データは平均値（n= 3）± SD で示す。
MATE = multidrug and toxin extrusion transporter ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 24

表 2.6.4-30 MATE2-K 発現細胞における HBI-8000 の取り込み量

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	µM	min	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
HBI-8000	50	10	592.82 ± 43.72	487.68 ± 121.15	105.14 ± 128.79	1.22
	10	10	135.54 ± 12.14	89.06 ± 7.40	46.49 ± 14.21	1.52
	5	10	70.55 ± 6.47	39.37 ± 5.01	31.17 ± 8.19	1.79
	1	10	17.57 ± 1.49	8.39 ± 2.08	9.18 ± 2.56	2.09
Positive control (accumulation in cpm)						
Metformin	10	15	248.00 ± 11.27	15.33 ± 4.16	232.67 ± 12.01	16.17
+ Pyrimethamine	10	15	21.33 ± 6.43	23.33 ± 4.73	-2.00 ± 7.98	0.91

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
MATE = multidrug and toxin extrusion transporter ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 25

表 2.6.4-31 OAT1 発現細胞における HBI-8000 の取り込み量

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	µM	min	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
HBI-8000	50	10	1,052.56 ± 51.28	1,162.99 ± 32.69	-110.43 ± 60.81	0.91
	10	10	219.13 ± 12.01	223.20 ± 9.98	-4.07 ± 15.61	0.98
	5	10	104.52 ± 9.21	123.85 ± 13.39	-19.34 ± 16.25	0.84
	1	10	29.55 ± 12.01	45.03 ± 23.77	-15.48 ± 26.63	0.66
Positive control (accumulation in cpm)						
Tenofovir	5	2	2,450.00 ± 106.66	47.00 ± 6.24	2,403.00 ± 106.84	52.13
+ Probenecid	500	2	81.67 ± 6.81	37.67 ± 5.51	44.00 ± 8.76	2.17

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
OAT = organic anion transporter ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 26

表 2.6.4-32 OAT3 発現細胞における HBI-8000 の取り込み量

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	µM	min	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
HBI-8000	45	10	2,630.14 ± 707.43	1,026.42 ± 108.97	1,603.72 ± 715.78	2.56
	10	10	851.21 ± 117.37	246.24 ± 50.93	604.97 ± 127.95	3.46
	5	10	470.29 ± 64.23	110.74 ± 2.88	359.55 ± 64.29	4.25
	1	10	95.02 ± 6.55	24.13 ± 0.45	70.89 ± 6.56	3.94
Positive control (accumulation in cpm)						
E3S	1	1	6,575.67 ± 115.98	123.67 ± 19.73	6,452.00 ± 117.64	53.17
+ Probenecid	500	1	331.33 ± 40.86	112.33 ± 6.81	219.00 ± 41.42	2.95

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
OAT = organic anion transporter；SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 27

表 2.6.4-33 OATP1B1 発現細胞における HBI-8000 の取り込み量

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	µM	min	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
HBI-8000	45	10	1,512.62 ± 145.76	2,260.79 ± 261.98	-748.17 ± 299.80	0.67
	10	10	335.15 ± 24.21	409.95 ± 33.09	-74.81 ± 41.01	0.82
	5	10	174.46 ± 23.74	233.48 ± 27.07	-59.02 ± 36.01	0.75
	1	10	48.29 ± 2.29	63.81 ± 10.36	-15.52 ± 10.61	0.76
Positive control (accumulation in cpm)						
E217βG	1	3	3,052.00 ± 46.36	46.67 ± 4.62	3,005.33 ± 46.59	65.40
+ Rifampicin	50	3	122.67 ± 41.43	56.67 ± 12.66	66.00 ± 43.32	2.16

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
OATP = organic anion-transporting polypeptide；SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 28

表 2.6.4-34 OATP1B3 発現細胞における HBI-8000 の取り込み量

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	μM	min	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
HBI-8000	50	10	1,797.90 ± 33.09	1,896.00 ± 250.16	-98.10 ± 252.33	0.95
	10	10	389.85 ± 44.32	429.37 ± 111.88	-39.51 ± 120.34	0.91
	5	10	207.78 ± 21.69	207.66 ± 22.66	0.12 ± 31.37	1.00
	1	10	51.37 ± 3.70	51.15 ± 5.73	0.22 ± 6.82	1.00
Positive control (accumulation in cpm)						
CCK-8	0.11	2	802.67 ± 44.38	21.00 ± 3.46	781.67 ± 44.51	38.22
+ Rifampicin	50	2	47.33 ± 3.21	83.33 ± 27.43	-36.00 ± 27.62	0.57

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
OATP = organic anion-transporting polypeptide ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 29

表 2.6.4-35 OCT2 発現細胞における HBI-8000 の取り込み量

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	μM	min	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
HBI-8000	50	10	1,198.02 ± 92.03	983.23 ± 34.36	214.79 ± 98.24	1.22
	10	10	203.76 ± 13.81	183.58 ± 5.95	20.19 ± 15.04	1.11
	5	10	111.37 ± 9.82	83.72 ± 8.87	27.65 ± 13.23	1.33
	1	10	44.57 ± 18.47	22.25 ± 2.45	22.32 ± 18.63	2.00
Positive control (accumulation in cpm)						
Metformin	10	1	485.67 ± 47.04	52.67 ± 10.50	433.00 ± 48.19	9.22
+ Verapamil	300	1	68.67 ± 10.02	32.33 ± 2.52	36.33 ± 10.33	2.12

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
OCT2 = organic cation transporter 2 ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 30

HBI-8000 の Fold accumulation が 2 以上を示した OAT3、OCT2 及び MATE2-K に対する特異性について、HBI-8000 の Fold accumulation の最高値が観察された条件下（OCT2 では 1 μM、10 分間、MATE2-K は 1 μM、10 分間、OAT3 は 5 μM、10 分間）で確認試験を実施した。結果を表 2.6.4-36～表 2.6.4-38 に示す。

OAT3 及び MATE2-K に対する阻害作用の確認試験において、Fold accumulation は再現性があり、阻害剤により、HBI-8000 のトランスポーター特異的取り込みが（OAT3 で 2.3 から 1.1、MATE2-K で 2.9 から 1.2 に）低下した。このことから、HBI-8000 は OAT3 及び MATE2-K の基質である可能性が確認された。

OCT2 に対する阻害作用の確認試験において、1 μM、10 分間で観察された Fold accumulation には、再現性が認められなかった。このことから、HBI-8000 は OCT2 の基質ではないと考えられた。

陽性対照の結果は用いた細胞に対するトランスポーターの機能を示すものであった。

表 2.6.4-36 OAT3 発現細胞における阻害剤有無での HBI-8000 の取り込み量（確認試験）

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	µM	min	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
HBI-8000	5 µM	10 min	490.03 ± 158.05	213.26 ± 18.06	276.76 ± 159.08	2.30
+ Probenecid	500 µM	10 min	264.53 ± 49.48	239.43 ± 32.16	25.11 ± 59.01	1.10
E3S	1 µM	1 min	4,586.67 ± 438.42	103.00 ± 15.62	4,483.67 ± 438.70	44.53
+ Probenecid	500 µM	1 min	193.33 ± 6.35	92.67 ± 18.01	100.67 ± 19.10	2.09

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
OAT = organic anion transporter ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 31

表 2.6.4-37 OCT2 発現細胞における阻害剤有無での HBI-8000 の取り込み量（確認試験）

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	µM	min	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
HBI-8000	1 µM	10 min	27.94 ± 2.53	26.80 ± 1.12	1.14 ± 2.77	1.04
+ Verapamil	300 µM	10 min	26.90 ± 1.32	55.31 ± 21.61	-28.41 ± 21.65	0.49
Metformin	10 µM	1 min	496.33 ± 20.23	46.33 ± 16.77	450.00 ± 26.28	10.71
+ Verapamil	300 µM	1 min	49.67 ± 13.32	31.00 ± 17.06	18.67 ± 21.64	1.60

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
OCT2 = organic cation transporter 2 ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 32

表 2.6.4-38 MATE2-K 発現細胞における阻害剤有無での HBI-8000 の取り込み量（確認試験）

Compound	Conditions		Accumulation (pmol/mg protein)			
	μM	min	In transporter expressing cells	In control cells	Active transport	Fold accumulation
HBI-8000	1 μM	10 min	35.29 ± 3.43	12.19 ± 0.69	23.10 ± 3.50	2.90
+ Pyrimethamine	10 μM	10 min	8.64 ± 0.30	7.23 ± 0.63	1.41 ± 0.69	1.19
Metformin	10 μM	15 min	464.33 ± 13.43	26.00 ± 7.81	438.33 ± 15.53	17.86
+ Pyrimethamine	10 μM	15 min	44.67 ± 5.69	28.67 ± 3.06	16.00 ± 6.45	1.56

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
MATE = multidrug and toxin extrusion transporter ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 33

以上の試験結果から、HBI-8000 は、P-gp、BCRP、MRP2、OAT3 及び MATE2-K の基質である可能性が示唆された。

2.6.4.7.4 トランスポーター阻害

参考資料[5.3.2.2-8] HUYA-02-[redacted]
参考資料[5.3.2.2-9] 14F147 HUYA

P-gp 及び BCRP に対する HBI-8000 の阻害作用について、それぞれ multidrug resistance 1 (MDR1)-MDCK 細胞及び BCRP-MDCK 細胞を用いて評価した（試験番号 14F147 HUYA）。

P-gp に対する阻害実験では、細胞単層をコンフルエンスになるまで培養し、側底膜側（B-to-A）に基質として digoxin を 10 μM の濃度で添加し、valspodar 1 μM 又は HBI-8000 0.412～100 μM の有り／無しの条件下で、2 時間インキュベートした。BCRP に対する阻害実験では、細胞単層をコンフルエンスになるまで培養し、側底膜側（B-to-A）に基質として cladribine を 10 μM の濃度で添加し、Ko143 10 μM 又は HBI-8000 0.412～100 μM の有り／無しの条件下で、2 時間インキュベートした。B-to-A の見かけの透過係数（Papp）及び IC_{50} を算出した（表 2.6.4-39、表 2.6.4-40）。

HBI-8000 は P-gp 及び BCRP に対して顕著な阻害作用を示さず、IC_{50} はいずれも 100 μM 超であった。

表 2.6.4-39 P-gp に対する HBI-8000 の IC_{50}

Test Article	Inhibitor Concentration(μM)	% Recovery	P_{app} (10^{-6} cm/s)			IC50
			R1	R2	Avg	
Digoxin	---	122	6.45	6.33	6.39	---
Digoxin + Valspodar	1	80	0.44	0.43	0.43	---
Digoxin + HBI-8000	100	76	5.57	--	5.57	> 100
	33.3	92	5.41	--	5.41	
	11.1	77	6.06	--	6.06	
	3.70	82	7.07	--	7.07	
	1.23	94	6.58	--	6.58	
	0.412	116	7.50	--	7.50	

Avg = 平均値；IC_{50} = 50%阻害濃度；P_{app} = 見かけの透過係数；P-gp = P-glycoprotein
原典: 14F147 HUYA, Table (p8)

表 2.6.4-40 BCRP に対する HBI-8000 の IC_{50}

Test Article	Inhibitor Concentration(μM)	% Recovery	P_{app} (10^{-6} cm/s)			IC50
			R1	R2	Avg	
Cladribine	---	105	14.3	14.7	14.5	---
Cladribine + Ko143	10	120	0.30	0.29	0.29	---
Cladribine + HBI-8000	100	135	9.03	--	9.03	> 100
	33.3	144	9.77	--	9.77	
	11.1	124	8.42	--	8.42	
	3.70	106	13.1	--	13.1	
	1.23	97	12.8	--	12.8	
	0.412	102	13.9	--	13.9	

Avg = 平均値；BCRP = breast cancer resistance protein；IC_{50} = 50%阻害濃度；P_{app} = 見かけの透過係数
原典: 14F147 HUYA, Table (p10)

続いて、MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT2 に対する HBI-8000 の阻害作用について評価した（試験番号 HUYA-02-[redacted]）。結果を表 2.6.4-41～表 2.6.4-47 に示す。

HBI-8000 は、MATE2-K を介した metformin 輸送を用量依存的に阻害し、相対的阻害（Relative inhibition）は最大で 59%であった。MATE2-K について計算した IC_{50} は 18.31 μM であった。

HBI-8000 は、MATE1、OAT1、OAT3、OATP1B1 及び OATP1B3 の各基質蓄積に対して弱い阻害作用を示し、検討した濃度での最大阻害率それぞれ 46%、29%、23%、34%及び 37%であった。IC_{50} は検討した濃度では 50%阻害に達しなかったため算出しなかった。一方で HBI-8000 は、OCT2 の metformin 輸送に対して 50 μM 濃度で 57%の用量依存的な誘導作用を示した。

表 2.6.4-41 MATE1 による metformin 輸送に対する HBI-8000 の効果

Compound	Nominal Concentration (μM)	Transporter specific accumulation (cpm)	Relative Transporter specific accumulation (% of control)	Relative inhibition (%)
HBI-8000	50.00	232.00 ± 12.60	54.46 ± 3.94	46
	16.67	298.67 ± 12.22	70.11 ± 4.41	30
	5.56	385.00 ± 46.18	90.38 ± 11.67	10
	1.85	421.67 ± 69.27	98.98 ± 16.93	1
	0.62	408.33 ± 24.75	95.85 ± 7.40	4
	0.21	416.00 ± 35.27	97.65 ± 9.50	2
	0.07	401.67 ± 13.80	94.29 ± 5.55	6
Vehicle (DMSO)	0.00	426.00 ± 20.35	100.00 ± 6.75	0
Pyrimethamine	1.00 (μM)	25.33 ± 10.41	6.40 ± 2.76	94
Pyrimethamine vehicle (DMSO)	0.00 (μM)	396.00 ± 51.21	100.00 ± 18.29	0

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
DMSO = ジメチルスルホキシド; MATE = multidrug and toxin extrusion transporter ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 16

表 2.6.4-42 MATE2-K による metformin 輸送に対する HBI-8000 の効果

Compound	Nominal Concentration (μM)	Transporter specific accumulation (cpm)	Relative Transporter specific accumulation (% of control)	Relative inhibition (%)
HBI-8000	50.00	94.67 ± 20.75	40.69 ± 9.16	59
	16.67	106.67 ± 8.85	45.85 ± 4.48	54
	5.56	154.33 ± 4.83	66.33 ± 4.01	34
	1.85	181.67 ± 13.20	78.08 ± 6.96	22
	0.62	236.33 ± 11.72	101.58 ± 7.27	-2
	0.21	223.00 ± 25.39	95.85 ± 11.98	4
	0.07	231.00 ± 20.07	99.28 ± 10.04	1
Vehicle (DMSO)	0.00	232.67 ± 12.01	100.00 ± 7.30	0
Pyrimethamine	10.00 (μM)	-2.00 ± 7.98	-0.84 ± 3.34	101
Pyrimethamine vehicle (DMSO)	0.00 (μM)	239.00 ± 19.54	100.00 ± 11.57	0

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
DMSO = ジメチルスルホキシド ; MATE = multidrug and toxin extrusion transporter ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 17

表 2.6.4-43 OAT1 による tenofovir 輸送に対する HBI-8000 の効果

Compound	Nominal Concentration (µM)	Transporter specific accumulation (cpm)	Relative Transporter specific accumulation (% of control)	Relative inhibition (%)
HBI-8000	50.00	1,951.33 ± 351.69	71.49 ± 14.27	29
	16.67	2,442.00 ± 154.13	89.47 ± 9.53	11
	5.56	2,664.67 ± 268.55	97.63 ± 12.92	2
	1.85	2,547.67 ± 268.28	93.34 ± 12.68	7
	0.62	2,697.67 ± 221.94	98.84 ± 11.74	1
	0.21	2,667.67 ± 289.93	97.74 ± 13.53	2
	0.07	2,714.33 ± 298.30	99.45 ± 13.86	1
Vehicle (DMSO)	0.00	2,729.33 ± 233.99	100.00 ± 12.12	0
Probenecid	500.00 (µM)	44.00 ± 8.76	1.83 ± 0.37	98
Probenecid vehicle (DMSO)	0.00 (µM)	2,403.00 ± 106.84	100.00 ± 6.29	0

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
DMSO = ジメチルスルホキシド; OAT = organic anion transporter ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 18

表 2.6.4-44 OAT3 による E3S 輸送に対する HBI-8000 の効果

Compound	Nominal Concentration (µM)	Transporter specific accumulation (cpm)	Relative Transporter specific accumulation (% of control)	Relative inhibition (%)
HBI-8000	45.00	4,783.33 ± 450.65	76.56 ± 7.50	23
	15.00	5,147.33 ± 377.22	82.38 ± 6.43	18
	5.00	5,414.33 ± 349.60	86.66 ± 6.06	13
	1.67	5,681.67 ± 251.25	90.94 ± 4.71	9
	0.56	5,973.00 ± 237.86	95.60 ± 4.59	4
	0.19	5,863.67 ± 323.57	93.85 ± 5.76	6
	0.06	6,012.67 ± 66.22	96.23 ± 2.79	4
Vehicle (DMSO)	0.00	6,248.00 ± 167.83	100.00 ± 3.80	0
Probenecid	500.00 (µM)	219.00 ± 41.42	3.39 ± 0.64	97
Probenecid vehicle (DMSO)	0.00 (µM)	6,452.00 ± 117.64	100.00 ± 2.58	0

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
DMSO = ジメチルスルホキシド; OAT = organic anion transporter ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 19

表 2.6.4-45 OATP1B1 による $E_2$17βG 輸送に対する HBI-8000 の効果

Compound	Nominal Concentration (μM)	Transporter specific accumulation (cpm)	Relative Transporter specific accumulation (% of control)	Relative inhibition (%)
HBI-8000	45.00	1,899.00 ± 126.83	65.72 ± 6.97	34
	15.00	2,280.00 ± 87.10	78.91 ± 7.17	21
	5.00	2,483.67 ± 131.25	85.95 ± 8.42	14
	1.67	2,658.67 ± 80.50	92.01 ± 8.08	8
	0.56	2,609.67 ± 92.31	90.32 ± 8.10	10
	0.19	2,783.67 ± 166.57	96.34 ± 9.82	4
	0.06	2,852.33 ± 154.75	98.71 ± 9.74	1
Vehicle (DMSO)	0.00	2,889.50 ± 238.27	100.00 ± 11.66	0
Rifampicin	50.00 (μM)	66.00 ± 43.32	2.20 ± 1.44	98
Rifampicin vehicle (DMSO)	0.00 (μM)	3,005.33 ± 46.59	100.00 ± 2.19	0

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
DMSO = ジメチルスルホキシド; OATP = organic anion transporting polypeptide ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 20

表 2.6.4-46 OATP1B3 による CCK-8 輸送に対する HBI-8000 の効果

Compound	Nominal Concentration (μM)	Transporter specific accumulation (cpm)	Relative Transporter specific accumulation (% of control)	Relative inhibition (%)
HBI-8000	50.00	495.33 ± 48.80	63.37 ± 7.21	37
	16.67	603.33 ± 31.96	77.19 ± 6.00	23
	5.56	687.67 ± 81.00	87.97 ± 11.51	12
	1.85	684.67 ± 53.14	87.59 ± 8.43	12
	0.62	780.67 ± 29.04	99.87 ± 6.79	0
	0.21	771.67 ± 47.73	98.72 ± 8.30	1
	0.07	807.00 ± 66.59	103.24 ± 10.35	-3
Vehicle (DMSO)	0.00	781.67 ± 44.51	100.00 ± 8.05	0
Rifampicin	50.00 (μM)	-36.00 ± 27.62	-4.36 ± 3.35	104
Rifampicin vehicle (DMSO)	0.00 (μM)	826.17 ± 34.51	100.00 ± 5.91	0

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
DMSO = ジメチルスルホキシド ; OATP = organic anion transporting polypeptide ; SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 21

表 2.6.4-47 OCT2 による metformin 輸送に対する HBI-8000 の効果

Compound	Nominal Concentration (μM)	Transporter specific accumulation (cpm)	Relative Transporter specific accumulation (% of control)	Relative inhibition (%)
HBI-8000	50.00	680.33 ± 55.24	157.12 ± 21.65	-57
	16.67	637.67 ± 21.85	147.27 ± 17.15	-47
	5.56	556.67 ± 53.14	128.56 ± 18.85	-29
	1.85	511.00 ± 32.06	118.01 ± 15.08	-18
	0.62	486.67 ± 57.15	112.39 ± 18.19	-12
	0.21	467.67 ± 23.27	108.01 ± 13.17	-8
	0.07	478.67 ± 63.24	110.55 ± 19.10	-11
Vehicle (DMSO)	0.00	433.00 ± 48.19	100.00 ± 15.74	0
Verapamil	300.00 (μM)	36.33 ± 10.33	8.63 ± 2.53	91
Verapamil vehicle (DMSO)	0.00 (μM)	420.83 ± 29.54	100.00 ± 9.93	0

データは平均値（n= 3）± SD で示す。
DMSO = ジメチルスルホキシド；OCT2 = organic cation transporter 2；SD = 標準偏差
原典: HUYA-02-[redacted], Table 22

以上の試験結果から、HBI-8000 は、MATE2-K を介した基質輸送を阻害する可能性が示唆された。また、MATE1、OAT1、OAT3、OATP1B1 及び OATP1B3 の各基質輸送をわずかに阻害する可能性が示唆された。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

該当試験なし。

2.6.4.9 総括及び結論

HBI-8000 の薬物動態学的特性をラット及びイヌを用いた *in vivo* 試験及び *in vitro* 試験で評価した。

HBI-8000 をラット及びイヌに単回及び反復投与したときの C_{max} 及び AUC は、概して用量比例的又は用量比を上回って増加した。ラットにおいては、雄に比べて雌で高い血漿中濃度を示した。イヌにおいては、血漿中濃度に顕著な性差は認められなかった。ラット及びイヌ共に反復投与による血漿中濃度の蓄積又は低下はほとんど認められなかった。

[^{14}C]HBI-8000 を部分有色ラットに単回経口投与したときの組織内の放射能は、大部分の組織において投与後 2～8 時間の間でピークに達した。消化管内容物を除いて、最高濃度の放射能は、膀胱、腎臓、肝臓などの排泄に関連する組織で認められた。脾臓、リンパ節、腺組織（胸腺、副腎、下垂体、甲状腺、ハーダー腺を含む）にも顕著に高い濃度が認められた。投与後 120 時間から最終採取時点である投与後 840 時間までメラニンを含むブドウ膜のみに定量可能な放射能が認められ、本薬由来成分のメラニン親和性が示された。

血漿蛋白結合率は、0.3～3 μM の濃度範囲で、ラット血漿で 86.4%～87.9%、イヌ血漿で 79.1%～80.1%、ヒト血漿で 88.9%～89.4%であり、濃度依存性は認められなかった。血球移行率は、0.168～1.68 μM の濃度範囲で、ラット全血で 48.1%～52.8%、イヌ全血で 52.5%～57.8%、ヒト全血で

59.2%～76.0%であり、ヒト全血において濃度依存性が認められた。

HBI-8000 は補酵素である NADPH 無しの条件下においてヒト肝ミクソーム中で安定であり、NADPH 有りの条件下では軽度の代謝を示した。別の試験において、HBI-8000 は、陽性対照試料（NADPH 有り、CYP 阻害剤無し）において陰性対照試料（NADPH 及び CYP 阻害剤無し）中に認められた被験物質の残存レベルと比較してヒト肝ミクロソーム中で 10～20%のごくわずかな消失を示した。CYP3A4 の阻害剤である ketoconazole を除いて、CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP2E1 に対する特異的な阻害剤を添加した阻害反応試料中でも HBI-8000 の残存率は、相当する陽性対照試料中に認められたレベルより顕著に増加しなかった。CYP3A4 阻害剤である ketoconazole の添加により、陽性対照試料中の HBI-8000 の残存率は 81%及び 84%（2 回の独立した試験）から相当する陰性対照試料中の濃度の 96%及び 97%（2 回の独立した試験）に増加した。この結果より、CYP3A4 が HBI-8000 の代謝に関与することが示唆された。

リコンビナントヒト CYP 酵素を用いた CYP フェノタイピング試験において、HBI-8000 は、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP2C8 又は CYP2C9 によって代謝されず、CYP2D6 及び CYP3A4 によってわずかに代謝された。ラット及びヒトの凍結肝細胞を用いた *in vitro* 代謝物プロファイリング試験において、3 種の代謝物を検出した。ヒト肝細胞で検出された代謝物はラット肝細胞でも検出された。代謝物はいずれも Phase 1 代謝によって生成されたものであった。

[^{14}C]HBI-8000 をラットに単回経口投与したときの血漿、尿及び糞中の主成分は未変化体の HBI-8000 であり、それぞれ試料中総放射能の 66.3%、64.96%及び 45.9%を占めた。血漿中にはアミド加水分解体が試料中総放射能の 7.69%を占める少量成分として検出された。この代謝物は、*in vitro* 試験においてラット及びヒト肝細胞で生成された主要代謝物（M1）と一致した。糞中には HBI-8000 の N-グルコース抱合体が試料中総放射能及び投与量のそれぞれ 13.7%及び 8.99%を占める成分として検出された。胆汁中にも未変化体である HBI-8000 は検出されたものの、試料中総放射能の 5.82%を占める少量成分であった。

経口投与した放射能は主に糞中に排泄され、投与後 24 時間以内に大部分が回収された。尿中への排泄は少なく、ケージ洗浄液中及びカーカスで検出された放射能は微量であった。吸収された薬物の割合は尿中及び胆汁中の合計回収率（23.81%）で表され、糞中に回収された放射能（65.77%）は未吸収薬物に由来する可能性を示している。

CYP 阻害試験において、HBI-8000 は、CYP2C8、CYP2C19 及び CYP3A4 に対して阻害作用を示した。時間依存的阻害作用（TDI）の可能性は検討したいずれの CYP（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4）においても示唆されなかった。

CYP 誘導試験において、HBI-8000 は、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4 を誘導する可能性が示唆された。また、CYP1A2 及び CYP2B6 をわずかに誘導する可能性が示唆された。

トランスポーター基質性試験において、HBI-8000 は、P-gp、BCRP、MRP2、OAT3 及び MATE2-K の基質である可能性が示唆された。

トランスポーター阻害試験において、HBI-8000 は、MATE2-K を介した基質輸送を阻害する可能性が示唆された。また、MATE1、OAT1、OAT3、OATP1B1 及び OATP1B3 の各基質輸送をわずかに阻害する可能性が示唆された。

2.6.4.10 参考文献

Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation, US FDA, May 2001

ツシジノスタット
ハイヤスタ錠 10mg

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.5 薬物動態試験概要表

Huya Japan 合同会社

略号一覧表

略語・用語	内容
A-to-B	頂側膜側
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-24}	時間 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-48}	時間 0 から 48 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
B-to-A	側底膜側
BCRP	Breast cancer resistance protein
Caco-2	Human epithelial colorectal adenocarcinoma cell
CL_{int}	固有クリアランス
C_{max}	最大血漿中濃度
CV	変動係数
CYP	チトクローム P450
DEV	理論値からの乖離
DMSO	ジメチルスルホキシド
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験実施の基準
HEK293	ヒト胎児腎細胞 293
IC_{50}	50%阻害濃度
Ki	阻害定数
K_p	血球移行係数
K-Phos	リン酸カリウムバッファー
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィータンデムマススペクトロメトリー
MATE	Multidrug and toxin extrusion transporter
MDCK	Madin-Darby canine kidney
MDR1	Multidrug resistance 1
mRNA	メッセンジャーRNA
MRP2	Multidrug resistance protein 2
NADPH	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion-transporting polypeptide
OCT2	Organic cation transporter 2
P_{app}	見かけの透過係数
P-gp	P-glycoprotein
qPCR	定量的ポリメラーゼ連鎖反応
RBC	赤血球
SD	標準偏差
$T_{1/2}$	半減期
TDI	時間依存的阻害作用
T_{max}	最大血漿中濃度到達時間

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.5 薬物動態試験概要表 4
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 4
2.6.5.2 生体試料分析 9
2.6.5.2.1 ラット血漿中 HBI-8000 濃度測定法バリデーション 9
2.6.5.2.2 イヌ血漿中 HBI-8000 濃度測定法バリデーション 10
2.6.5.3 吸収 11
2.6.5.3.1 ラットにおける血漿中濃度推移 11
2.6.5.3.1.1 ラットにおける 4 週間反復経口投与時の血漿中濃度推移 11
2.6.5.3.1.2 ラットにおける 13 週間反復経口投与時の血漿中濃度推移 13
2.6.5.3.2 イヌにおける血漿中濃度推移 15
2.6.5.3.2.1 イヌにおける 4 週間反復経口投与時の血漿中濃度推移 15
2.6.5.3.2.2 イヌにおける 13 週間反復経口投与時の血漿中濃度推移 17
2.6.5.4 分布 19
2.6.5.4.1 ラットにおける組織分布 19
2.6.5.4.2 血漿蛋白結合 22
2.6.5.4.3 血球移行 23
2.6.5.5 代謝 24
2.6.5.5.1 HBI-8000 の代謝安定性及び CYP フェノタイピング 24
2.6.5.5.2 CYP フェノタイピング 27
2.6.5.5.3 *In vitro* 代謝物プロファイリング 28
2.6.5.5.4 *In vivo* 代謝物プロファイリング 30
2.6.5.6 排泄 36
2.6.5.6.1 ラットにおける排泄 36
2.6.5.7 薬物相互作用 41
2.6.5.7.1 CYP 阻害（8HUYAP3） 41
2.6.5.7.2 CYP 阻害（8HUYAP5R1） 43
2.6.5.7.3 CYP 阻害（HUYA-04-[redacted]） 44
2.6.5.7.4 CYP 阻害（AAIR-0011-DV-TB） 45
2.6.5.7.5 CYP 誘導（HUYA-02-[redacted]） 46
2.6.5.7.6 CYP 誘導（HUYA-04-[redacted]） 48
2.6.5.7.7 トランスポーターの基質となる可能性（14F147 HUYA） 52
2.6.5.7.8 トランスポーターの基質となる可能性（HUYA-02-[redacted]） 53
2.6.5.7.9 トランスポーター阻害（14F147 HUYA） 59
2.6.5.7.10 トランスポーター阻害（HUYA-02-[redacted]） 61
2.6.5.8 その他の薬物動態試験 69

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

試験の種類	GLP 基準	実験系	動物種	分析方法	実施施設	試験番号	記載箇所	区分
生体試料分析								
ラット血漿中 HBI-8000 濃度測定法バリデーション	非適	フルバリデーション	ラット（Sprague Dawley 系）血漿	LC-MS/MS	[redacted]	[redacted]08B-0029	4.2.2.1-1	評価
イヌ血漿中 HBI-8000 濃度測定法バリデーション	非適	フルバリデーション	イヌ（Beagle）血漿	LC-MS/MS	[redacted]	[redacted]07B-0324	4.2.2.1-2	評価
吸収								
ラットにおける血漿中濃度推移 4 週間反復投与 TK 試験	適	2 日に 1 回 27 日間経口投与、9、18、36 mg/kg	ラット（Sprague Dawley 系）	LC-MS/MS	[redacted]	1515-002	4.2.2.2-1	評価
ラットにおける血漿中濃度推移 13 週間反復投与 TK 試験	適	2 日に 1 回 89 日間経口投与、3、9、27 mg/kg	ラット（Sprague Dawley 系）	LC-MS/MS	[redacted]	20092736	4.2.2.2-2	評価
イヌにおける血漿中濃度推移 4 週間反復投与 TK 試験	適	1 日 1 回 12 日間経口投与後、2 日に 1 回 15 日間経口投与、0.25、0.75、1.25 mg/kg	イヌ（Beagle）	LC-MS/MS	[redacted]	1515-001	4.2.2.2-3	評価
イヌにおける血漿中濃度推移 13 週間反復投与 TK 試験	適	2 日に 1 回 89 日間経口投与、0.25、0.75、1.25 mg/kg	イヌ（Beagle）	LC-MS/MS	[redacted]	20092737	4.2.2.2-4	評価

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

試験の種類	GLP 基準	実験系	動物種	分析方法	実施施設	試験番号	記載箇所	区分
分布								
ラットにおける組織分布（マスバランス試験の一部）	非適	[^{14}C]HBI-8000 単回強制経口投与、9 mg/kg（100 µCi/kg）	部分有色ラット（Long Evans 系）	定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）	[redacted]	HYI/01	4.2.2.3-1	評価
血漿蛋白結合	非適	*In vitro*、超遠心法、0.3、1、3 µM	ラット（Sprague Dawley 系）血漿、イヌ（Beagle）血漿、ヒト血漿	LC-MS/MS	[redacted]	AAIR-0008-DV-FB	5.3.2.1-1	参考
血球移行	非適	*In vitro*、37°C で 1 時間インキュベーション、0.168、0.56、1.68 µM	ラット（Sprague Dawley 系）全血、イヌ（Beagle）全血、ヒト全血	LC-MS/MS	[redacted]	AAIR-0010-DV-LA	5.3.2.1-1	参考

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

試験の種類	GLP 基準	実験系	動物種	分析方法	実施施設	試験番号	記載箇所	区分
代謝								
HBI-8000 の代謝安定性及び CYP フェノタイピ	非適	*In vitro*、 代謝安定性：NADPH 有り、無しの条件下で 37°C で 60 分間インキュベーション CYP フェノタイピング：NADPH 無し／CYP 阻害剤無し（陰性対照）、NADPH 有り／CYP 阻害剤無し（陽性対照）、及び NADPH 有り／CYP 阻害剤有り（CYP 阻害試験）の条件下で 37°C で 60 分間インキュベーション	プールしたヒト肝ミクロソーム	LC-MS/MS	[redacted]	8HUYAP2R1	5.3.2.2-2	参考
CYP フェノタイピング	非適	*In vitro*、37°C で 120 分間インキュベーション	リコンビナントヒト CYP 酵素	LC-MS/MS	[redacted]	AAIR-0007-DV-HB and AAIR-0009-DV-CB	5.3.2.2-3	参考
In Vitro 代謝物プロファイリング	非適	*In vitro*、37°C で 360 分間インキュベーション	ラット（Sprague Dawley 系）及びヒト凍結肝細胞	LC-MS/MS	[redacted]	AAIR-0002-DV-MB (metabolite generation) and 1919-003 (metabolite identification)	5.3.2.2-1	参考

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

試験の種類	GLP 基準	実験系	動物種	分析方法	実施施設	試験番号	記載箇所	区分
In Vivo 代謝物プロファイリング（マスバランス試験の一部）	非適	[^{14}C]HBI-8000 単回強制経口投与、9 mg/kg（血漿：500 µCi/kg、尿・糞・胆汁：100 µCi/kg）	ラット（Sprague Dawley 系）	[^{14}C]-ラジオクロマトグラフィー及び LC-MS/MS	[redacted]	HYI/01	4.2.2.4-1	評価
排泄								
ラットにおけるマスバランス試験	非適	[^{14}C]HBI-8000 単回強制経口投与、9 mg/kg（100 µCi/kg）	ラット（Sprague Dawley 系）胆管カニュレーションラット	液体シンチレーションカウンティング（LSC）を用いた QRA	[redacted]	HYI/01	4.2.2.5-1	評価
薬物相互作用								
CYP 阻害	非適	*In vitro*、カクテル基質法：37°C で 7 分間インキュベーション、単独基質法：37°C で 20 分間インキュベーション	ヒト肝ミクロソーム	LC-MS/MS	[redacted]	8HUYAP3	5.3.2.2-4	参考
CYP 阻害	非適	*In vitro*、CYP2C8 アッセイ：37°C で 20 分間インキュベーション、CYP3A4 アッセイ：37°C で 10 分間インキュベーション	ヒト肝ミクロソーム	LC-MS/MS	[redacted]	8HUYAP5R1	5.3.2.2-5	参考
CYP 阻害	非適	*In vitro*、NADPH 有無の条件において 37°C で 30 分間プレインキュベーション後、37°C で 10 分間インキュベーション	ヒト肝ミクロソーム	LC-MS/MS	[redacted]	HUYA-04-[redacted]	5.3.2.2-6	参考

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

試験の種類	GLP 基準	実験系	動物種	分析方法	実施施設	試験番号	記載箇所	区分
CYP 阻害	非適	*In vitro*、NADPH 有無の条件において 37°C で 30 分間プレインキュベーション後、37°C で 30 分間インキュベーション	ヒト肝ミクロソーム	LC-MS/MS	[redacted]	AAIR-0011-DV-TB	5.3.2.2-7	参考
CYP 誘導	非適	*In vitro*、37°C、5% CO_2 下で 48 時間インキュベーション	3 例のヒト凍結肝細胞	qPCR	[redacted]	HUYA-02-[redacted]	5.3.2.2-8	参考
CYP 誘導	非適	*In vitro*、37°C、5% CO_2 下で 48 時間インキュベーション	3 例のヒト凍結肝細胞	qPCR	[redacted]	HUYA-04-[redacted]	5.3.2.2-6	参考
トランスポーターの基質となる可能性	非適	*In vitro*、37°C、5% CO_2 下で 120 分間インキュベーション	Caco-2 細胞	LC-MS/MS	[redacted]	14F147 HUYA	5.3.2.2-9	参考
トランスポーターの基質となる可能性	非適	*In vitro*、37°C、5% CO_2 下で 10 分間インキュベーション	MDCKII 細胞又は HEK293 細胞	LC-MS/MS	[redacted]	HUYA-02-[redacted]	5.3.2.2-8	参考
トランスポーター阻害	非適	*In vitro*、37°C、5% CO_2 下で 120 分間インキュベーション	MDR1-MDCK 細胞又は BCRP-MDCK 細胞	LC-MS/MS	[redacted]	14F147 HUYA	5.3.2.2-9	参考
トランスポーター阻害	非適	*In vitro*、37°C、5% CO_2 下で 1～15 分間インキュベーション	MDCKII 細胞又は HEK293 細胞	LC-MS/MS	[redacted]	HUYA-02-[redacted]	5.3.2.2-8	参考

BCRP = breast cancer resistance protein; Caco-2 = human epithelial colorectal adenocarcinoma cell; CYP = チトクローム P450；GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験実施の基準；HEK293 = ヒト胎児腎細胞 293；LC-MS/MS = 液体クロマトグラフィータンデムマススペクトロメトリー; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR1 = multidrug resistance 1; NADPH = 還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸；qPCR = 定量的ポリメラーゼ連鎖反応；QRA = 定量的放射能分析 QWBA = 定量的全身オートラジオグラフィー；TK = トキシコキネティクス

2.6.5.2 生体試料分析

2.6.5.2.1 ラット血漿中 HBI-8000 濃度測定法バリデーション

Validation of a Method for the Determination of HBI-8000 in Rat Plasma using High-Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection	**Test Article: HBI-8000** **Location in CTD: 4.2.2.1-1** **Report No.: [redacted]08B-0029**
動物種／マトリックス	ラット（Sprague Dawley 系）／血漿（ヘパリン）
分析対象／内部標準	HBI-8000／MS-275
抽出法	Supported liquid extraction（SLE）
分析法	逆相 LC-MS/MS
サンプル量	50 µL
検量線範囲	1.00～500 ng/mL
日内真度	-2.33%～11.3%（理論値からの乖離パーセンテージ[%DEV]）
日内精度	0.774%～6.89%（変動係数[%CV]）
日間真度	1.50%～3.33%（%DEV）
日間精度	4.38%～6.46%（%CV）
回収率	HBI-8000：78.3%、IS：73.7%
特異性	顕著な妨害ピークなし
マトリックス効果	定量下限において 6 個体の%DEV は±8.00%以内
希釈妥当性	10 倍希釈（400 ng/mL 及び 1000 ng/mL）：4.60%及び 7.56%（%CV）、8.75%及び 5.00%（%DEV） 100 倍希釈（1000 ng/mL）：5.78%（%CV）、6.00%（%DEV）
HPLC キャリーオーバー	定量下限の 20.0%未満
安定性	再注入：5°C で 90 時間安定 凍結融解：-70°C／室温で 3 サイクル安定 室温：27 時間安定 凍結：-20°C 及び-70°C で 33 日間安定

2.6.5.2.2 イヌ血漿中 HBI-8000 濃度測定法バリデーション

Validation of a Method for the Determination of HBI-8000 in Dog Plasma using High-Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection	Test Article: HBI-8000 Location in CTD: 4.2.2.1-2 Report No.: [redacted]07B-0324
動物種／マトリックス	イヌ（Beagle）／血漿（ヘパリン）
分析対象／内部標準	HBI-8000／MS-275
抽出法	Supported liquid extraction（SLE）
分析法	逆相 LC-MS/MS
サンプル量	50 μL
検量線範囲	1.00～500 ng/mL
日内真度	-5.50%～10.0%（%DEV）
日内精度	1.36%～9.46%（%CV）
日間真度	2.67%～6.33%（%DEV）
日間精度	3.71%～6.13%（%CV）
回収率	HBI-8000：65.4%、IS：63.5%
特異性	顕著な妨害ピークなし
マトリックス効果	定量下限において 6 個体の%DEV は±10.0%以内
希釈妥当性	5 倍希釈（400 ng/mL 及び 1000 ng/mL）：3.31%及び 5.50%（%CV）、6.75%及び 8.00%（%DEV） 25 倍希釈（1000 ng/mL）：6.27%（%CV）、22.0%（%DEV）
HPLC キャリーオーバー	定量下限の 20.0%未満
安定性	再注入：5°C で 5 日間安定 凍結融解：-70°C／室温で 3 サイクル安定 室温：27 時間安定 凍結：-20°C で 39 日間安定、及び-70°C で 38 日間安定

2.6.5.3 吸収

2.6.5.3.1 ラットにおける血漿中濃度推移

2.6.5.3.1.1 ラットにおける 4 週間反復経口投与時の血漿中濃度推移

HBI-8000: 4-WEEK ORAL TOXICITY STUDY IN RATS WITH A 4-WEEK RECOVERY			Test Article: HBI-8000	
			Location in CTD: 4.2.2.2-1	
			Report No.: 1515-002	
動物種	Sprague Dawley 系ラット			
摂餌条件	非絶食			
性別／動物数	各投与量において雄／7 匹、雌／7 匹			
投与量	9、18、36 mg/kg			
溶媒／処方	10%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン及び 10%プロピレングリコールを含有する脱イオン水溶液（pH 2.5）			
投与法	強制経口投与			
投与回数	2 日に 1 回 27 日間			
サンプリング時間	Day 1 の投与後 0.5、1.5、3、6、12、24 時間及び Day 27 の投与前、投与後 0.5、1.5、3、6、12、24 時間			
分析対象	HBI-8000			
分析法	LC-MS/MS			
薬物動態パラメータ	雄		雌	
	Day 1	**Day 27**	**Day 1**	**Day 27**
Group 5（9 mg/kg）				
C_{max}（ng/mL）	438	468	712	817
T_{max}（hr）	0.5	0.5	0.5	0.5
AUC_{0-48}（ng·hr/mL）	2610	2740	3600	3750
$T_{1/2}$（hr）	6.5	6.5	8.8	5.5
C_{max} Day 27／C_{max} Day 1	---	1.07	---	1.15
AUC_{0-48} Day 27／AUC_{0-48} Day 1	---	1.05	---	1.04
Group 6（18 mg/kg）				
C_{max}（ng/mL）	1030	2270	2550	2470

HBI-8000: 4-WEEK ORAL TOXICITY STUDY IN RATS WITH A 4-WEEK RECOVERY			Test Article: HBI-8000	
			Location in CTD: 4.2.2.2-1	
			Report No.: 1515-002	
T_{max}（hr）	0.5	0.5	0.5	0.5
AUC_{0-48}（ng·hr/mL）	5360	6390	11600	8980
$T_{1/2}$（hr）	7.3	9.0	15.8	8.2
C_{max} Day 27／C_{max} Day 1	---	2.20	---	0.969
AUC_{0-48} Day 27／AUC_{0-48} Day 1	---	1.19	---	0.774
Group 7（36 mg/kg）				
C_{max}（ng/mL）	2520	3670	4410	6640
T_{max}（hr）	0.5	0.5	0.5	0.5
AUC_{0-48}（ng·hr/mL）	12800	15000	16200	21600
$T_{1/2}$（hr）	10.2	15.9	8.5	24.7
C_{max} Day 27／C_{max} Day 1	---	1.46	---	1.51
AUC_{0-48} Day 27／AUC_{0-48} Day 1	---	1.17	---	1.33

2.6.5.3.1.2 ラットにおける 13 週間反復経口投与時の血漿中濃度推移

A 13-Week Study of HBI-8000 by Oral Gavage in Rats with a 4-Week Recovery Period				Test Article: HBI-8000
				Location in CTD: 4.2.2.2-2
				Report No.: 20092736
動物種	Sprague Dawley 系ラット			
摂餌条件	非絶食			
性別／動物数	各投与量において雄／7 匹、雌／7 匹			
投与量	3、9、27 mg/kg			
溶媒／処方	10%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン及び 10%プロピレングリコールを含有する脱イオン水溶液（pH 2.5）			
投与法	強制経口投与			
投与回数	2 日に 1 回 89 日間			
サンプリング時間	Day 1 の投与後 0.5、1.5、3、6、12、24 時間及び Day 89 の投与前、投与後 0.5、1.5、3、6、12、24 時間			
分析対象	HBI-8000			
分析法	LC-MS/MS			
薬物動態パラメータ	**雄**		**雌**	
	Day 1	**Day 89**	**Day 1**	**Day 89**
Group 2（3 mg/kg）				
C_{max}（ng/mL）	90.5	1.76	132	6.61
T_{max}（hr）	1.50	1.50	0.500	1.50
AUC_{0-24}（ng·hr/mL）	573	7.00	961	34.2
$T_{1/2}$（hr）	5.51	NC	8.66	5.84
C_{max} Day 89／C_{max} Day 1	---	0.0194	---	0.0501
AUC_{0-24} Day 89／AUC_{0-24} Day 1	---	0.0122	---	0.0356
Group 3（9 mg/kg）				
C_{max}（ng/mL）	382	245	546	497
T_{max}（hr）	1.50	0.500	1.50	0.500

A 13-Week Study of HBI-8000 by Oral Gavage in Rats with a 4-Week Recovery Period			Test Article: HBI-8000 Location in CTD: 4.2.2.2-2 Report No.: 20092736	
AUC_{0-24}（ng·hr/mL）	2460	1900	3600	2150
$T_{1/2}$（hr）	6.21	14.0	6.82	9.13
C_{max} Day 89／C_{max} Day 1	---	0.641	---	0.910
AUC_{0-24} Day 89／AUC_{0-24} Day 1	---	0.772	---	0.597
Group 4（27 mg/kg）				
C_{max}（ng/mL）	1440	880	2260	3920
T_{max}（hr）	0.500	0.500	0.500	0.500
AUC_{0-24}（ng·hr/mL）	5810	5270	8790	8130
$T_{1/2}$（hr）	4.78	11.2	14.5	6.12
C_{max} Day 89／C_{max} Day 1	---	0.611	---	1.73
AUC_{0-24} Day 89／AUC_{0-24} Day 1	---	0.907	---	0.925

NC = 計算せず。

2.6.5.3.2 イヌにおける血漿中濃度推移

2.6.5.3.2.1 イヌにおける 4 週間反復経口投与時の血漿中濃度推移

HBI-8000: 4-WEEK ORAL TOXICITY STUDY IN DOGS WITH A 4-WEEK RECOVERY				Test Article: HBI-8000		
				Location in CTD: 4.2.2.2-3		
				Report No.: 1515-001		
動物種	ビーグル犬					
摂餌条件	非絶食					
性別／動物数	各投与量において雄／5 匹、雌／5 匹					
投与量	0.25、0.75、1.25 mg/kg					
溶媒／処方	10%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン及び 10%プロピレングリコールを含有する脱イオン水溶液（pH 2.5）					
投与法	強制経口投与					
投与回数	1 日 1 回 12 日間投与後、2 日に 1 回 15 日間投与					
サンプリング時間	Day 1 の投与前、投与後 0.25、0.5、1.5、3、6、12、24 時間、Day 12 の投与後 24、48 時間、及び Day 28 の投与前、投与後 0.25、0.5、1.5、3、6、12、24、36、48、72、96、120 時間					
分析対象	HBI-8000					
分析法	LC-MS/MS					
薬物動態パラメータ	**雄**			**雌**		
	Day 1 QD	**Day 12 QD**	**Day 28 QOD**	**Day 1 QD**	**Day 12 QD**	**Day 28 QOD**
Group 2（0.25 mg/kg）						
C_{max}（ng/mL）	31.7	---	22.7	13.8	---	13.9
T_{max}（hr）	0.50	---	0.50	0.50	---	0.50
AUC（ng·hr/mL）	57.2	---	58.2	24.0	---	29.8
$T_{1/2}$（hr）	1.84	---	1.85	1.46	---	1.54
C_{max} Day 28／C_{max} Day 1	---	---	0.716	---	---	1.01
AUC Day 28／AUC Day 1	---	---	1.02	---	---	1.24
24 hrs Concentration（ng/mL）	0.220	0.680	---	0.00	0.204	---

HBI-8000: 4-WEEK ORAL TOXICITY STUDY IN DOGS WITH A 4-WEEK RECOVERY					Test Article: HBI-8000 Location in CTD: 4.2.2.2-3 Report No.: 1515-001	
48 hrs Concentration（ng/mL）	---	0.282	0.00	---	0.00	0.00
Group 3（0.75 mg/kg）						
C_{max}（ng/mL）	158	---	78.6	93.2	---	92.6
T_{max}（hr）	1.5	---	0.50	1.50	---	0.50
AUC（ng·hr/mL）	411	---	195	243	---	157
$T_{1/2}$（hr）	5.94	---	3.60	4.44	---	2.09
C_{max} Day 28／C_{max} Day 1	---	---	0.497	---	---	0.994
AUC Day 28／AUC Day 1	---	---	0.474	---	---	0.646
24 hrs Concentration（ng/mL）	2.10	3.81	---	0.800	2.36	---
48 hrs Concentration（ng/mL）	---	1.75	0.00	---	1.27	0.00
Group 4（1.25 mg/kg）						
C_{max}（ng/mL）	274	---	299	350	---	247
T_{max}（hr）	0.50	---	0.50	0.50	---	0.50
AUC（ng·hr/mL）	574	---	585	724	---	470
$T_{1/2}$（hr）	4.17	---	12.2	5.55	---	7.02
C_{max} Day 28／C_{max} Day 1	---	---	1.09	---	---	0.706
AUC Day 28／AUC Day 1	---	---	1.02	---	---	0.649
24 hrs Concentration（ng/mL）	1.83	4.04	---	2.82	4.26	---
48 hrs Concentration（ng/mL）	---	2.57	0.00	---	3.11	0.00

QD = 1 日 1 回；QOD = 2 日に 1 回
注：Day 1 は AUC_{0-24}、Day 28 は AUC_{0-48}

2.6.5.3.2.2 イヌにおける 13 週間反復経口投与時の血漿中濃度推移

A 13-Week Study of HBI-8000 by Oral Gavage in Dogs with a 4-Week Recovery Period					Test Article: HBI-8000 Location in CTD: 4.2.2.2-4 Report No.: 20092737
動物種	ビーグル犬				
摂餌条件	非絶食				
性別／動物数	各投与量において雄／5 匹、雌／5 匹				
投与量	0.25、0.75、1.25 mg/kg				
溶媒／処方	10%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン及び 10%プロピレングリコールを含有する脱イオン水溶液（pH 2.5）				
投与法	強制経口投与				
投与回数	2 日に 1 回 89 日間				
サンプリング時間	Day 1 及び Day 89 の投与前、投与後 0.25、0.5、1.5、3、6、12、24 時間				
分析対象	HBI-8000				
分析法	LC-MS/MS				
薬物動態パラメータ	**雄**		**雌**		
	Day 1	**Day 89**	**Day 1**	**Day 89**	
Group 2（0.25 mg/kg）					
C_{max}（ng/mL）	35.8	22.0	29.4	38.1	
T_{max}（hr）	0.700	0.700	0.700	0.500	
AUC_{0-24}（ng·hr/mL）	64.7	55.6	59.7	79.0	
$T_{1/2}$（hr）	3.69	2.41	1.45	2.98	
C_{max} Day 89／C_{max} Day 1	---	0.615	---	---	
AUC Day 89／AUC Day 1	---	0.859	---	---	
Group 3（0.75 mg/kg）					
C_{max}（ng/mL）	74.7	165	160	172	
T_{max}（hr）	0.900	1.10	0.700	0.900	
AUC_{0-24}（ng·hr/mL）	211	371	353	415	

A 13-Week Study of HBI-8000 by Oral Gavage in Dogs with a 4-Week Recovery Period			Test Article: HBI-8000 Location in CTD: 4.2.2.2-4 Report No.: 20092737	
$T_{1/2}$（hr）	10.1	17.4	11.6	8.78
C_{max} Day 89／C_{max} Day 1	---	2.21	---	---
AUC Day 89／AUC Day 1	---	1.76	---	---
Group 4（1.25 mg/kg）				
C_{max}（ng/mL）	298	209	232	283
T_{max}（hr）	0.500	0.900	0.500	0.900
AUC_{0-24}（ng·hr/mL）	502	455	417	669
$T_{1/2}$（hr）	10.6	11.5	8.23	7.82
C_{max} Day 89／C_{max} Day 1	---	0.701	---	---
AUC Day 89／AUC Day 1	---	0.906	---	---

2.6.5.4 分布

2.6.5.4.1 ラットにおける組織分布

Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion Studies following a Single Oral Dose Administration to Male Rats		Test Article: HBI-8000								
		Location in CTD: 4.2.2.3-1								
		Report No.: HYI/01								
動物種		部分有色ラット（Long Evans）								
摂餌条件		絶食								
性別／動物数		雄／9 匹								
投与量		9 mg/kg（100 μCi/kg）								
溶媒／処方		10%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン及び 10%プロピレングリコールを含有する脱イオン水溶液（pH 2.5）								
投与法		強制経口投与								
投与回数		1 回								
サンプリング時間		投与後 2、8、24、48、72、120、168、336、840 時間								
分析対象		放射能								
分析法		定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）								
組織分類	**組織**	**Concentration of Radioactivity in Tissues (μg equivalent/g)**								
		2 h	**8 h**	**24 h**	**48 h**	**72 h**	**120 h**	**168 h**	**336 h**	**840 h**
消化管	盲腸内容物	109†	47.4	6.43	0.192	0.093	BLQ	ND	ND	ND
	盲腸粘膜	1.84	2.15	0.402	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	大腸内容物	BLQ	27.1	24.1	0.255	0.207	BLQ	ND	ND	ND
	大腸粘膜	1.85	3.22	0.842	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	小腸内容物	27.3	3.53	1.59	0.153	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
	小腸粘膜	6.13	1.73	0.659	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
	胃内容物	280†	0.077	BLQ	0.175	BLQ	ND	ND	ND	ND
	前胃粘膜	2.13	1.30	0.290	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
	腺胃粘膜	2.29	1.00	0.386	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND

Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion Studies following a Single Oral Dose Administration to Male Rats								Test Article: HBI-8000 Location in CTD: 4.2.2.3-1 Report No.: HYI/01		
中枢神経	脳	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	脈絡叢	0.238	0.081	BLQ	NS	ND	ND	ND	ND	ND
	脊髄	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
結合組織	骨	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
真皮	白色皮膚	0.389	0.498	0.293	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	有色皮膚	0.575	0.647	0.376	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
内分泌	副腎	2.40	1.22	0.430	0.155	0.090	BLQ	ND	ND	ND
	松果体	0.879	0.858	0.263	0.108	ND	ND	ND	ND	ND
	下垂体	1.48	1.53	0.800	0.217	0.138	ND	ND	ND	ND
	甲状腺	0.754	0.706	0.194	0.160	0.118	ND	ND	ND	ND
排出/代謝	肝臓	1.93	0.783	0.297	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
	腎皮質	1.67	1.00	0.314	0.099	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
	腎髄質	2.93	1.31	0.422	0.135	0.082	BLQ	ND	ND	ND
	腎臓全体	2.33	1.18	0.380	0.121	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
	膀胱内容物	0.769	1.00	0.618	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	膀胱壁	1.96	0.617	0.190	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
外分泌	眼窩外涙腺	0.672	0.468	0.085	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	ハーダー腺	1.09	1.42	0.905	0.155	0.085	ND	ND	ND	ND
	膵臓	0.592	0.311	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	唾液腺	0.797	0.624	0.137	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	褐色脂肪	0.911	0.990	0.395	0.091	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
	白色脂肪	BLQ	0.108	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion Studies following a Single Oral Dose Administration to Male Rats								Test Article: HBI-8000		
								Location in CTD: 4.2.2.3-1		
								Report No.: HYI/01		
眼球	水晶体	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	ブドウ膜	0.801	1.46	1.68	1.18	0.956	0.769	0.575	0.543	0.549
	眼球全体	0.192	0.291	0.321	0.245	0.206	0.152	0.142	0.094	0.107
生殖器	精巣上体	0.348	NS	0.245	0.108	BLQ	ND	ND	ND	ND
	前立腺	0.422	0.215	BLQ	BLQ	BLQ	ND	NS	ND	ND
	精巣	0.121	0.109	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND
呼吸器	肺	0.556	0.506	0.169	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
骨格／筋肉	大動脈	1.04	0.571	0.079	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	骨格筋	0.348	0.472	0.287	0.119	BLQ	ND	ND	ND	ND
	心筋	0.736	0.684	0.278	0.119	BLQ	ND	ND	ND	ND
血管／リンパ	循環血	0.335	0.083	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	骨髄	0.510	0.580	0.127	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
	リンパ節	0.938	1.35	0.806	0.427	0.189	BLQ	ND	ND	ND
	脾臓	1.22	1.30	0.684	0.175	0.090	BLQ	ND	ND	ND
	胸腺	0.607	1.13	1.04	0.523	0.146	BLQ	ND	ND	ND

† = 定量上限を超えた濃度値（>55.4 µg eq./g）; BLQ = 定量下限未満（<0.075 µg eq./g）; ND = 検出せず; NS = サンプルなし

2.6.5.4.2 血漿蛋白結合

Protein Binding of HBI-8000 to Rat, Dog and Human Plasma Proteins			Test Article: HBI-8000 Location in CTD: 5.3.2.1-1 Report No.: AAIR-0008-DV-FB
アッセイ	*In vitro*、超遠心法		
測定対象／内部標準	HBI-8000／Carbutamide		
陽性対照／内部標準	Warfarin／Chrysin		
分析法	LC-MS/MS		
濃度	0.3、1、3 μM		
マトリックス	プールラット血漿（Sprague-Dawley 系）、プールイヌ血漿（Beagle）、プールヒト血漿		
動物種	**化合物**	**濃度（μM）**	**蛋白結合率（%、平均±SD）**
ラット	HBI-8000	0.3	86.4±0.6
		1	87.9±0.4
		3	87.5±0.9
	Warfarin	1	99.1±0.04
イヌ	HBI-8000	0.3	80.1±1.3
		1	79.1±2.1
		3	79.9±0.3
	Warfarin	1	96.4±0.5
ヒト	HBI-8000	0.3	89.4±0.8
		1	88.9±0.5
		3	89.4±0.7
	Warfarin	1	98.9±0.1

LC-MS/MS = 液体クロマトグラフィータンデムマススペクトロメトリー；SD = 標準偏差

2.6.5.4.3 血球移行

Red Blood Cell Partitioning of HBI-8000 in Rat, Dog and Human Whole Blood (K_2EDTA)				Test Article: HBI-8000 Location in CTD: 5.3.2.1-1 Report No.: AAIR-0010-DV-LA
アッセイ	*In vitro*、37°C で 1 時間インキュベーション			
測定対象／内部標準	HBI-8000／Carbutamide			
陽性対照／内部標準	Chlorthalidone／Carbutamide			
分析法	LC-MS/MS			
濃度	0.168、0.56、1.68 μM			
マトリックス	ラット新鮮全血（Sprague-Dawley 系)、イヌ新鮮全血（Beagle）、ヒト新鮮全血			
動物種	**化合物**	**濃度（μM）**	**血球移行係数（Kp）**	**血球移行率（%）**
ラット	HBI-8000	0.168	1.72	51.3
		0.56	1.83	52.8
		1.68	1.51	48.1
	Chlorthalidone	1	155	99.0
イヌ	HBI-8000	0.168	2.24	57.8
		0.56	2.00	55.1
		1.68	1.80	52.5
	Chlorthalidone	1	57.5	97.2
ヒト	HBI-8000	0.168	5.18	76.0
		0.56	3.04	65.1
		1.68	2.37	59.2
	Chlorthalidone	1	9.44	85.3

Kp = 血球移行係数；LC-MS/MS = 液体クロマトグラフィータンデムマススペクトロメトリー

2.6.5.5 代謝

2.6.5.5.1 HBI-8000 の代謝安定性及び CYP フェノタイピング

Metabolic Stability of HBI-8000 in Pooled Human Liver Microsomes	**Test Article: HBI-8000**
	Location in CTD: 5.3.2.2-2
	Study No. 8HUYAP2R1

プールしたヒト肝ミクロソーム中での代謝安定性	
試験方法	プールしたヒト肝ミクソーム（0.8 mg 蛋白/mL）を含む反応混合物をプレインキュベートした後、HBI-8000 を最終濃度が 5 μM となるよう添加し、NADPH（1 mM）有り、又は無しの条件下で 37°C で 60 分間インキュベートした。インキュベーション中、0、15、30 及び 60 分の時点で各 100 μL の試料を採取（各 3 回）し、各試料は 900 μL の氷冷 50%アセトニトリル水溶液と混合することにより、反応を停止させた。陽性対照として、testosterone（20 μM）及び propranolol（5 μM）を用い、HBI-8000 のインキュベーションと並行して試験を実施した。被験物質の残存率の自然対数を時間に対してプロットした。線形フィットを速度定数の決定に用いた。被験物質の残存率が 10%以下であった場合、フィットは切り捨てられた。被験物質及び対照化合物の消失半減期を、各化合物の代謝安定性を比較するために求めた。
分析法	LC-MS/MS
被験物質及び陽性対照化合物濃度	HBI-8000 （5 μM）、testosterone（陽性対照：20 μM）、propranolol （陽性対照：5 μM）

ヒト肝ミクロソーム中での陽性対照化合物及び被験物質の代謝安定性

化合物 (μM)	**60 分時点での残存率（%）**	**$T_{1/2}$（分）**	**$T_{1/2}$ 許容基準（分）***
Testosterone (20)	<3	6.3	$4.5 \leq T_{1/2} \leq 11.5$
Propranolol (5)	42	50	$45 \leq T_{1/2} \leq 85$

被験物質	**NADPH**	**初期濃度 (μM)**	**各測定時点での残存率（%）**				**$T_{1/2}$ （分）**
			0	15	30	60	
HBI-8000	+	6.14	100	70	63	59	>60
HBI-8000	-	5.34	100	N/A	N/A	106	N/A

略号：NADPH =還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸；N/A＝ 該当データなし；$T_{1/2}$＝ 半減期
*Absorption Systems LP で設定された許容基準値

2.6.5.5.1 HBI-8000 の代謝安定性及び CYP フェノタイピング（続き）

CYP フェノタイピングアッセイ：初回試験							
試験方法	HBI-8000 を最終濃度 1 μM となるようヒト肝ミクロソーム（0.5 mg/mL）を含む反応混合液に添加し、3 種の反応系（CYP1A2、CYP2A6 及び陽性対照 1）を除いて、37°C で 3 分間プレインキュベートした。これら 3 種の反応系は 15 分間のプレインキュベートを必要とした。 陰性対照：3 分間のプレインキュベート後、反応混合物を 37°C で 60 分間インキュベートした。 陽性対照：3 分間（陽性対照 2）又は 15 分間（陽性対照 1）のプレインキュベート後、NADPH（1 mM）を反応混合物へ添加し、37°C で 60 分間インキュベートした。 CYP フェノタイピング：3 分間又は 15 分間のプレインキュベート後、NADPH（1 mM）及び CYP 阻害剤を反応混合物へ添加し、37°C で 60 分間インキュベートした。						
分析法	LC-MS/MS						
試料／ CYP 分子種	NADPH	標準的 CYP 阻害剤	阻害剤濃度(μM)	15 分間プレインキュベーションの有無	HBI-8000 濃度（μM、n= 3）		陰性対照と比較した残存率（%）
					平均	S.D.	
陰性対照	-	-	N/A	無し	1.19	0.02	100
陽性対照 1	+	-	N/A	有り	1.39	0.06	117
1A2	+	Furafylline	15	有り	1.35	0.02	114
2A6	+	8-Methoxypsoralen	1	有り	1.30	0.05	109
陽性対照 2	+	-	N/A	無し	1.00	0.01	84
2B6	+	Thio-TEPA	50	無し	1.00	0.01	84
2C8	+	Quercetin	30	無し	0.95	0.01	80
2C9	+	Sulfaphenazole	10	無し	0.99	0.01	84
2C19	+	(+)-N-3-benzylnirvanol	5	無し	1.02	0.01	86
2D6	+	Quinidine	1	無し	1.02	0.03	86
2E1	+	4-Methylpyrazole	5	無し	0.98	0.00	83
3A4	+	Ketoconazole	5	無し	1.15	0.01	97

2.6.5.5.1 HBI-8000 の代謝安定性及び CYP フェノタイピング（続き）

CYP フェノタイピングアッセイ：繰り返し試験							
試験方法	HBI-8000 を最終濃度 1 μM となるようヒト肝ミクロソーム（0.8 mg/mL）を含む反応混合液に添加し、37°C で 3 分間、又は 15 分間プレインキュベートした。 陰性対照：3 分間（陰性対照 2）又は 15 分間（陰性対照 1）のプレインキュベート後、反応混合物を 37°C で 60 分間インキュベートした。 陽性対照：3 分間（陽性対照 2）又は 15 分間（陽性対照 1）のプレインキュベート後、NADPH（1 mM）を反応混合物へ添加し、37°C で 60 分間インキュベートした。 CYP フェノタイピング：3 分間又は 15 分間のプレインキュベート後、NADPH（1 mM）及び CYP 阻害剤を反応混合物へ添加し、37°C で 60 分間インキュベートした。						
分析法	LC-MS/MS						
試料／ CYP 分子種	NADPH	標準的 CYP 阻害剤	阻害剤濃度(μM)	15 分間プレインキュベーションの有無	HBI-8000 濃度（μM、n= 3）		陰性対照と比較した残存率（%）
					平均	S.D.	
陰性対照 1	-	-	N/A	有り	1.35	0.02	100
陽性対照 1	+	-	N/A	有り	1.21	0.03	89
1A2	+	Furafylline	15	有り	1.22	0.10	90
2A6	+	8-Methoxypsoralen	1	有り	1.20	0.01	89
陰性対照 2	-	-	N/A	無し	1.04	0.03	100
陽性対照 2	+	-	N/A	無し	0.84	0.02	81
2B6	+	Thio-TEPA	50	無し	0.87	0.02	83
2C8	+	Quercetin	30	無し	0.78	0.01	75
2C9	+	Sulfaphenazole	10	無し	0.84	0.02	81
2C19	+	(+)-N-3-benzylnirvanol	5	無し	0.84	0.02	80
2D6	+	Quinidine	1	無し	0.83	0.02	80
2E1	+	4-Methylpyrazole	5	無し	0.83	0.02	80
3A4	+	Ketoconazole	5	無し	1.01	0.01	96

略号：CYP＝ チトクローム P450；LC-MS/MS＝ 液体クロマトグラフィータンデムマススペクトロメトリー；N/A＝ 該当せず；NADPH＝ 還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸；S.D.＝ 標準偏差；Thio-TEPA = N, N', N''-Triethylene thiophosphoramide
+: NADPH 有り；-: NADPH 無し

2.6.5.5.2 CYP フェノタイピング

HBI-8000: Human Cytochrome (CYP450) Reaction Phenotyping			**Test Article: HBI-8000** **Location in CTD: 5.3.2.2-3** **Report No.: AAIR-0007-DV-HB (FMO enzyme stability) and AAIR-0009-DV-CB (CYP450 Phenotyping)**
アッセイ	*In vitro*、リコンビナントヒト CYP 酵素（Supersomes）、37°C で 120 分間インキュベーション		
CYP 分子種／陽性対照	CYP1A2／phenacetin、CYP2B6／bupropion、CYP2C19／mephenytoin、CYP2C8／amodiaquine、CYP2C9／diclofenac、CYP2D6／dextromethorphan、CYP3A4／midazolam		
分析法	LC-MS/MS		
化合物濃度／Supersome 濃度	0.5 μM／0.025 μM		
CYP 分子種	**化合物**	**$T_{1/2}$（分）**	**120 分後における残存率（%）**
CYP1A2	HBI-8000	>120	118.9
	Phenacetin	193	66.8
CYP2B6	HBI-8000	>120	108.4
	Bupropion	57.0	24.1
CYP2C19	HBI-8000	>120	105.0
	Mephenytoin	29.7	6.4
CYP2C8	HBI-8000	>120	103.4
	Amodiaquine	<15	NA
CYP2C9	HBI-8000	>120	96.9
	Diclofenac	<15	NA
CYP2D6	HBI-8000	207	63.2
	Dextromethorphan	<15	NA
CYP3A4	HBI-8000	101	45.1
	Midazolam	<15	NA
K-Phos with NADPH	HBI-8000	370	81.1

K-Phos = リン酸カリウムバッファー; NA = 該当せず; NADPH = ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸; $T_{1/2}$ = 半減期

2.6.5.5.3 *In vitro* 代謝物プロファイリング

HBI-8000 Metabolic Stability and Metabolite Identification: Sprague-Dawley Rat and Human Hepatocytes (Cryopreserved)	**Test Article: HBI-8000** **Location in CTD: 5.3.2.2-1** **Report No.: AAIR-0002-DV-MB (metabolite generation), 1919-003 (metabolite identification)**

アッセイ	*In vitro*、ラット及びヒト凍結肝細胞、37°C で 360 分間インキュベーション
分析法	LC-MS/MS
化合物濃度／肝細胞数	2、10 μM／1.0 × 10^6 cells/mL

マトリックス	動物種	化合物	濃度（μM）	$T_{1/2}$（分）	360 分後における残存率（%）	CL_{int}（mL/min/kg）	CL_{int}（L/hr/kg）
肝細胞 1.00 × 10^6 cells/mL	ラット	HBI-8000	2	1077	84.0	3.39	0.203
		7-Ethoxycoumarin	2	117	10.1	31.1	1.87
	ヒト	HBI-8000	2	1053	79.2	1.78	0.107
		7-Ethoxycoumarin	2	43.1	0.2	43.4	2.60

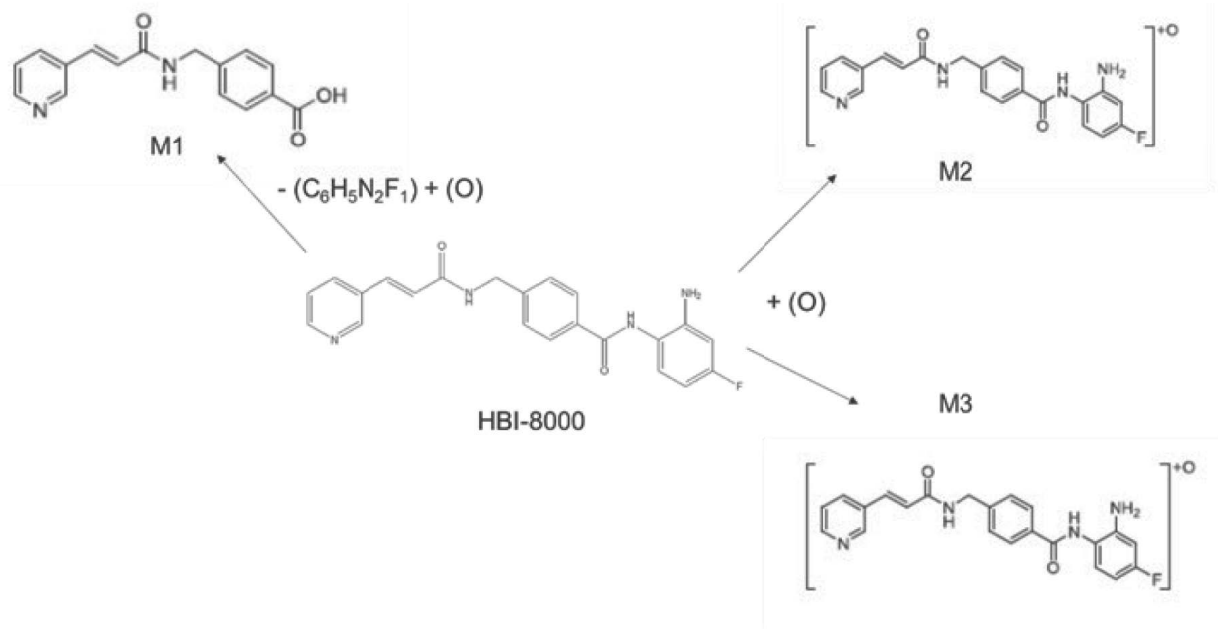
肝細胞培養液中の HBI-8000 代謝物

代謝物コード	保持時間（分）	ピーク面積			
		Sprague-Dawley ラット		ヒト	
		カウント	面積比（%）	カウント	面積比（%）
M1	12.20	24.6	2.9	4.8	1.1
M2	12.39	6.5	0.8	2.4	0.5
M3	12.96	5.7	0.7	NF	NA
HBI-8000	14.04	803.1	95.6	435.1	98.4

2.6.5.5.3 *In vitro* 代謝物プロファイリング（続き）

代謝物の同定						
代謝物コード	保持時間（分）	測定された精密質量	推定組成式	質量理論値	誤差（ppm）	組成変化
M1	8.59	283.1085	C16 H14 N2 O3	283.1077	2.8	-($C_6H_5N_2F_1$) + (O)
M2	11.05	407.1494	C22 H19 F1 N4 O2	407.1514	-4.9	+ (O)
M3	12.28	407.1530	C22 H19 F1 N4 O2	407.1514	3.9	+ (O)
HBI-8000	12.32	391.1547	C22 H19 F1 N4 O1	391.1565	-4.6	---

In Vitro での推定主要代謝経路



CL_{int} = 固有クリアランス；NA = 該当せず；NF = 検出されず；$T_{1/2}$ = 半減期