEK-cells
Test compound: M-1 (BAY 1163348) Assay: HPLC-MS/MS

Treatments		Incubation (min)	10	
			Influx rate (pmol/mg protein/minute)	
Metformin (µM)	BAY 1163348 (µM)	Replicate	HEK vector control cells	MATE1-HEK cells
50	0	Replicate 1	6.66	856
		Replicate 2	6.38	924
		Replicate 3	5.28	1081
		Average	6.11	954
		SD	0.73	115
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**948 ± 115**
		Influx rate ratio[a]	**n.a.**	**156 ± 27**
50	130	Replicate 1	5.81	537
		Replicate 2	5.61	537
		Replicate 3	6.27	645
		Average	5.89	573
		SD	0.34	63
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**567 ± 63**
		Percentage Inhibition[a]	**n.a.**	**40.2 ± 9.8**

Test article: Molidustat

Table 16-29: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate the inhibitory potency towards MATE1 (continued)

Location: 4.2.2.7.13
Report no.: R-9692

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MATE1 transfected HEK-cells, vector HEK-cells
Test compound: M-1 (BAY 1163348) Assay: HPLC-MS/MS

Treatments		Incubation (min)	10	
			Influx rate (pmol/mg protein/minute)	
Metformin (µM)	BAY 1163348 (µM)	Replicate	HEK vector control cells	MATE1-HEK cells
50	1300	Replicate 1	6.42	87.9
		Replicate 2	5.04	88.7
		Replicate 3	5.32	97.0
		Average	5.59	91.2
		SD	0.73	5.0
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**85.6 ± 5.1**
		Percentage Inhibition[a]	**n.a.**	**91.0 ± 1.2**

a = The value is reported as average ± SD
n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 16-30: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate the inhibitory potency towards MATE2-K

Location: 4.2.2.7.13
Report no.: R-9692

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MATE2-K transfected HEK-cells, vector HEK-cells
Test compound: Molidustat Assay: HPLC-MS/MS

Treatments		Incubation (min)	2	
			Influx rate (pmol/mg protein/minute)	
Metformin (µM)	Molidustat (µM)	Replicate	HEK vector control cells	MATE2K-HEK cells
50	0	Replicate 1	30.8	144
		Replicate 2	32.5	150
		Replicate 3	10.4	144
		Average	24.5	146
		SD	12.3	3
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**121 ± 13**
		Influx rate ratio[a]	**n.a.**	**5.95 ± 2.99**
50	50	Replicate 1	28.9	146
		Replicate 2	30.5	145
		Replicate 3	33.1	140
		Average	30.8	144
		SD	2.1	4
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**113 ± 4**
		Percentage Inhibition[a]	**n.a.**	**7.04 ± 10.35**

Test article: Molidustat

Table 16-30: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate the inhibitory potency towards MATE2-K (continued)

Location: 4.2.2.7.13
Report no.: R-9692

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MATE2-K transfected HEK-cells, vector HEK-cells
Test compound: Molidustat Assay: HPLC-MS/MS

Treatments		Incubation (min)	2	
			Influx rate (pmol/mg protein/minute)	
Metformin (µM)	Molidustat (µM)	Replicate	HEK vector control cells	MATE2K-HEK cells
50	500	Replicate 1	46.5	141
		Replicate 2	23.2	152
		Replicate 3	33.5	140
		Average	34.4	144
		SD	11.7	7
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**110 ± 14**
		Percentage Inhibition[a]	**n.a.**	**9.67 ± 14.64**

a = The value is reported as average ± SD
n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 16-31: Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate the inhibitory potency towards MATE2-K

Location: 4.2.2.7.13
Report no.: R-9692

Species:	Human	Study type:	*in vitro*
Material:	MATE2-K transfected HEK-cells, vector HEK cells		
Test compound:	M-1 (BAY 1163348)	Assay:	HPLC-MS/MS

Treatments		**Incubation (min)**	**2**	
			Influx rate (pmol/mg protein/minute)	
Metformin (µM)	**BAY 1163348 (µM)**	**Replicate**	**HEK vector control cells**	**MATE2K-HEK cells**
50	0	Replicate 1	13.7	94.8
		Replicate 2	12.1	101
		Replicate 3	10.5	89.0
		Average	12.1	94.8
		SD	1.6	5.8
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**82.7 ± 6.1**
		Influx rate ratio[a]	**n.a.**	**7.83 ± 1.15**
50	130	Replicate 1	12.8	63.5
		Replicate 2	11.4	62.3
		Replicate 3	9.85	62.2
		Average	11.4	62.6
		SD	1.5	0.7
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**51.3 ± 1.6**
		Percentage Inhibition[a]	**n.a.**	**38.0 ± 5.0**

Test article: Molidustat

Table 16-31 Pharmacokinetics: In vitro studies to evaluate the inhibitory potency towards MATE2-K (continued)

Location: 4.2.2.7.13
Report no.: R-9692

Species: Human Study type: *in vitro*
Material: MATE2-K transfected HEK-cells, vector HEK cells
Test compound: M-1 (BAY 1163348) Assay: HPLC-MS/MS

Treatments		Incubation (min)	2	
			Influx rate (pmol/mg protein/minute)	
Metformin (µM)	BAY 1163348 (µM)	Replicate	HEK vector control cells	MATE2K-HEK cells
50	1300	Replicate 1	14.1	22.3
		Replicate 2	13.1	22.3
		Replicate 3	10.9	18.7
		Average	12.7	21.1
		SD	1.6	2.1
		Net influx rate[a]	**n.a.**	**8.43 ± 2.62**
		Percentage Inhibition[a]	**n.a.**	**89.8 ± 3.3**

a = The value is reported as average ± SD
n.a. = not applicable

Test article: Molidustat

Table 16-32: Pharmacokinetics: in vitro studies to evaluate the inhibitory potency towards BSEP using B-Clear®

Location: 4.2.2.7.14
Report no.: R-11081

Species:	Human	Study type:	*in vitro*
Material:	Sandwitch-Cultured Human Hepatocytes		
Test compound:	Molidustat, M-1 (BAY 1163348)	Assay:	LSC

Compound	Concentration. [µM]	Inhibitor	Concentration [µM]	Incubation [min]	$CL_{Biliary}$ [mL/min/kg]	BEI % of control
Molidustat						
Taurocholic acid	5	Control	0	10	4.56	100
Taurocholic acid	5	Molidustat	0.3	10	3.77	102
Taurocholic acid	5	Molidustat	1	10	3.83	103
Taurocholic acid	5	Molidustat	3	10	3.91	102
Taurocholic acid	5	Molidustat	10	10	3.31	88.3
Taurocholic acid	5	Molidustat	30	10	4.86	98.6
Taurocholic acid	5	Molidustat	100	10	4.41	90.4
Taurocholic acid	5	Molidustat	300	10	3.93	97.9
IC_{50}			**n.a.**			
M-1 (BAY 1163348)						
Taurocholic acid	5	Control	0	10	4.28	100
Taurocholic acid	5	BAY 1163348	3	10	4.11	98.5
Taurocholic acid	5	BAY 1163348	10	10	4.08	97.7
Taurocholic acid	5	BAY 1163348	30	10	4.01	100
Taurocholic acid	5	BAY 1163348	100	10	4.58	101
Taurocholic acid	5	BAY 1163348	300	10	4.06	97.1
Taurocholic acid	5	BAY 1163348	600	10	4.18	101
Taurocholic acid	5	BAY 1163348	1300	10	4.49	99.7
IC_{50}			**n.a.**			

n.a. = not applicable, BEI = biliary excretion index