アロカリス点滴静注　235 mg

第 2 部（モジュール 2）:
CTD の概要（サマリー）

2.6.4　薬物動態試験の概要文

大鵬薬品工業株式会社

目次

目次 2
略号一覧表 5
化合物一覧表 7
2.6.4 薬物動態試験の概要文 9
2.6.4.1 まとめ 9
2.6.4.1.1 吸収 9
2.6.4.1.2 分布 9
2.6.4.1.3 代謝 9
2.6.4.1.4 排泄 10
2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用 10
2.6.4.2 分析法 11
2.6.4.2.1 非標識体の分析法 11
2.6.4.2.2 標識体を用いた分析法 12
2.6.4.3 吸収 12
2.6.4.3.1 単回静脈内投与時の薬物動態 12
2.6.4.3.2 反復静脈内投与時の薬物動態 18
2.6.4.4 分布 19
2.6.4.4.1 血漿タンパク結合 19
2.6.4.4.2 血球移行 19
2.6.4.4.3 ラットにおける組織分布 20
2.6.4.4.4 ラットにおける脳への曝露 24
2.6.4.4.5 ラットにおける胎児への移行 25
2.6.4.4.6 イヌにおける心臓への曝露 26
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） 27
2.6.4.5.1 *In vitro* における代謝 27
2.6.4.5.2 *In vivo* における代謝 29
2.6.4.6 排泄 30
2.6.4.6.1 ラットにおける尿糞中排泄 30
2.6.4.6.2 ラットにおける胆汁中排泄 31
2.6.4.6.3 ラットにおける乳汁中排泄 32
2.6.4.6.4 イヌにおける尿糞中排泄 32
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 33
2.6.4.7.1 代謝酵素に関連した薬物相互作用 33
2.6.4.7.2 トランスポーターに関連した薬物相互作用 36
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 38
2.6.4.9 考察及び結論 38
2.6.4.10 図表 40
2.6.4.11 参考文献 40

図一覧

図 2.6.4.2.2-1　[^{14}C]-Pro-NETU の化学構造式 12
図 2.6.4.3.1.1-1　ラットにおける 10 mg/kg ホスネツピタント二ナトリウム塩 単回静脈内投与後の血漿中濃度推移（NETU-09-20） 13
図 2.6.4.3.1.2-1　イヌにおける 3 mg/kg ホスネツピタント二ナトリウム塩 単回静脈内投与後の血漿中濃度推移（NETU-09-20） 16
図 2.6.4.4.3-1　雄性アルビノラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の放射能の組織分布（PNET-13-39） 21
図 2.6.4.5.1-1　本剤の推定主要代謝経路 27

表一覧

表 2.6.4.3.1.1-1　ラットにおける 10 mg/kg ホスネツピタント二ナトリウム塩 単回静脈内投与後の薬物速度論的パラメータ（NETU-09-20） 13
表 2.6.4.3.1.1-2　ラットにおける 11.9 mg/kg 本剤又は 10.0 mg/kg NETU 単回静脈内投与後の血漿中薬物速度論的パラメータ（PNET-13-15） 14
表 2.6.4.3.1.1-3　ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の 血液及び血漿中総放射能の薬物速度論的パラメータ（PNET-13-37） 14
表 2.6.4.3.1.1-4　ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の 薬物速度論的パラメータ（PNET-13-37） 15
表 2.6.4.3.1.2-1　イヌにおける 3 mg/kg ホスネツピタント二ナトリウム塩 単回静脈内投与後の薬物速度論的パラメータ（NETU-09-20） 16
表 2.6.4.3.1.2-2　イヌにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の 血液及び血漿中総放射能の薬物速度論的パラメータ（PNET-13-75） 17
表 2.6.4.3.1.2-3　イヌにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の 薬物速度論的パラメータ（PNET-13-75） 17
表 2.6.4.3.1.3-1　サルにおける 4.5 mg/kg 本剤又は 3.8 mg/kg NETU 単回静脈内投与後の 薬物速度論的パラメータ（PNET-12-16） 18
表 2.6.4.4.3-1　雄性アルビノラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の組織内濃度（PNET-13-39） 22
表 2.6.4.4.3-2　雌性アルビノラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の組織内濃度（PNET-13-39） 23
表 2.6.4.4.3-3　雄性有色ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の 組織内濃度（PNET-13-39） 24
表 2.6.4.4.4-1　ラットにおける 11.9 mg/kg 本剤又は 10.0 mg/kg NETU 単回静脈内投与後の脳中薬物速度論的パラメータ（PNET-13-15） 25
表 2.6.4.4.5-1　妊娠ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の組織内濃度（AE-8413-G） 26
表 2.6.4.5.1.4-1　CYP 各分子種選択的阻害剤添加／未添加時における ヒト肝ミクロソームでの NETU の固有クリアランス（NETU-13-21） 29

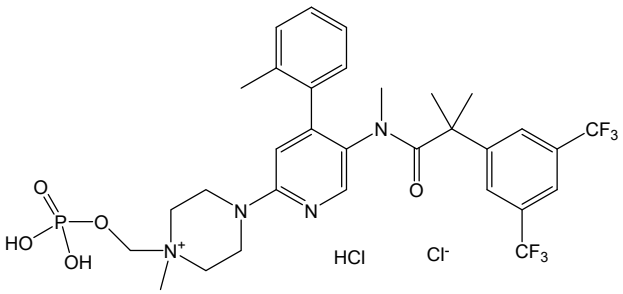
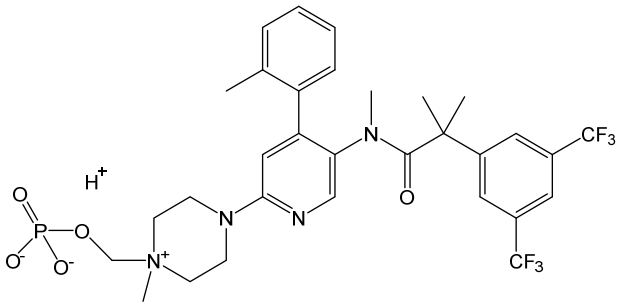
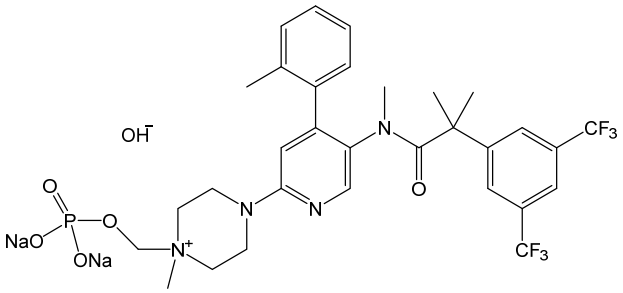
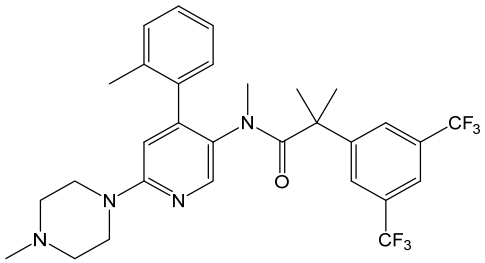
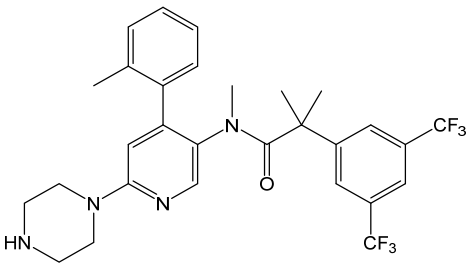
表 2.6.4.6.1-1　ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の 尿及び糞中排泄率（PNET-13-36） 31
表 2.6.4.6.2-1　胆管カニューレ処置ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の胆汁，尿及び糞中排泄率（PNET-13-38） 32
表 2.6.4.6.4-1 イヌにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の尿及び糞中排泄率（PNET-13-75） 33

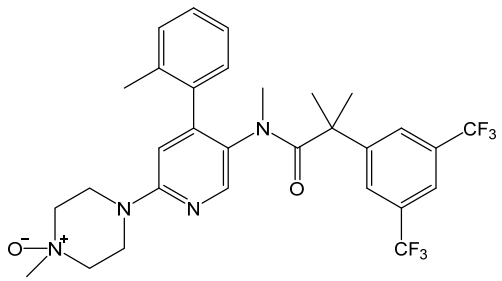
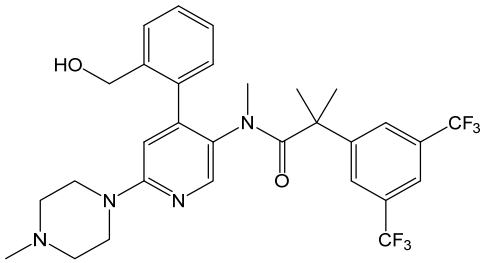
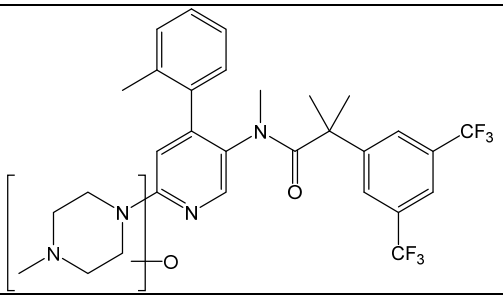
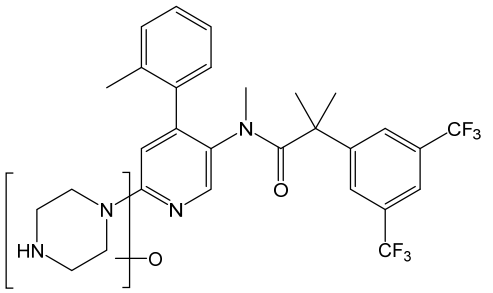
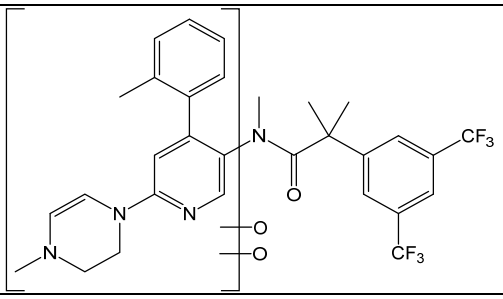
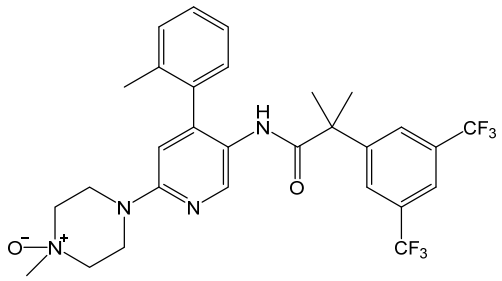
略号一覧表

略号	内容
AUC	Area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area under the plasma concentration-time curve from 0 to t hours：投与 0 時間から t 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{inf}	Area under the plasma concentration-time curve from 0 to time infinity：投与 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{last}	Area under the plasma concentration-time curve from 0 to time of the last quantifiable plasma concentration：投与 0 時間から最終濃度検出時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein：乳がん耐性タンパク質
BSEP	Bile salt export pump：胆汁酸排出トランスポーター
Caco-2	ヒト結腸がん由来
CL_{tot}	Total body clearance：全身クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
[^{14}C]-Pro-NETU	^{14}C-radiolabeled Pro-NETU：^{14}C で放射能標識した Pro-NETU
CV	Coefficient of variation：変動係数
CYP	Cytochrome P450：シトクロム P450
[I]	Maximal concentration of inhibitor：阻害剤最高濃度
$[I_{u,b}]$	Unbound maximal blood concentration：非結合形血中最高濃度
IC_{50}	Half maximal (50%) inhibitory concentration：50%阻害濃度
K_i	Inhibition constant：阻害定数
K_I	Inhibitor concentration causing half-maximal inactivation：最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度
k_{inact}	Maximal inactivation rate constant：最大不活性化速度定数
LC/MS/MS	Liquid chromatography/tandem mass spectrometry：液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法
LLOQ	Lower limit of quantification：定量下限
M1	Metabolite M1; Desmethyl derivative of NETU：代謝物 M1；NETU の脱メチル体
M2	Metabolite M2; N-oxide derivative of NETU：代謝物 M2；NETU の N-オキシド体
M3	Metabolite M3; Hydroxymethyl derivative of NETU：代謝物 M3；NETU のヒドロキシメチル体
M4	Metabolite M4; Hydroxyl (piperadine ring) derivative of NETU or Desmethyl N-oxide derivative of NETU：代謝物 M4；NETU（ピペラジン環）の水酸化体又は NETU の脱メチル N-オキシド体
M5/M6	Metabolite M5/M6; Hydroxyl (piperadine ring) derivative of M1：代謝物 M5 又は M6：M1（ピペラジン環）の水酸化体

略号	内容
M7/M8	Metabolite M7/M8; Di-hydroxyl dehydrogenated (piperadine side) of NETU：代謝物 M7 又は M8：NETU（ピペラジン環側）の二水酸化脱水素体
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein：多剤毒素排出タンパク質
MRP	Multidrug resistance-associated protein：多剤耐性関連タンパク質
MRT_{0-t}	Mean residence time from 0 to t hours：投与 0 時間から t 時間までの平均滞留時間
NA	Not applicable：該当なし
NC	Not calculable：算出不能
ND	Not detectable：検出不能
NADPH	β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate：β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド 2'-リン酸, 還元型四ナトリウム塩水和物
NETU	Netupitant：ネツピタント
OAT	Organic anion transporter：有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide：有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic anion transporter：有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein：P-糖タンパク質
Pro-NETU	Fosnetupitant chloride hydrochloride：ホスネツピタント塩化物塩酸塩 Pro-NETUの用量はすべてフリー体ホスネツピタント量を記載した.
R 値	R value（ratio of intrinsic clearance values of a probe substrate for an enzymatic pathway in the absence and in the presence of the interacting drug）：特定の酵素反応に対する被験薬の存在下と非存在下における基質の固有クリアランス値の比
Radio-HPLC	Radio-High performance liquid chromatography : ラジオ高速液体クロマトグラフィー
SD	Standard deviation：標準偏差
$T_{1/2}$	Terminal elimination half-life：消失半減期
T_{max}	Time to reach maximum plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間
UGT	UDP-glucuronosyltransferases：UDP-グルクロン酸転移酵素
V_z	Distribution volume in the terminal phase：消失相における分布容積

化合物一覧表

名称又は略号	構造式	由来
ホスネツピタント塩化物塩酸塩 Pro-NETU 204-NETU Pronetupitant phosphate		主薬
ホスネツピタント		主薬
ホスネツピタント二ナトリウム塩 ProNetu-2a		主薬
ネツピタント（NETU） RO0673189 14-NETU		代謝物（活性本体）
NETU の脱メチル体（M1） RO0681133		代謝物

名称又は略号	構造式	由来
NETU の N-オキシド体（M2） RO0713001		代謝物
NETU のヒドロキシメチル体（M3） RO0731519		代謝物
NETU（ピペラジン環）の水酸化体（M4）（NETU-10-18 試験）		代謝物
M1（ピペラジン環）の水酸化体（M5 及び M6）		代謝物
NETU（ピペラジン環側）の二水酸化脱水素体（M7 及び M8）		代謝物
NETU の脱メチル N-オキシド体（M4）（PNET-14-32 試験, PNET-14-41 試験）		代謝物

2.6.4　薬物動態試験の概要文

2.6.4.1　まとめ

Pro-NETU（ホスネツピタント塩化物塩酸塩，以下，本剤）の非臨床薬物動態について，各種動物を用いた *in vivo* 試験では，血中動態，組織（胎児も含む）の分布，生体試料中の代謝物プロファイリング，並びに尿，糞，胆汁及び乳汁中への排泄を検討し，また，各種生体試料を用いた *in vitro* 試験では，血漿タンパク結合率，血球移行性，組織試料中の代謝物プロファイリング，代謝酵素の同定，代謝酵素に対する阻害活性及び誘導能，トランスポーターに対する基質性及び阻害活性を検討した．これらの検討において，本剤の遊離塩基であるホスネツピタント，その活性本体ネツピタント（NETU），NETU から生成する代謝物である NETU の脱メチル体（M1），NETU の N-オキシド体（M2）及び NETU のヒドロキシメチル体（M3）並びに NETU 関連成分としての放射能を本剤の薬物動態の評価対象とした．

2.6.4.1.1　吸収

本剤又はホスネツピタント二ナトリウム塩をラット，イヌ及びサルに単回静脈内投与したときのホスネツピタントは血漿から速やかに消失し［消失半減期（$T_{1/2}$）はラット及びイヌでそれぞれ 0.1～0.569 hr 及び 0.2～0.328 hr］，一方，活性本体 NETU は，投与後すぐに最高血漿中濃度（C_{max}）に達し，その後の血漿中から緩徐に消失した（$T_{1/2}$ はラット，イヌ及びサルでそれぞれ 23.9～26 hr，20.9 hr 及び 14.5～16 hr）．いずれの種においても，NETU の曝露［血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC）］はホスネツピタントより明らかに高く，また，代謝物 M1 の曝露は NETU の半分～同程度であり，M2 及び M3 の曝露は NETU に比べて明らかに低かった．

2.6.4.1.2　分布

ヒト血漿タンパク結合は，非結合型分率（平均）として，ホスネツピタントで 6.5%，NETU で 0.33%，代謝物 M1，M2 及び M3 でそれぞれ 0.91%，2.3%及び 0.88%であった．これらの血漿タンパク結合に大きな種差はみられなかった．NETU のヒト血漿タンパク結合に関与するタンパク種はアルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質であった．ヒトにおける血液／血漿分配比（平均）は，ホスネツピタントで 0.4～0.6，NETU で 0.69，代謝物 M1，M2 及び M3 でそれぞれ 1.10，0.69 及び 0.61 であった．

ラットに ^{14}C で放射能標識した本剤（[^{14}C]-Pro-NETU）を静脈内投与したとき，多くの組織中で血中よりも高いレベルで放射能が推移し，血中も含め，ほとんどの組織で投与後 336 時間まで放射能が検出された．また，有色ラットとアルビノラットの組織分布を比較した結果，本剤関連成分のメラニンへの結合が示唆された．[^{14}C]-Pro-NETU を静脈内投与した妊娠ラットでは放射能が胎盤を通過し胎児に分布することことが確認された．本剤投与後のラットの脳における曝露を評価した結果，ホスネツピタントの C_{max} 及び AUC は NETU と比べていずれも極めて低く，代謝物 M1，M2 及び M3 の C_{max} 及び AUC も NETU に比べて明らかに低かった．

2.6.4.1.3　代謝

ホスネツピタントとヒト，イヌ及びラット肝細胞とのインキュベーションにより，いずれも十分な量の NETU が生成することが確認され，その変換量には大きな種差はないことが示唆された．また，ホスネツピタントとヒト肝，腎，肺及び小腸 S9 フラクションをインキュベーションした結果，β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2’-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate（NADPH）存在下／非存在下いずれの場合においても，NETU の時間依存的な生成が認められた．ホスネツピタ

ントとヒト，イヌ及びラット肝細胞とのインキュベーションにより，すべての種において NETU に加えて，代謝物 M1，M2 及び M3 が認められた．他には，すべての種で NETU（ピペラジン環）の水酸化体（M4），2 種の M1（ピペラジン環）の水酸化体（M5 及び M6）が，ヒトとイヌで 2 種の NETU（ピペラジン環側）の二水酸化脱水素体（M7 及び M8）が認められた．組換えヒトシトクロム P450（CYP）酵素及びヒト肝ミクロソームと CYP 各分子種の選択的阻害剤を用いた検討から，NETU から代謝物 M1，M2 及び M3 への代謝には，関与する主代謝酵素は CYP3A であることが明らかとなり，CYP2C9 及び 2D6 も一部，関与することが示唆された．

[^{14}C]-Pro-NETU をラット及びイヌに単回静脈内投与したときの血漿，尿，糞及び胆汁中（ラットのみ）における代謝物プロファイルの検討から，NETU 変換後の主代謝経路として，ラットでは，N-メチルピペラジンの N-酸化，ピペラジンの N-脱メチル化，トルエンのメチル基の水酸化，トルエンから安息香酸への酸化，イソブチルアミドの N-脱メチル化，ピペラジン開裂による 6-アミノピリジニル基の生成及びピペラジンの水酸化が推定され，イヌでは，N-メチルピペラジンの N-酸化，ピペラジンの N-脱メチル化，トルエンのメチル基の水酸化，トルエンから安息香酸への酸化，イソブチルアミドの N-脱メチル化，ピペラジン開裂による 6-アミノピリジニル基の生成及びピペラジンの水酸化が推定された．

2.6.4.1.4　　排泄

[^{14}C]-Pro-NETU をラット及びイヌに単回静脈内投与したときの 168 時間（ラット）及び 336 時間（イヌ）までの放射能の排泄を検討した結果，糞中への排泄（ラット：81.8%，イヌ：88.1%）が主であり，尿中へ排泄（ラット：0.9%，イヌ：3.1%）の寄与は小さかった．胆管カニューレ処置したラットにおける[^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の 72 時間までの胆汁中排泄は，総排泄率 53%に対し 35.1%であった. [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の哺育中ラットにおいて乳汁中への放射能の排泄が認められ，乳汁／血漿放射能濃度比は 2.72～7.68 であった．

2.6.4.1.5　　薬物動態学的薬物相互作用

CYP の阻害に関して，ホスネツピタントに CYP2C9 及び 2C19 に対する阻害活性［50%阻害濃度（IC_{50}）でそれぞれ 27.9 及び 46.1 μmol/L］が認められた．また，NETU に CYP3A 及び CYP2C9 に対する阻害活性が認められ，CYP3A に対する阻害定数（K_i）が 1.1 μmol/L（基質：テストステロン）及び 2.2 μmol/L（基質：ミダゾラム）であり，また CYP2C9 に対する K_i が 25.0 μmol/L であった．代謝物 M1 にも NETU と同程度の CYP3A 阻害活性が認められた．CYP3A 及び 2C9 に対するホスネツピタント, NETU, 代謝物 M1, M2 及び M3 の時間依存的阻害を検討した結果, CYP3A に対する高濃度（1000 μmol/L）のホスネツピタントを除き, 時間依存的阻害は認められなかった．ヒト肝ミクロソームを用いて，NETU と CYP3A4 が代謝に関与する抗悪性腫瘍薬（ビンクリスチン，シクロホスファミド及びドセタキセル）との相互作用を検討した結果，ドセタキセルが臨床で薬物相互作用を引き起こす可能性があると予測された．UDP-グルクロン酸転移酵素（UGT）の阻害に関して，ホスネツピタントに主に UGT2B7 及び 2B15 に対する阻害活性（それぞれ IC_{50} で 3.1 及び 6.1 μmol/L）及び NETU に主に UGT2B7 に対する阻害活性（IC_{50} で 0.735 μmol/L）が認められた. CYP の誘導に関して, 代謝物 M2 が 10 μmol/L で CYP2B6 の mRNA を誘導したが, 1 μmol/L では，その誘導能は認められなかった．

トランスポーターに対する基質性の検討から，ホスネツピタントが有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質，代謝物 M2 が P-糖タンパク質（P-gp）の基質であることが示唆された. トランスポーターに対する阻害に関して, P-gp に対してホスネツピタント, NETU,

代謝物 M1, M2 及び M3 に阻害活性が認められ, 乳がん耐性タンパク質（BCRP）に対して NETU, 代謝物 M1，M2 及び M3 に阻害活性（IC_{50} でそれぞれ 6.0，8.6，22.6 及び 10.6 μmol/L）が認められた．また，多剤毒素排出タンパク質（MATE）1，OATP1B1 及び OATP1B3 に対して，ホスネツピタントに阻害活性（IC_{50} でそれぞれ 29.48，19.01 及び 17.37 μmol/L）が，OATP1B3 に対して，代謝物 M2 及び M3 に阻害活性（IC_{50} でそれぞれ 4.3 及び 9.6 μmol/L）が，有機カチオントランスポーター（OCT）1 に対して，NETU，代謝物 M2 及び M3 に阻害活性（IC_{50} でそれぞれ 8.1，7.4 及び 4.4 μmol/L）が認められた．

2.6.4.2　分析法

2.6.4.2.1　非標識体の分析法

ラット血漿中のホスネツピタントは，内標準に[redacted]を用いて固相抽出した後，高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法（LC/MS/MS）で測定した．この分析法（定量範囲：3.274～982.3 ng/mL）の妥当性は 84540 試験で確認された．ラット血漿中の NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 は，内標準に重水素で標識したそれぞれの安定同位体を用いて固相抽出した後，LC/MS/MS で同時測定した．NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の分析法（定量範囲：それぞれ 5.040～1008 ng/mL, 9.870～987.0 ng/mL, 9.979～997.9 ng/mL 及び 9.990～999.0 ng/mL）の妥当性は 82240 試験で確認された．

ラット脳中のホスネツピタントは，その組織ホモジネートに対して内標準に[redacted]を用いて有機溶媒で除タンパクした後，LC/MS/MS で測定した．ラット脳中の NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 は，その組織ホモジネートに対して内標準に重水素で標識したそれぞれの安定同位体を用いて有機溶媒で除タンパクした後，LC/MS/MS で同時測定した．ホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の分析法（定量範囲：それぞれ 3.417～1025 ng/g，4.741～20380 ng/g，9.900～17340 ng/g, 10.02～1002 ng/g 及び 10.31～1031 ng/g）の妥当性は PNET-12-74 試験で確認された．

ウサギ血漿中のホスネツピタントは, 内標準に[redacted]を用いて固相抽出した後, LC/MS/MS で測定した．ウサギ血漿中の NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 は，内標準に重水素で標識したそれぞれの安定同位体を用いて固相抽出した後，LC/MS/MS で同時測定した．ホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の分析法（定量範囲：それぞれ 3.209～962.6 ng/mL，5.244～1049 ng/mL，9.580～958.0 ng/mL，10.37～1037 ng/mL 及び 9.244～924.4 ng/mL）の妥当性は PNET-13-23 試験で確認された．

イヌ血漿中のホスネツピタントは，内標準に[redacted]を用いて固相抽出した後，LC/MS/MS で測定した．イヌ血漿中の NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 は，内標準に重水素で標識したそれぞれの安定同位体を用いて固相抽出した後, LC/MS/MS で同時測定した. ホスネツピタント, NETU, 代謝物 M1，M2 及び M3 の分析法（定量範囲：それぞれ 3.469～1041 ng/mL，4.631～926.1 ng/mL，10.12～1012 ng/mL，10.46～1046 ng/mL 及び 10.69～1069 ng/mL）の妥当性は 84580 試験及び 92410 試験で確認された．

イヌ心臓中のホスネツピタントは，その組織ホモジネートに対して内標準に[redacted]を用いて有機溶媒で除タンパクした後，LC/MS/MS で測定した．イヌ心臓中の NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 は，その組織ホモジネートに対して内標準に重水素で標識したそれぞれの安定同位体を用いて有機溶媒で除タンパクした後，LC/MS/MS で同時測定した．ホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の分析法（定量範囲：それぞれ 6.417～1925 ng/g，10.49～33560 ng/g，19.16～30660 ng/g, 20.73～2073 ng/g 及び 18.49～1849 ng/g）の妥当性は PNET-14-27 試験で確認された．

サル血漿のホスネツピタントは，内標準に[redacted]を用いて固相抽出した後，LC/MS/MS で測定した．サル血漿中の NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 は，内標準に重水素で標識したそれぞれの安定同位体を用いて固相抽出した後, LC/MS/MS で同時測定した. ホスネツピタント, NETU, 代謝物 M1，M2 及び M3 の分析法（定量範囲 : それぞれ 3.185～955.5 ng/mL，4.631～926.1 ng/mL，10.12～1012 ng/mL，10.46～1046 ng/mL 及び 10.69～1069 ng/mL）の妥当性は 92050 試験で確認された．

2.6.4.2.2　　標識体を用いた分析法

試験に用いた放射性標識化合物[^{14}C]-Pro-NETU（標識位置は図 2.6.4.2.2-1 に示した）を非臨床薬物動態試験に用いた．

[^{14}C]-Pro-NETU 投与後の生体試料中放射能は，液体シンチレーション計数法及び定量的全身オートラジオグラフィーにて測定した．このときの放射能は Pro-NETU 換算量として表示した．また，[^{14}C]-Pro-NETU 投与後の各本剤関連成分の放射能はラジオ高速液体クロマトグラフィー（Radio-HPLC）にて測定した．

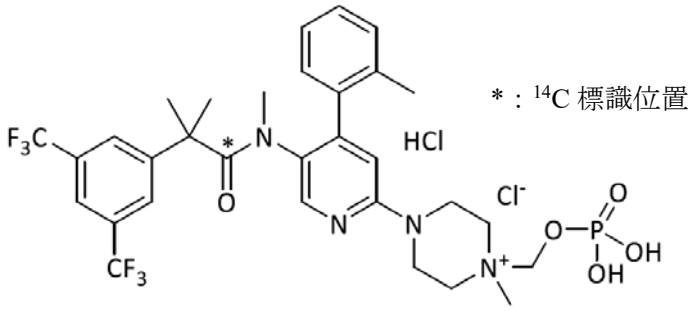


図 2.6.4.2.2-1　[^{14}C]-Pro-NETU の化学構造式

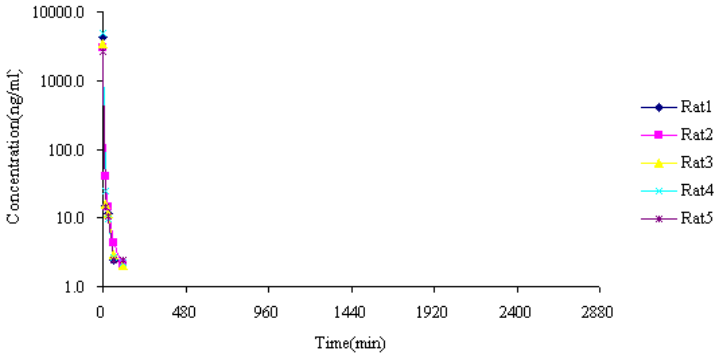
2.6.4.3　　吸収

2.6.4.3.1　　単回静脈内投与時の薬物動態

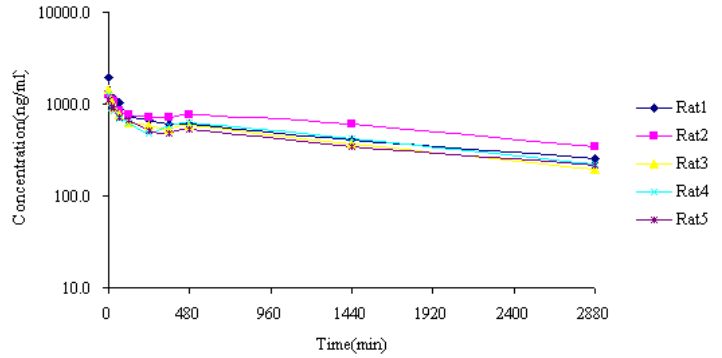
2.6.4.3.1.1　　ラット

ラットにホスネツピタント二ナトリウム塩（10 mg/kg）を単回静脈内投与したときの血中動態を検討した（NETU-09-20 試験）．ホスネツピタント及び NETU の血漿中濃度推移を図 2.6.4.3.1.1-1 に，薬物速度論的パラメータを表 2.6.4.3.1.1-1 に示した．投与後の血漿中のホスネツピタントは 28 min の $T_{1/2}$ で消失し，一方，NETU は投与後 3 分で C_{max} に達したことから，ホスネツピタントから NETU への変換は速やかに起こることが示唆された．ホスネツピタントの全身クリアランス（CL_{tot}）は 328 mL/min/kg，消失相における分布容積（V_z）は 14 L/kg であった．

1) ホスネツピタント



2) NETU



第 4.2.2.2.1 項 試験報告書 No.NETU-09-20 Figure 1 (p.47)及び Figure 2 (p.48)改変

図 2.6.4.3.1.1-1　ラットにおける 10 mg/kg ホスネツピタントニナトリウム塩単回静脈内投与後の血漿中濃度推移（NETU-09-20）

表 2.6.4.3.1.1-1　ラットにおける 10 mg/kg ホスネツピタントニナトリウム塩単回静脈内投与後の薬物速度論的パラメータ（NETU-09-20）

Pharmacokinetic parameter	Mean (CV %)	
	Fosnetupitant	NETU
$T_{1/2}$ (min)	28 (44)	NA
T_{max} (min)	3 (0)	3 (0)
C_{max} (ng/mL)	3648 (18)	1406 (24)
MRT_{0-t} (min)	3.5 (7)	NA
V_z (L/kg)	14 (37)	NA
CL_{tot} (mL/min/kg)	328 (15)	NA
AUC_{0-t} (ng·min/mL)	32005 (16)	1317743 (18)
AUC_{inf} (ng·min/mL)	32077 (16)	NA

N=5

第 4.2.2.2.1 項 試験報告書 No.NETU-09-20 Table 3 及び Table 4 (p.49)改変

ラットに本剤又は NETU を等モル用量（それぞれ 11.9 及び 10.0 mg/kg）で単回静脈内投与したときの血中動態を検討した（PNET-13-15 試験）．ホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の薬物速度論的パラメータを表 2.6.4.3.1.1-2 に示した．本剤投与後のホスネツピタントは 0.1 hr の $T_{1/2}$ で速やかに消失し，NETU に対する投与 0 時間から最終濃度検出時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC_{last}）の比は 2%未満であった．また，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3

の血漿中曝露量は，本剤投与と NETU 投与でほぼ類似していた．これらの結果から，ホスネツピタントから NETU への変換は速やかかつ十分であることが示唆された．

表 2.6.4.3.1.1-2　ラットにおける 11.9 mg/kg 本剤又は 10.0 mg/kg NETU 単回静脈内投与後の血漿中薬物速度論的パラメータ（PNET-13-15）

Compound	Dose group	T_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·hr/mL)	$T_{1/2}$ (hr)
Fosnetupitant	1	0.0166	9662	418	0.1
NETU	1	0.083	3077	28700	26
	2	0.25	3945	36125	49
M1	1	48	668	22069	NC
	2	48	699	24720	NC
M2	1	0.5	162	1284	12
	2	0.5	170	1600	19
M3	1	8	66	2264	48
	2	24	62	2444	NC

Dose group 1: 11.9 mg/kg Pro-NETU (N=9)
Dose group 2: 10.0 mg/kg NETU (N=9)
第 4.2.2.2.2 項 試験報告書 No.PNET-13-15 Text-Table A～Text-Table E 改変

雄性アルビノラットに[^{14}C]-Pro-NETU（5.9 mg/kg）を単回静脈内投与したときの血中動態を検討した（PNET-13-37 試験）．血液及び血漿中総放射能の薬物速度論的パラメータを表 2.6.4.3.1.1-3 に，血漿中ホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の薬物速度論的パラメータを表 2.6.4.3.1.1-4 に示した．血液及び血漿中総放射能はともに 40 hr 程度の $T_{1/2}$ で消失した．血漿に対する血液の放射能の濃度比は 120 時間まで 1 未満であり，血球-血漿間分配係数は 5 分，120 及び 240 時間でそれぞれ 0.11，0.82 及び 1.53 であった．NETU の AUC_{last} はホスネツピタントの約 200 倍であり，総放射能の 34%に相当した．ラットにおける主代謝物である M1 の AUC_{last} は NETU の約 80%であり，総放射能の 27%に相当した．M2 及び M3 の AUC_{last} は NETU のそれぞれ 4%及び 6%であり，併せて総放射能の 4%程度に相当した．ホスネツピタントの速やかな血漿からの消失（最終濃度検出時間：投与後 15 分）は，NETU への速やかな変換によるものと考えられた．

表 2.6.4.3.1.1-3　ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の血液及び血漿中総放射能の薬物速度論的パラメータ（PNET-13-37）

Matrix	C_{max}		T_{max}		AUC_{last}		AUC_{inf}		$T_{1/2}$	
	$nmol_{eq}$/g		hr		hr·$nmol_{eq}$/g		hr·$nmol_{eq}$/g		hr	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Blood	2.37	0.647	0.083	0.00	72.4	4.87	75.0	6.69	40.5	1.69
Plasma	4.12	1.10	0.083	0.00	96.7	8.31	98.6	8.75	35.8	4.58

N=3
第 4.2.2.2.3 項 試験報告書 No.PNET-13-37 Summary Table 改変

表 2.6.4.3.1.1-4　ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の薬物速度論的パラメータ（PNET-13-37）

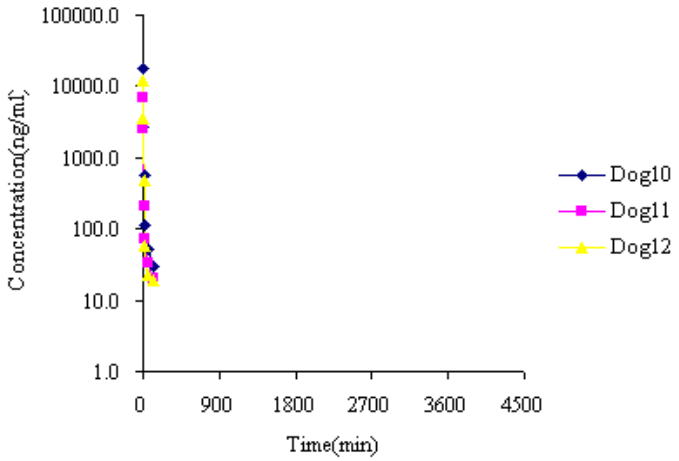
Compound	C_{max}		T_{max}		AUC_{last}		AUC_{inf}		$T_{1/2}$	
	μmol/L		hr		hr·μmol/L		hr·μmol/L		hr	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Fosnetupitant	0.423	0.0365	0.083	0.00	0.163	0.0516	0.234	n=1	0.569	n=1
NETU	1.95	0.561	0.083	0.00	32.6	2.10	33.0	2.14	23.9	2.68
M1	0.329	0.0656	24.0	0.00	26.1	2.10	26.6	2.45	32.5	2.23
M2	0.174	0.0960	0.500	0.00	1.27	0.262	1.47	0.336	19.4	1.71
M3	0.0582	0.0155	7.33	1.15	1.97	0.218	2.17	0.255	23.4	1.24

N=3
第 4.2.2.2.3 項 試験報告書 No.PNET-13-37 Summary Table 改変

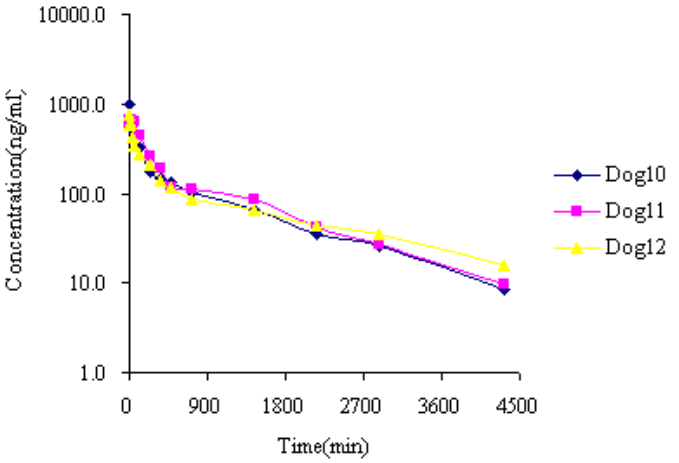
2.6.4.3.1.2　　イヌ

イヌにホスネツピタント二ナトリウム塩（3 mg/kg）を単回静脈内投与したときの血中動態を検討した（NETU-09-20 試験）. ホスネツピタント及び NETU の血漿中濃度推移を図 2.6.4.3.1.2-1 に, 薬物速度論的パラメータを表 2.6.4.3.1.2-1 に示した．投与後の血漿中のホスネツピタントは 0.2 hr の $T_{1/2}$ で消失し, 一方, NETU は投与後 2 分で C_{max} に達したことから, ホスネツピタントから NETU への変換は速やかに起こることが示唆された．ホスネツピタントの CL_{tot} は 44 mL/min/kg，V_z は 0.825 L/kg であった.

1) ホスネツピタント



2) NETU



第 4.2.2.2.1 項 試験報告書 No.NETU-09-20 Figure 1 (p.67)及び Figure 2 (p.68)改変

図 2.6.4.3.1.2-1　イヌにおける 3 mg/kg ホスネツピタントニナトリウム塩単回静脈内投与後の血漿中濃度推移（NETU-09-20）

表 2.6.4.3.1.2-1　イヌにおける 3 mg/kg ホスネツピタントニナトリウム塩単回静脈内投与後の薬物速度論的パラメータ（NETU-09-20）

Pharmacokinetic parameter	Mean (CV %)	
	Fosnetupitant	NETU
$T_{1/2}$ (min)	12 (40)	NA
T_{max} (min)	2 (0)	2 (0)
C_{max} (ng/mL)	10168 (85)	802 (20)
MRT_{0-t} (min)	6.5 (13)	NA
V_z (L/kg)	0.825 (73)	NA
CL_{tot} (mL/min/kg)	44 (33)	NA
AUC_{0-t} (ng·min/mL)	73072 (28)	315628 (10)
AUC_{inf} (ng·min/mL)	73100 (28)	335871 (8)

N=3

第 4.2.2.2.1 項 試験報告書 No.NETU-09-20 Table 3 及び Table 4 (p 69)改変

雄性イヌに[^{14}C]-Pro-NETU（5.9 mg/kg）を単回静脈内投与したときの血中動態を検討した（PNET-13-75 試験）．血液及び血漿中総放射能並びに血漿中ホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の薬物速度論的パラメータを表 2.6.4.3.1.2-2 及び表 2.6.4.3.1.2-3 に示した．血液及び血漿中総放射能は 70 hr 以上の $T_{1/2}$ で消失し，336 時間後も C_{max} の 0.5%に相当する放射能が認められた．血漿に対する血液の放射能濃度比の平均は 0.68 であり，血球-血漿間分配係数の平均は 0.28 であった．ホスネツピタントの $T_{1/2}$ と NETU の最高血漿中濃度到達時間（T_{max}）から，ホスネツピタントは速やかに血漿から消失し，NETU を生成することが示唆された．血漿における NETU の AUC はホスネツピタントの約 10 倍高く，これは総放射能の 15%に相当した．M1 の AUC は NETU と同程度であり，総放射能の AUC の 14%に相当した．M2 及び M3 の AUC は NETU のそれぞれ 18%及び 8%であり，併せて総放射能の 4%未満に相当した．ホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の AUC の総和は総放射能の 33%を占めていた．

表 2.6.4.3.1.2-2　イヌにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の血液及び血漿中総放射能の薬物速度論的パラメータ（PNET-13-75）

Matrix	C_{max}		T_{max}		AUC_{last}		AUC_{inf}		$T_{1/2}$	
	$nmol_{eq}/g$		hr		$hr \cdot nmol_{eq}/g$		$hr \cdot nmol_{eq}/g$		hr	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Blood	6.19	2.55	0.083	0.00	91.6	18.7	106	21.7	92.3	27.4
Plasma	10.3	4.44	0.083	0.00	142	34.6	151	36.1	75.1	15.4

N=3
第 4.2.2.2.4 項 試験報告書 No.PNET-13-75 Summary Table 改変

表 2.6.4.3.1.2-3　イヌにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の薬物速度論的パラメータ（PNET-13-75）

Compound	C_{max}		T_{max}		AUC_{last}		AUC_{inf}		$T_{1/2}$	
	µmol/L		hr		hr·µmol/L		hr·µmol/L		hr	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Fosnetupitant	7.22	3.67	0.083	0.00	2.46	1.21	2.48	1.22	0.328	0.214
NETU	1.95	0.305	0.083	0.00	21.4	6.33	21.6	6.36	20.9	8.29
M1	0.276	0.106	24.0	0.00	20.0	4.66	20.3	4.8	28.7	8.49
M2	0.301	0.106	2.33	1.53	3.5	1.41	3.69	1.42	29.0	3.33
M3	0.0418	0.0049	6.67	2.31	1.78	0.927	2.00	0.978	25.2	8.64

N=3
第 4.2.2.2.4 項 試験報告書 No.PNET-13-75 Summary Table 改変

2.6.4.3.1.3　　サル

サルに本剤又は NETU を等モル用量（それぞれ 4.5 及び 3.8 mg/kg）で単回静脈内投与したときの薬物動態を検討した（PNET-12-16 試験）．両薬物投与におけるホスネツピタント及び NETU の薬物速度論的パラメータを表 2.6.4.3.1.3-1 に示した．ホスネツピタントの CL_{tot} が高値を示したこと及び NETU の T_{max} が最初の採血時点（0.05 hr）であったことから，ホスネツピタントから NETU

への速やかな変換が示唆された．Pro-NETU 投与後のホスネツピタントの AUC は雄よりも雌で高かった．一方，本剤投与及び NETU 投与後の NETU の薬物動態に明らかな雌雄差はないと考えられた．Pro-NETU 投与後の NETU に対する代謝物 M1 及び M2 の AUC の割合は，それぞれ 52%，6.2%～9.5%であり，M3 の血漿中濃度はすべての時点で定量下限（LLOQ）未満であった．これらの代謝物の曝露は，NETU 投与時の曝露と類似していた．

表 2.6.4.3.1.3-1　サルにおける 4.5 mg/kg 本剤又は 3.8 mg/kg NETU 単回静脈内投与後の薬物速度論的パラメータ（PNET-12-16）

Pharmacokinetic parameter	Male			Female		
	Pro-NETU injection		NETU injection	Pro-NETU injection		NETU injection
	Fosnetupitant	NETU	NETU	Fosnetupitant	NETU	NETU
T_{max} (hr)	0.05 ± 0.00	0.07 ± 0.04	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00
C_{max} (ng/mL)	10528 ± 7052	2582 ± 1129	3365 ± 860	19582 ± 14918	3104 ± 487	2867 ± 1875
AUC_{last} (ng·hr/mL)	1333 ± 558	4555 ± 951	4071 ± 241	2138 ± 1397	3737 ± 428	3529 ± 824
AUC_{inf} (ng·hr/mL)	1455 ± 642	5003 ± 1018	4412 ± 363	2518 ± 1280	4171 ± 505	3842 ± 794
$T_{1/2}$ (hr)	NC	14.5 ± 0.8	13.7 ± 1.1	NC	16 ± 0.6	13.7 ± 3.5
CL_{tot} (mL/hr)	3968 ± 1871	NA	865 ± 68	2834 ± 462	NA	1022 ± 240

Mean ± SD (N=3)
第 4.2.2.2.5 項 試験報告書 No.PNET-12-16 Table (p.24~26)改変

2.6.4.3.2　反復静脈内投与時の薬物動態

2.6.4.3.2.1　ラット

ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験（PNET-11-21 試験）において，3.57，11.90 及び 35.68 mg/kg/day 本剤反復静脈内投与の投与 1 日目及び 14 日目におけるトキシコキネティックスを検討した．14 日目の全群において，NETU に対するホスネツピタントの AUC 比は 5%未満であり，ホスネツピタントから NETU への十分な変換が示唆された. 投与 1 日目及び 14 日目におけるホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の曝露量は用量に依存して増加した．NETU の曝露は雄に比べて雌で高い傾向にあった. NETU の投与 1 日目に対する 14 日目の AUC 比は 1.5～3.6 と反復投与による NETU の蓄積性が認められ，代謝物 M1，M2 及び M3 においてもほぼ同様の傾向が認められた.

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（PNET-13-18 試験）において，3.57, 11.90 及び 35.68 mg/kg/day 本剤反復静脈内投与の投与 1 日目及び 28 日目におけるトキシコキネティックスを検討した．全群においてホスネツピタントの $T_{1/2}$ は非常に短く，NETU は投与終了直後に C_{max} となったことから，ホスネツピタントから NETU への早い変換が示唆された．投与 1 日目及び 28 日目におけるホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の曝露量は用量に依存して増加した．NETU の AUC は雄に比べて雌で 20%～30%程度高い傾向にあった．NETU の投与 1 日目に対する 28 日目の AUC 比は 0.9～2.5 であり，反復投与による NETU の蓄積が示唆された．代謝物 M1，M2 及び M3 に対しても同様に蓄積が示唆された.

2.6.4.3.2.2　　イヌ

イヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験（PNET-11-22 試験）において，1.19，3.57 及び 11.90 mg/kg/day 本剤反復静脈内投与の投与 1 日目及び 14 日目におけるトキシコキネティックスを検討した．投与後の血漿中のホスネツピタントは 1.5 hr 以下の $T_{1/2}$ で消失し，一方，NETU は投与後 0.13 hr で C_{max} に達したことから，ホスネツピタントから NETU への変換は速やかに起こることが示唆された．投与 1 日目及び 14 日目におけるホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の曝露量は用量に依存して増加した．NETU に対する代謝物 M1 の AUC 比が 35%～82%と NETU に対して一定量の M1 が血漿中に認められ，代謝物 M2 及び M3 は血漿中の存在量は M1 に比べて低かった．NETU の投与 1 日目に対する 14 日目の AUC 比は 1.0～2.6 であり，反復投与による NETU の蓄積が示唆された．代謝物 M1，M2 及び M3 に関しても同様に蓄積が示唆された．

イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（PNET-13-27 試験）において，1.19, 3.57 及び 11.90 mg/kg/day 本剤反復静脈内投与の投与 1 日目及び 28 日目におけるトキシコキネティックスを検討した．投与（1 日目）後の血漿中のホスネツピタントは 0.36～1.05 hr の $T_{1/2}$ で消失し，一方，NETU は投与後 0.05～0.27 hr で C_{max} に達したことから，ホスネツピタントから NETU への変換は速やかに起こることが示唆された．投与 1 日目及び 28 日目におけるホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の曝露量は用量に依存して増加した．NETU の投与 1 日目に対する 28 日目の AUC 比は 1.79～3.44 であり，反復投与による NETU の蓄積が示唆された．代謝物 M1，M2 及び M3 に対しても同様に蓄積が示唆された．

2.6.4.4　　分布

2.6.4.4.1　　血漿タンパク結合

平衡透析法を用いたホスネツピタントのヒト血漿タンパクに対する非結合型分率は，1 及び 10 µmol/L でそれぞれ 7.9%及び 5.1%であり，平均で 6.5%であった（PNET-15-90 試験）．

平衡透析法を用いた NETU の血漿タンパクに対する非結合型分率は，ヒトでは 9.13～1300 ng/mL で 0.27%～0.46%（平均 : 0.33%），イヌでは 79.3～13400 ng/mL で 0.18%～0.42%（2780 ng/mL までの平均 : 0.22%），ラットでは 79～13300 ng/mL で 0.29%～0.56%（889 ng/mL までの平均 : 0.31%），スナネズミでは 10～855 ng/mL で 0.41%～0.56%（平均 : 0.50%）であった（1006047 試験）．ヒトにおける NETU の高い血漿タンパク結合にはアルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質が関与し，アルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質に対する NETU の非結合型分率は，それぞれ 2.7%～3.0%（20.3～2290 ng/mL），3.8%～11%（17.6～1810 ng/mL）であった（1006047 試験）．

平衡透析法を用いた代謝物 M1, M2 及び M3 の非結合型分率（平均）は，ヒトでそれぞれ 0.91%，2.3%及び 0.88%，イヌでそれぞれ 0.57%，2.2%及び 1.1%，ラットでそれぞれ 0.25%，0.65%及び 2.5%であった（1010388 試験）．

2.6.4.4.2　　血球移行

ホスネツピタントのヒトにおける血液／血漿分配比は，0.1～10 µmol/L で 0.4～0.6 であり，ヒト血液中ではホスネツピタントは主に血球より血漿に分布することが示唆された（PNET-15-91 試験）．

NETU の血液／血漿分配比は，ヒトでは 52.0～994 ng/mL で 0.68～0.70（平均 : 0.69），イヌでは 55.1～2990 ng/mL で 0.76～0.80（平均 : 0.77），ラットでは 49～13700 ng/mL で 0.76～0.99（303

ng/mL までの平均：0.77）であり，血球移行率（平均）としては，ヒトで 13%，イヌで 13%，ラットで 19%であった（1006047 試験）．NETU の血球への結合は可逆的であった．

代謝物 M1，M2 及び M3 の血液／血漿分配比（平均）は，ヒトではそれぞれ 1.10，0.69 及び 0.61，イヌではそれぞれ 0.73，0.66 及び 0.76，ラットではそれぞれ 0.94，0.69 及び 0.82 であった（1010388 試験）．

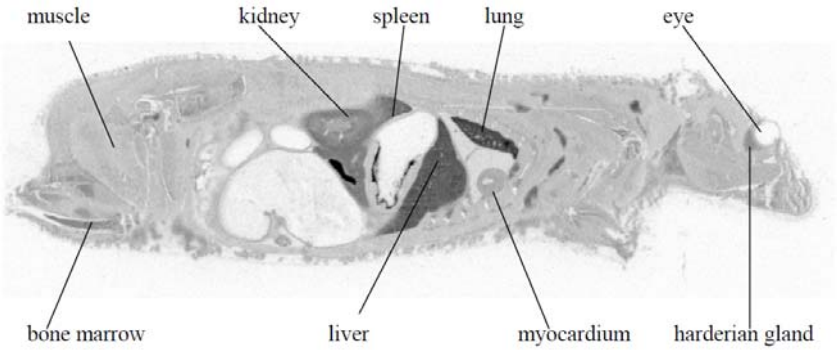
2.6.4.4.3　　ラットにおける組織分布

雄性及び雌性アルビノラット並びに雄性有色ラットに[^{14}C]-Pro-NETU（5.9 mg/kg）を単回静脈内投与したときの放射能の組織分布（アルビノラットは 336 時間まで, 有色ラット 24 時間値のみ）を定量的全身オートラジオグラフィーにて検討した（PNET-13-39 試験）．雄性アルビノラットにおける全身オートラジオグラフィーによる放射能の組織分布を図 2.6.4.4.3-1 に示し，アルビノラット及び有色ラットにおける各組織の放射能濃度を表 2.6.4.4.3-1，表 2.6.4.4.3-2 及び表 2.6.4.4.3-3 に示した．

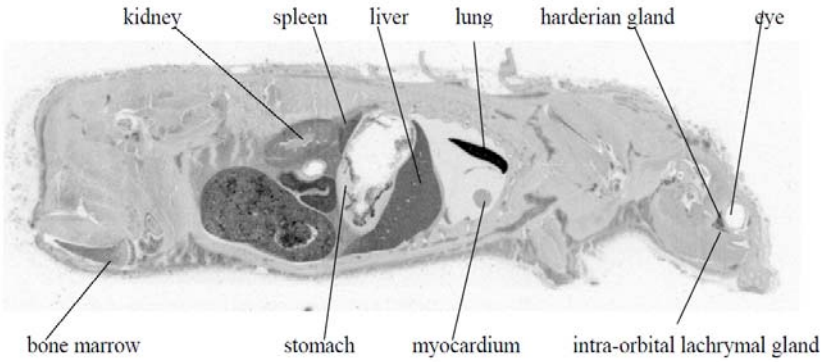
アルビノラットにおいて，ほとんどの組織で投与後 336 時間まで放射能が認められた．各組織からの消失の時間推移は，血液からの消失とほぼ類似し，$T_{1/2}$ は 56～90 hr と長かった．多くの組織で血液より高い放射能曝露を示し，特に高い放射能曝露を示した組織は，ハーダー腺，下垂体（特に雄），マイボーム腺（特に雌）及び肺であった．一方，血液より低い放射能曝露を示した組織は脳，脊髄及び眼球であった．組織分布の雌雄差として，下垂体は雄で 3 倍以上曝露が高く，白色脂肪は雌で 3 倍以上高かったが，それ以外のほとんどの組織における曝露は雌雄で同程度であった．

有色ラットにおいて，投与 24 時間後で眼球及びブドウ膜にアルビノラットに比べて 4～5 倍高い放射能の曝露が認められ，本剤関連成分のメラニンへの結合が示唆された．

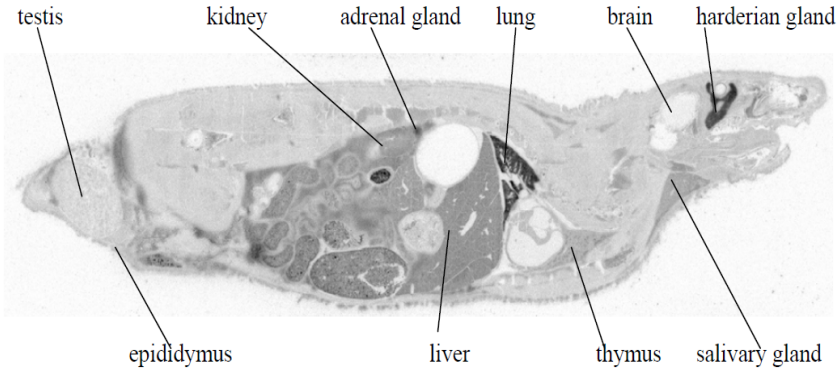
a) 1 hr after dosing



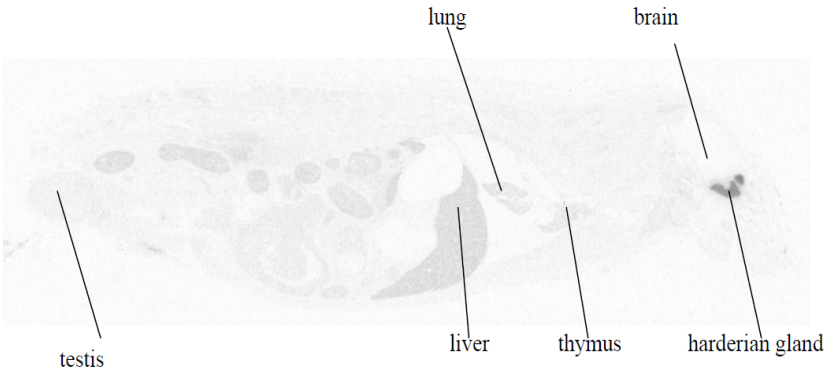
b) 6 hr after dosing



c) 24 hr after dosing



d) 216 hr after dosing



第 4.2.2.3.5 項 試験報告書 No.PNET-13-39 Figure 1～Figure 4

図 2.6.4.4.3-1　雄性アルビノラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の放射能の組織分布（PNET-13-39）

表 2.6.4.4.3-1　雄性アルビノラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の組織内濃度（PNET-13-39）

Tissue	1 hr			6 hr			24 hr			72 hr			216 hr			336 hr		
	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n
Blood	1.61	0.22	14	1.01	0.13	11	0.68	0.09	15	0.39	0.06	8	0.04	0.01	3	0.02	-	-
Mandibular lymph nodes	8.84	0.76	6	10.49	1.67	5	9.68	1.60	11	6.04	0.98	8	0.29	0.04	7	0.27	0.00	3
Kidney	16.60	1.55	9	13.28	1.70	7	10.94	1.60	8	6.15	0.47	9	0.49	0.08	8	0.24	0.03	5
Kidney (cortex)	18.93	1.15	9	14.67	1.60	7	11.93	1.34	9	6.91	0.24	5	0.53	0.10	8	0.29	0.05	6
Kidney (medulla)	13.00	1.66	7	10.04	1.92	5	8.02	1.58	5	4.75	0.43	5	0.39	0.06	4	0.18	0.11	4
Liver	31.59	2.21	10	22.65	2.28	11	13.64	1.59	15	8.65	0.63	13	0.90	0.12	12	0.64	0.01	4
Brain	0.73	0.12	6	0.55	0.05	8	0.39	0.09	6	0.15	0.03	11	0.02	0.00	7	0.02	0.10	3
Choroid plexus	7.22	1.88	3	5.20	1.93	6	4.38	0.76	5	2.91	0.87	13	ND	-	-	ND	0.01	10
Pineal body	21.10	0.82	3	17.69	1.87	3	13.22	NA	1	7.88	1.05	3	0.42	0.03	2	0.26	0.02	8
Spinal cord	0.63	0.04	4	0.53	0.11	7	0.37	0.03	6	0.16	0.02	4	0.01	0.01	4	0.02	0.01	6
Adrenal gland	29.23	0.56	3	22.72	0.90	3	22.31	2.48	5	13.45	1.20	7	1.10	0.15	3	0.82	0.03	7
Pituitary	24.92	2.17	4	33.65	3.99	5	20.35	1.19	3	45.90	12.57	7	2.04	0.27	4	3.47	-	-
Thymus	5.07	0.28	8	7.79	0.70	8	8.12	1.06	12	6.04	0.45	11	0.38	0.03	7	0.37	0.05	8
Thyroid	26.50	1.50	4	22.35	2.37	3	10.44	0.23	3	6.38	0.80	3	0.62	0.03	3	0.80	0.23	3
Exorbital lachrymal gland	13.37	0.04	2	16.67	0.71	2	16.88	1.20	2	8.14	1.42	2	0.48	0.10	2	0.51	0.06	4
Eyelid/Meibomian gland	6.25	1.57	2	11.08	2.22	3	15.15	2.05	3	13.35	2.77	6	1.64	0.34	3	0.53	0.54	4
Harderian gland	12.70	0.88	6	24.08	2.26	6	37.28	1.94	6	50.04	4.85	5	11.53	1.35	5	9.13	2.18	3
Intra-orbital lachrymal gland	9.69	1.39	2	13.33	1.39	3	17.60	2.56	2	10.14	0.97	6	0.58	0.04	2	ND	0.04	3
Mucus gland	14.40	0.75	3	10.43	0.77	5	9.27	1.56	5	6.00	1.08	3	0.26	0.05	4	0.23	0.03	6
Salivary glands	15.29	1.32	6	10.26	1.42	10	8.32	0.59	11	4.91	0.38	10	0.23	0.02	7	0.21	0.03	3
Brown fat	26.66	3.41	4	12.53	1.69	7	6.72	0.80	6	2.43	0.33	12	0.23	0.01	4	0.20	0.01	3
White fat	2.44	0.34	3	6.88	0.86	3	9.12	2.57	4	3.35	0.74	3	0.10	0.02	3	0.05	0.16	2
Epididymus	2.38	0.45	3	3.81	0.92	8	3.77	0.95	8	1.52	0.38	4	0.12	0.07	7	0.17	-	-
Preputial gland	18.03	2.95	3	14.53	2.50	5	19.14	2.48	5	19.48	4.64	4	1.95	0.43	4	6.53	0.02	6
Prostate	7.21	0.72	3	6.57	0.75	3	7.43	0.70	3	1.48	0.15	4	0.17	0.03	4	0.11	0.04	6
Seminal vesicles	0.78	0.23	6	2.02	0.48	6	1.09	0.65	6	0.54	0.14	8	0.02	0.00	4	0.04	0.01	6
Testis	0.83	0.09	7	1.89	0.22	8	2.24	0.28	10	2.11	0.28	10	0.15	0.02	7	0.17	0.05	12
Muscle	4.35	0.53	5	3.66	0.32	4	2.92	0.51	7	1.16	0.13	3	0.12	0.04	5	0.06	0.02	6
Myocardium	8.27	1.01	10	5.72	0.59	10	5.14	0.74	10	3.00	0.31	10	0.29	0.02	4	0.23	0.02	4
Tongue	8.53	1.03	4	5.81	0.74	5	3.72	0.50	6	2.71	0.39	3	0.17	0.03	4	0.16	0.02	5
Bone marrow	13.86	1.41	6	13.37	1.47	6	11.04	2.73	4	5.72	0.58	7	0.22	0.05	7	0.18	-	-
Eye	0.10	0.02	3	0.11	0.03	3	0.15	0.03	3	0.26	0.21	5	0.04	0.00	2	0.03	0.01	4
Lung	37.41	3.12	6	80.51	10.92	11	39.67	5.25	8	23.97	2.70	9	0.44	0.06	4	0.19	0.04	3
Nasal mucosa	2.35	0.33	4	2.47	0.26	3	1.86	0.49	4	2.36	0.29	3	0.24	0.02	4	0.15	-	-
Pancreas	19.65	0.85	9	16.75	1.89	4	12.76	1.05	8	7.27	0.43	3	0.35	0.06	8	0.22	0.03	9
Skin[a]	3.31	1.01	5	3.69	0.94	8	3.25	0.78	7	1.19	0.18	9	0.08	0.02	7	ND	0.03	9
Spleen	23.1	1.68	9	22.90	2.51	8	18.71	1.56	5	10.96	1.29	5	0.99	0.18	9	0.65	0.13	4
Tooth pulp	7.17	1.18	6	3.45	0.20	4	3.08	0.73	3	1.37	0.03	3	0.16	0.02	3	ND	0.02	4
Urinary bladder	0.33	0.09	7	1.11	0.26	2	1.31	0.59	5	0.48	0.04	6	0.02	0.01	4	0.02	-	-
Uveal tract	4.52	0.40	3	3.28	0.61	3	4.87	0.76	3	3.21	0.52	5	ND	-	-	ND	0.01	3
Intestinal content[b]	73.58	32.25	22	26.20	5.08	33	21.71	11.10	43	13.53	5.99	36	0.50	0.20	30	0.23	0.80	5
Stomach	4.61	0.18	5	3.23	0.33	4	2.70	0.66	6	1.41	0.27	5	0.10	0.01	8	ND	0.07	12

Unit: µg eq/g

a Non-pigmented

b Heterogeneous distribution of radioactivity

第 4.2.2.3.5 項 試験報告書 No.PNET-13-39 Table 2 改変

表 2.6.4.4.3-2　雌性アルビノラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の組織内濃度（PNET-13-39）

Tissue	1 hr			6 hr			24 hr			72 hr			216 hr			336 hr		
	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n
Blood	2.63	0.48	5	1.40	0.29	11	0.86	0.09	11	0.54	0.05	3	0.21	0.04	11	0.08	0.01	12
Mandibular lymph nodes	9.43	1.15	4	12.12	2.72	5	11.34	1.78	6	8.27	0.85	4	2.61	0.26	5	1.10	0.11	4
Kidney	15.92	2.80	7	12.17	1.12	7	9.38	1.07	5	7.51	0.62	8	2.03	0.18	10	0.76	0.08	6
Kidney (cortex)	15.42	3.92	3	13.89	1.17	7	9.75	1.58	2	8.63	1.90	3	2.47	0.21	10	0.89	0.08	6
Kidney (medulla)	6.75	1.60	2	10.20	1.70	7	3.70	0.43	2	4.39	2.69	3	1.52	0.20	8	0.63	0.09	6
Liver	36.82	6.82	13	23.69	3.49	13	13.57	0.94	12	13.68	0.96	17	5.82	0.38	14	2.84	0.08	9
Brain	0.60	0.11	10	0.67	0.14	8	0.31	0.04	8	0.28	0.05	13	0.07	0.02	8	0.03	0.01	6
Choroid plexus	9.63	1.45	3	3.86	1.01	10	3.90	0.54	8	2.78	0.42	13	0.88	0.16	6	0.55	0.07	5
Pineal body	34.74	5.62	4	21.89	7.28	3	21.23	1.71	3	11.95	2.14	3	2.33	0.18	3	1.24	0.11	3
Spinal cord	0.42	0.12	7	0.41	0.07	4	0.27	0.04	4	0.25	0.06	8	0.07	0.01	5	0.04	0.01	4
Adrenal gland	25.09	1.52	4	21.06	1.56	4	16.28	0.69	4	17.87	1.20	5	5.27	0.50	4	2.41	0.64	4
Pituitary	19.24	2.17	5	13.92	4.66	4	14.50	2.11	6	9.99	2.10	4	1.66	0.14	5	0.84	0.10	4
Thymus	8.49	1.53	6	10.19	1.29	7	8.78	0.93	8	8.32	1.09	8	2.15	0.11	7	1.21	0.10	4
Thyroid	24.69	7.04	3	17.90	2.74	2	10.80	0.43	4	9.82	1.78	4	1.75	0.25	3	1.34	0.08	3
Uveal tract	4.11	0.28	3	4.40	0.66	4	3.48	0.04	2	1.99	0.09	3	ND	-	-	ND	-	-
Exorbital lachrymal gland	14.78	2.20	2	14.84	2.85	2	19.54	2.10	3	13.18	0.57	4	2.17	0.00	2	1.41	0.13	3
Eyelid/Meibomian gland	6.86	0.90	3	9.71	0.51	2	9.25	0.16	3	47.39	2.65	2	2.46	0.41	3	0.86	0.04	5
Harderian gland	14.65	1.19	5	31.30	3.54	7	33.76	3.57	5	42.74	2.61	8	16.69	1.25	7	5.17	0.79	6
Intra-orbital lachrymal gland	10.87	1.07	2	16.99	0.06	2	19.63	0.12	3	14.85	1.83	3	2.37	0.25	3	1.95	0.13	2
Mucus gland	16.86	3.12	5	12.45	2.68	5	9.91	0.12	4	5.07	0.66	3	1.43	0.20	5	0.63	0.07	4
Salivary glands	17.79	4.73	11	12.45	2.21	5	8.37	0.47	8	6.00	0.75	13	1.53	0.05	5	0.67	0.03	4
Brown fat	26.87	4.90	8	18.10	1.71	5	8.17	1.30	8	6.13	0.97	10	1.59	0.05	5	0.62	0.02	3
White fat	2.61	0.71	4	12.53	2.36	3	13.38	1.89	5	13.56	1.42	3	2.39	0.70	3	1.06	0.24	4
Ovary	7.49	0.51	3	8.53	0.96	3	9.14	2.49	3	10.32	0.17	3	3.92	0.85	6	2.49	0.43	3
Uterus	7.50	4.94	2	5.07	1.18	7	5.19	1.48	9	6.06	0.85	7	1.35	0.11	7	0.49	0.02	4
Muscle	3.32	0.81	11	3.11	0.60	5	2.28	0.30	5	1.31	0.11	8	0.40	0.07	5	0.21	0.02	5
Myocardium	8.57	1.56	8	6.79	1.12	10	4.18	1.20	10	3.68	0.32	5	1.20	0.04	9	0.71	0.03	9
Tongue	9.26	1.77	6	5.93	1.57	5	3.77	0.48	6	2.76	0.17	4	1.05	0.32	5	0.46	0.02	4
Bone marrow	18.12	5.12	6	12.28	1.47	3	9.07	0.73	6	7.89	2.11	11	1.43	0.13	9	0.63	0.07	9
Eye	0.15	0.05	4	0.16	0.03	4	0.14	0.01	3	0.12	0.08	4	0.07	0.04	5	0.03	0.01	5
Lung	47.31	8.20	10	41.46	7.89	8	21.31	3.84	7	20.38	3.66	12	4.40	0.21	7	0.95	0.05	6
Nasal mucosa	2.16	0.44	3	1.11	0.31	4	1.07	0.24	4	3.26	3.17	3	0.35	0.14	5	0.28	0.02	4
Pancreas	26.90	2.35	6	15.64	1.37	8	9.54	1.50	2	10.25	1.02	4	2.06	0.20	8	0.93	0.07	6
Skin[a]	1.99	0.94	7	4.38	1.06	5	2.36	0.49	12	1.60	0.64	20	0.29	0.05	5	0.13	0.02	5
Spleen	30.48	8.17	8	25.79	4.23	10	19.77	1.29	9	16.94	0.83	6	4.23	0.30	10	2.35	0.26	10
Tooth pulp	7.92	1.42	3	3.45	0.14	3	3.07	0.12	2	2.67	0.23	6	0.73	0.41	4	0.34	0.11	5
Urinary bladder	ND	-	-	1.03	0.06	4	0.58	0.07	4	2.98	0.30	3	0.43	0.14	2	0.09	0.02	3
Intestinal content[b]	93.65	28.31	11	32.09	6.11	30	33.04	11.86	21	13.49	6.37	25	3.29	1.00	16	1.61	0.56	15
Stomach	6.40	1.09	6	4.66	0.62	5	2.75	0.59	8	2.47	0.28	6	0.56	0.04	5	0.25	0.03	5

Unit: µg eq/g

a Non- pigmented

b Heterogeneous distribution of radioactivity

第 4.2.2.3.5 項 試験報告書 No.PNET-13-39 Table 3 改変

表 2.6.4.4.3-3　雄性有色ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の組織内濃度（PNET-13-39）

Tissue	24 hr		
	Mean	SD	n
Blood	0.77	0.09	11
Mandibular lymph nodes	12.03	1.57	7
Kidney	11.18	0.86	8
Kidney (cortex)	12.03	1.11	10
Kidney (medulla)	9.56	0.98	6
Liver	11.58	0.80	14
Brain	0.46	0.08	8
Choroid plexus	4.21	1.31	8
Pineal body	16.40	-	1
Spinal cord	0.42	0.08	3
Adrenal gland	22.42	1.14	4
Pituitary	27.63	8.42	4
Thymus	9.48	0.87	8
Thyroid	12.16	2.34	3
Exorbital lachrymal gland	14.02	1.47	2
Eyelid/Meibomian gland	12.93	1.06	3
Harderian gland	29.99	3.64	5
Intra-orbital lachrymal gland	12.49	1.83	4
Mucus gland	8.06	1.48	6
Salivary glands	7.69	3.19	8
Brown fat	8.21	0.25	3
White fat	9.14	0.74	3
Epididymus	4.73	2.77	4
Preputial gland	20.84	5.64	2
Prostate	4.58	1.03	3
Seminal vesicles	0.58	0.19	6
Testis	2.93	0.19	7
Muscle	2.54	0.27	4
Myocardium	5.53	0.55	9
Tongue	4.76	0.71	6
Bone marrow	11.05	1.04	6
Eye	0.75	0.08	3
Lung	41.54	6.70	14
Nasal mucosa	1.96	0.59	6
Pancreas	12.61	1.53	7
Skin Non-pigmented	2.67	0.19	10
Skin Pigmented	5.15	0.46	11
Spleen	21.95	2.15	9
Tooth pulp	3.75	0.54	7
Urinary bladder	0.44	0.09	4
Uveal tract	21.29	2.00	5
Intestinal content*	19.32	11.98	23
Stomach	3.15	0.35	9

Unit: µg eq/g

* Heterogeneous distribution of radioactivity

第 4.2.2.3.5 項 試験報告書 No.PNET-13-39 Table 4 改変

2.6.4.4.4　ラットにおける脳への曝露

ラットに本剤又は NETU を等モル用量（それぞれ 11.9 及び 10.0 mg/kg）で単回静脈内投与したときの脳中動態を検討した（PNET-13-15 試験）．ホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の薬物速度論的パラメータを表 2.6.4.4.4-1 に示した．Pro-NETU 投与後の脳中のホスネツピタントは定量下限値（3.417 ng/g）付近で推移し，脳中の C_{max} が投与後 0.25 時間で 4.33 ng/g と血漿中の C_{max}（9662 ng/mL）（表 2.6.4.3.1.1-2）と比べて非常に低い値を示した．また脳中 NETU に対するホスネツピタントの AUC_{last} 比も 0.01%と非常に低い値であった．これらの結果はホスネツ

ピタントの血液脳関門に対する低い透過性と脳における非常に短い $T_{1/2}$ に起因するものと考えられた．本剤投与後の NETU の脳中濃度は，血漿中濃度よりもやや低く推移し，また，NETU 投与と比較して，投与後 8 時間までは明らかに低く推移した．NETU 投与時に対する本剤投与時の脳中 NETU の C_{max} 比及び AUC_{last} 比はそれぞれ 10%及び 48%であった．本剤投与後の脳中 NETU に対する M1 の AUC_{last} 比は 39%であった．本剤投与後の脳中 M2 濃度は LLOQ 未満であり，脳中 M3 の C_{max} も非常に小さく，AUC_{last} も NETU の 3%であった．

表 2.6.4.4.4-1　ラットにおける 11.9 mg/kg 本剤又は 10.0 mg/kg NETU 単回静脈内投与後の脳中薬物速度論的パラメータ（PNET-13-15）

Compound	Dose group	T_{max} (hr)	C_{max} (ng/g)	AUC_{last} (ng·hr/g)	$T_{1/2}$ (hr)
Fosnetupitant	3	0.25	4.33	2.11	NC
NETU	3	2	1335	19073	11.5
	4	0.083	12720	39622	5.2
M1	3	24	472	7508	NC
	4	24	377	6281	NC
M2	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
M3	3	8	27.5	551	NC
	4	-	-	-	-

Dose group 3: 11.9 mg/kg Pro-NETU (N=18)
Dose group 4: 10.0 mg/kg NETU (N=18)
-: Not available because all concentrations were below LLOQ.
第 4.2.2.2.2 項 試験報告書 No.PNET-13-15 Text-Table A～Text-Table E 改変

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（PNET-13-18 試験）において，3.57，11.90 及び 35.68 mg/kg/day 本剤反復静脈内投与後 1 時間の脳中ホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 濃度を測定した．ホスネツピタントは雄 11.90 mg/kg/day の群で非常に低く，それ以外の群の濃度は LLOQ 未満であった．NETU の血漿中濃度（投与 28 日目）に対する脳中濃度比は，雄で 0.71～1.37，雌で 1.15～2.46 であった．脳中 M1 濃度は，脳中 NETU 濃度と同程度であり，また，対応する血漿中 M1 濃度よりも高い傾向にあった．脳中 M2 濃度はすべての群で LLOQ 未満であり，脳中 M3 濃度は M1 に比べて明らかに低かった．

2.6.4.4.5　ラットにおける胎児への移行

妊娠ラットに[^{14}C]-Pro-NETU（5.9 mg/kg）を単回静脈内投与したときの放射能の胎児への移行性を定量的全身オートラジオグラフィーにて検討した（AE-8413-G 試験）．妊娠 12 及び 18 日目の母胎及び胎児ラットにおける各組織の放射能濃度を表 2.6.4.4.5-1 に示した．妊娠 12 日目のラットにおいて，投与後 1～168 時間に母体血液中放射能の 0.29～0.75 倍に相当する濃度の放射能が胎児に認められ，また，妊娠 18 日目のラットにおいて，投与後 1～24 時間に母体血液中放射能の 0.53～0.71 倍の濃度の放射能が胎児に認められた．これらの結果から，妊娠ラットにおいて本剤関連成分が胎児に移行することが確認された．

表 2.6.4.4.5-1　妊娠ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の組織内濃度（AE-8413-G）

1) 妊娠 12 日目

	Radioactivity concentration (μg eq. of Pro-NETU/g tissue)			
Tissue	1 hr	6 hr	24 hr	168 hr
Adrenal gland	23.41	17.97	20.18	7.43
Blood	2.83	1.80	1.05	0.16
Cerebrum	0.80	0.75	0.46	0.11
Heart	8.25	6.12	4.30	1.27
Kidney	11.95	8.58	7.42	2.63
Liver	19.62	14.09	11.85	4.20
Lung	32.24	29.93	24.07	4.83
Mammary gland	7.66	15.59	14.03	3.49
Ovary	9.50	7.71	6.30	1.61
Placenta	2.67	2.29	1.40	0.57
Uterus	8.59	6.18	4.52	1.28
Fetus (whole body)	0.83	0.61	0.55	0.12

N=1

2) 妊娠 18 日目

	Radioactivity concentration (μg eq. of Pro-NETU/g tissue)		
Tissue	1 hr	6 hr	24 hr
Adrenal gland	42.91	25.59	29.80
Blood	2.37	1.40	0.93
Cerebrum	1.25	0.89	0.39
Heart	11.74	6.80	4.89
Kidney	21.38	11.48	8.71
Liver	26.20	17.88	14.71
Lung	36.07	31.12	23.30
Mammary gland	12.60	19.50	16.85
Ovary	20.67	13.54	9.87
Placenta	4.51	2.86	2.81
Uterus	6.65	5.60	3.32
Fetal brain	1.76	1.02	0.37
Fetal heart	2.28	1.04	0.57
Fetal kidney	1.59	0.70	0.34
Fetal liver	3.15	1.66	0.84
Fetal lung	1.95	0.96	0.99
Fetus (whole body)	1.69	0.86	0.49

N=1

第 4.2.2.3.6 項 試験報告書 No.AE-8413-G Table 3 及び Table 6 改変

2.6.4.4.6　　イヌにおける心臓への曝露

イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（PNET-13-27 試験）において，1.19，3.57 及び 11.90 mg/kg/day 本剤を反復静脈内投与したときの 30 日目における心臓中のホスネツピタント, NETU, 代謝物 M1，M2 及び M3 濃度を検討した．心臓中のホスネツピタント及び M2 はいずれの用量においても LLOQ 未満であった. NETU 及び M1 はすべての用量で, M3 は 3.57 及び 11.90 mg/kg/day の用量で心臓中に LLOQ 以上の濃度で認められた．NETU，M1 及び M3 の心臓中濃度の対応する血漿中濃度（投与 28 日の 48 時間値）に対する比は，それぞれ 4.0～6.2，4.5～8.3 及び 1.9～5.3 であった.

2.6.4.5　代謝（動物種間の比較）

2.6.4.5.1　*In vitro* における代謝

本剤の推定主要代謝経路を図 2.6.4.5.1-1 に示した.

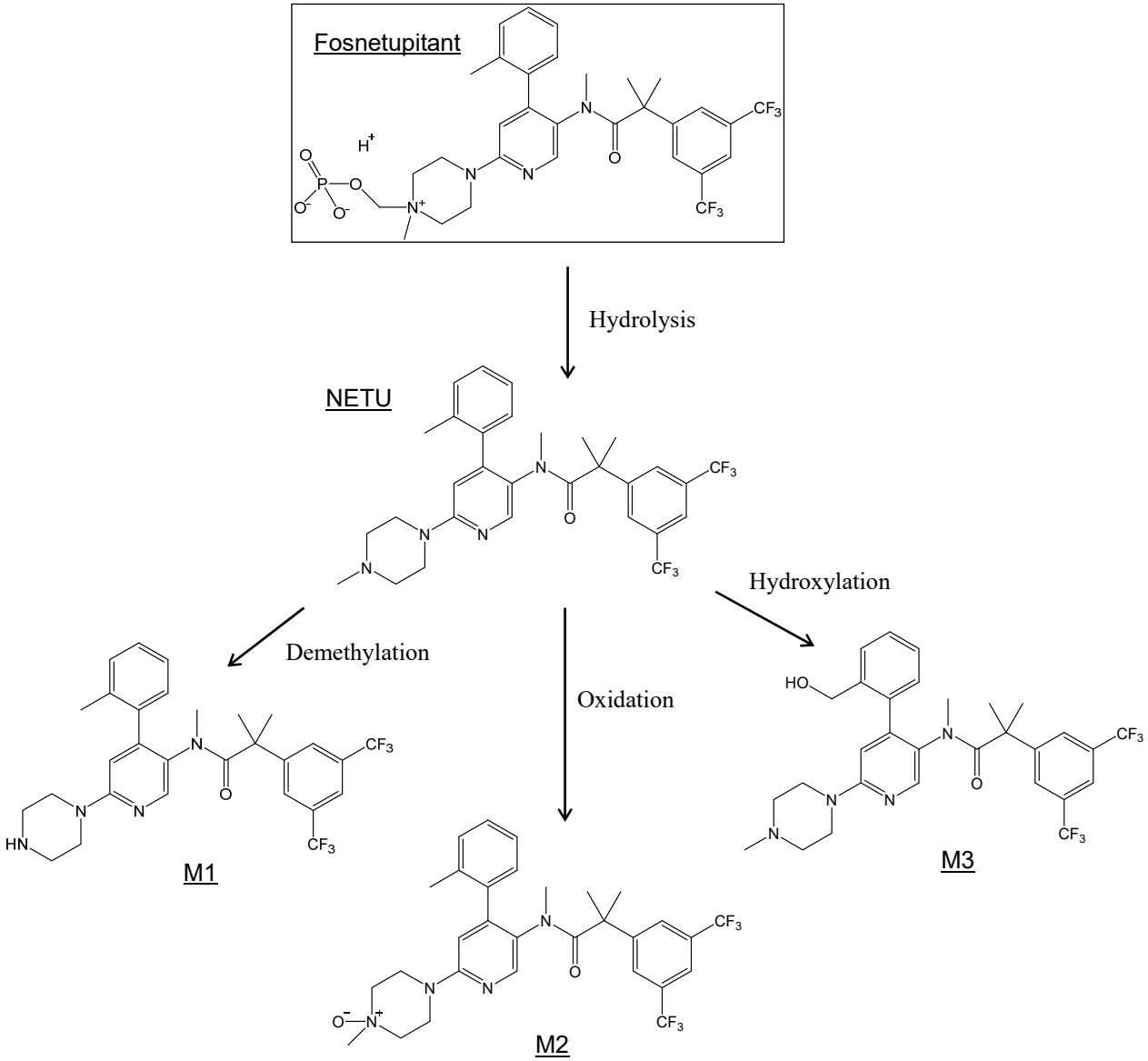


図 2.6.4.5.1-1　本剤の推定主要代謝経路

2.6.4.5.1.1　*In vitro* におけるホスネツピタントから NETU への変換

ホスネツピタント（0.5 μmol/L）を NADPH 存在／非存在下，ヒト，イヌ又はラット肝ミクロソームと 37°C で 60 分間インキュベーションした結果，主代謝物として NETU を生成し，その生成量はヒト，イヌ及びラットでホスネツピタント初期濃度のそれぞれ 10.3%，3.0%及び 17.0%（NADPH 存在下）並びに 23.6%，8.5%及び 19.9%（NADPH 非存在下）に相当した（NETU-10-03 試験）.

ホスネツピタント（1 μmol/L）をヒト，イヌ又はラット肝細胞と 5% CO_2 下 37°C（95%湿度）で 240 分間インキュベーションした結果，ホスネツピタントはヒト，イヌ及びラットで，それぞれ 29%，35%及び 27%に減少し，一方，NETU はそれぞれ初期ホスネツピタント濃度の 64%，45%

及び 71%相当する量が生成した（PNET-10-04 試験）．これらの結果から，ホスネツピタントから NETU への変換には大きな種差はないことが示唆された．

ホスネツピタント（0.5 μmol/L）を NADPH 存在下／非存在下，ヒト肝，腎，肺又は小腸 S9 フラクションと 37°C で 120 分間インキュベーションした結果，NADPH 存在下／非存在下いずれの場合においても，すべての組織 S9 フラクションで，ホスネツピタント濃度のおおむね時間依存的な減少及びこれに対応した NETU 濃度の時間依存的な上昇が認められた（PNET-14-04 試験）．一方，緩衝液のみでホスネツピタントをインキュベーションした場合は，NETU の明らかな生成は認められなかった．これらの結果から，ヒト肝，腎，肺及び小腸 S9 で，ホスネツピタントは NADPH 非依存の酵素的な加水分解を受けることが示唆された．

2.6.4.5.1.2　　ホスネツピタントの *in vitro* 代謝物の同定

ホスネツピタントをヒト，イヌ又はラット肝細胞とインキュベーション（5% CO_2，37°C，240 分間）して生成する代謝物を検討した（NETU-10-18 試験）．すべての種において，NETU に加え，代謝物 M1，M2 及び M3 が認められた．他には，すべての種において，NETU（ピペラジン環）の水酸化体（M4）及び 2 種の M1（ピペラジン環）の水酸化体（M5 及び M6）が認められ，ヒトとイヌで 2 種の NETU（ピペラジン環側）の二水酸化脱水素体（M7 及び M8）が認められた．以上のように，代謝物の定性的なプロファイルにヒトと動物で明らかな種差は認められなかった．

2.6.4.5.1.3　　NETU の *in vitro* 代謝

NETU（10 μmol/L）を NADPH の存在下でヒト，マーモセット，イヌ又はラット肝ミクロソームとインキュベーション（37°C，20 分間）した結果，すべての種において主代謝物として M1 及び M2 が認められ，M1 及び M2 は，ヒト，イヌ及びラット肝細胞とのインキュベーションにおいても，その生成が認められた（1003832 試験）．更に NETU（10 μmol/L）を NADPH の存在下でヒト肝ミクロソームとインキュベーション（37°C，30 分間）した結果，代謝物 M1，M2 に加え M3 の生成も認められた．

2.6.4.5.1.4　　NETU の代謝酵素の同定

NETU（1～5 μmol/L）を NADPH の存在下で種々の組換えヒト CYP 酵素（CYP2C9，2C19，2D6 及び 3A4）とインキュベーション（37°C，30～60 分間）した結果，CYP3A4 では代謝物 M1 及び M2 の生成が認められ，一方，CYP2C9，2C19 及び 2D6 では，これらの主代謝物の生成は検出されなかった（1003832 試験）．

また，NETU（10 μmol/L）を NADPH の存在下，CYP 各分子種の選択的阻害剤［furafylline（CYP1A2），ticlopidine（CYP2B6），trimetoprim（CYP2C8）］の添加／未添加の条件で，種々の組換えヒト CYP 酵素（CYP1A2，2B6 及び 2C8）とインキュベーション（37°C，60 分間）した結果，いずれの CYP 酵素においても選択的阻害剤添加による NETU の固有クリアランスの低下は認められなかった（NETU-13-21 試験）．

NETU（10 μmol/L）を NADPH の存在下，CYP 各分子種の選択的阻害剤の添加／未添加の条件でヒト肝ミクロソームとインキュベーション（37°C，60 分間）したときの NETU の固有クリアランスを検討した（NETU-13-21 試験）．CYP1A2，2B6，2C8，2C9，2C19，2D6 及び 3A の阻害剤として，それぞれ furafylline，ticlopidine，trimetoprim，sulfaphenazole，nootkatone，quinidine（以上 100 μmol/L）及び ketoconazole（1 μmol/L）が使用された．その結果，CYP2C9，2D6 及び 3A の阻害剤を添加した場合に，阻害剤未添加と比べて明らかに NETU の固有クリアランスが低下し，そ

の低下の程度はCYP3A阻害剤で最も顕著であった. NETUの固有クリアランスの代わりに代謝物M1，M2及びM3の生成速度を指標に検討した場合も同様の結果であった.

これらの結果から, NETUの代謝に関与する主代謝酵素はCYP3Aであることが明らかとなり, CYP2C9及び2D6も一部，関与することが示唆された.

表 2.6.4.5.1.4-1　CYP 各分子種選択的阻害剤添加／未添加時における ヒト肝ミクロソームでの NETU の固有クリアランス（NETU-13-21）

CYP inhibitor	Intrinsic clearance of NETU* (μL/min/mg)
None	32.64
Furafylline (CYP1A2)	36.06
Ticlopidine (CYP2B6)	31.00
Trimetoprim (CYP2C8)	48.16
Sulfaphenazole (CYP2C9)	4.77
Nootkatone (CYP2C19)	59.28
Quinidine (CYP2D6)	13.94
Ketoconazole (CYP3A)	1.64

* Mean (N=2)
第 4.2.2.4.6 項 試験報告書 No.NETU-13-21 Table 1 改変

2.6.4.5.2　*In vivo* における代謝

2.6.4.5.2.1　ラットにおける *in vivo* 代謝

ラットに[^{14}C]-Pro-NETU（5.9mg/kg）を単回静脈内投与したときの血漿，尿，糞及び胆汁中における代謝物プロファイルを検討した（PNET-14-32 試験）.

ラットにおけるNETU変換後の主代謝経路として，N-メチルピペラジンのN-酸化，ピペラジンのN-脱メチル化，トルエンのメチル基の水酸化，トルエンから安息香酸への酸化，イソブチルアミドのN-脱メチル化，ピペラジン開裂による6-アミノピリジニル基の生成及びピペラジンの水酸化が推定された.

投与後1, 6及び24時間後の血漿において, NETUが放射能濃度のそれぞれ76%, 63%及び41%, 代謝物M1とNETUの脱メチルN-オキシド体（M4）の総和（大部分がM1）がそれぞれ4%，18%及び40%，代謝物M2が4%～7%，代謝物M3が1%～3%に相当する濃度で認められた．投与後0～24時間で尿中に排泄された放射能は投与量の0.2%未満であり，その放射能の28%を代謝物M2が占めていた. 糞中には, 投与後0～120時間で投与量の76%に相当する放射能が排泄され, NETU, 代謝物M1，M3及びN-脱メチル脱エチレン（ピペラジン環）体は投与量のそれぞれ8.7%，9.4%，1.9%及び10.2%に相当する量が排泄された．他に糞中にM2がわずかに検出され，M4は検出されなかった．胆汁中には，投与後0～72時間で投与した放射能の35%が排泄され，ホスネツピタントは投与量の1.5%に相当する量（0～8時間の胆汁のみで検出）が，NETU，M1，M2，M3，M4，二水酸化体及びN-脱メチル脱エチレン（ピペラジン環）体は，それぞれ投与量の2.8%，0.5%，7.0%，1.1%，0.3%，2.5%及び1.6%に相当する量で排泄された.

2.6.4.5.2.2　イヌにおける *in vivo* 代謝

イヌに[^{14}C]-Pro-NETU（5.9 mg/kg）を単回静脈内投与したときの血漿，尿及び糞中における代謝物プロファイルを検討した（PNET-14-41 試験）.

イヌにおける NETU 変換後の主代謝経路として，N-メチルピペラジンの N-酸化，ピペラジンの N-脱メチル化，トルエンのメチル基の水酸化，トルエンから安息香酸への酸化，イソブチルアミドの N-脱メチル化，ピペラジン開裂による 6-アミノピリジニル基の生成及びピペラジンの水酸化が推定された．

投与後の血漿において, 0.25, 0.5 及び 1 時間値のプール血漿では, ホスネツピタント及び NETU が放射能濃度のそれぞれ 28%及び 63%で認められ，それ以外の代謝物は 3%未満であった．2，4 及び 8 時間値のプール血漿では，ホスネツピタント及び代謝物 M2 が放射能濃度のそれぞれ 75%及び 17%で認められ，それ以外の代謝物は 3%未満であった．投与後 0～24 時間の尿中に排泄された放射能は投与量の 0.2%であり，その放射能の 16%を NETU が占めていた．投与後 0～96 時間の糞中に投与量の 57%に相当する放射能が排泄され，NETU，M1，N-脱メチル脱エチレン（ピペラジン環）体，N-脱メチル脱エチレン（ピペラジン環）ベンジルアルコール体，及び M3 と 6-アミノピリジニル水酸化体の総和は，それぞれ投与量の 8.5%，1.9%，6.7%，4.4%及び 6.2%に相当する量で排泄された．M2 及び M4 は糞中には検出されなかった．

2.6.4.6　排泄

2.6.4.6.1　ラットにおける尿糞中排泄

ラットに[^{14}C]-Pro-NETU（5.9 mg/kg）を単回静脈内投与したときの排泄を検討した（PNET-13-36 試験）．投与後 168 時間までの尿及び糞中の放射能排泄率を表 2.6.4.6.1-1 に示した．投与した放射能の 81.8%が糞中に，0.9%が尿中（ケージ洗浄液中の回収も含む）に排泄され，糞中への排泄が主であることが示された．投与後 168 時間に屍体内に残存する放射能は 10.0%であり，それまでに排泄された総放射能は 92.7%であった．また，[^{14}C]標識の二酸化炭素として投与後 72 時間までに呼気に排泄された放射能は投与量の 0.1%未満であった．

表 2.6.4.6.1-1　ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の尿及び糞中排泄率（PNET-13-36）

Sample	Time interval (hr)	Percent of dose	
		Mean	SD
Urine	0-24	0.20	0.05
	24-48	0.12	0.02
	48-72	0.11	0.04
	72-96	0.08	0.03
	96-120	0.05	0.01
	120-144	0.04	0.01
	144-168	0.03	0.01
	Subtotal	0.64	0.15
Feces	0-24	20.24	1.22
	24-48	18.21	3.25
	48-72	15.15	2.67
	72-96	15.83	5.26
	96-120	6.20	1.15
	120-144	3.94	0.24
	144-168	2.25	0.33
	Subtotal	81.82	1.15
Cage wash	0-168	0.29	0.04
Carcass	168	9.96	1.30
Total		92.71	0.52

N=3
第 4.2.2.5.1 項 試験報告書 No.PNET-13-36 Table 3 改変

2.6.4.6.2　ラットにおける胆汁中排泄

胆管カニューレ処置したラットに[^{14}C]-Pro-NETU（5.9 mg/kg）を単回静脈内投与したときの胆汁中への排泄を検討した（PNET-13-38 試験）．投与後 72 時間までの胆汁，尿及び糞中の放射能排泄率を表 2.6.4.6.2-1 に示した．72 時間までの総放射能の排泄率は 53%であり，そのうち胆汁中への排泄は 35.1%，糞中への排泄は 16.5%，尿中への排泄（ケージ洗浄液中の回収も含む）は 0.9%であった．

表 2.6.4.6.2-1　胆管カニューレ処置ラットにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の胆汁，尿及び糞中排泄率（PNET-13-38）

Sample	Time interval (hr)	Percent of dose	
		Mean	SD
Bile	0-4	5.65	1.94
	4-8	3.69	0.98
	8-24	8.56	0.87
	24-48	9.50	0.32
	48-72	7.69	1.14
	Subtotal	35.09	1.89
Urine	0-24	0.33	0.08
	24-48	0.17	0.03
	48-72	0.09	0.03
	Subtotal	0.59	0.10
Feces	0-24	4.82	0.77
	24-48	6.80	0.13
	48-72	4.90	0.47
	Subtotal	16.52	0.80
Cage wash	0-72	0.35	0.11
Total		52.55	1.86

N=3
第 4.2.2.5.2 項 試験報告書 No.PNET-13-38 Table 2 改変

2.6.4.6.3　ラットにおける乳汁中排泄

哺育中雌性ラットに[^{14}C]-Pro-NETU（5.9 mg/kg）を単回静脈内投与したときの乳汁中に排泄される放射能濃度を検討した（AE-8413-G 試験）．乳汁放射能濃度は，投与 1 時間後に最高濃度（9918.63 ng eq/mL）に達し，24.36 hr の $T_{1/2}$ で消失した．投与後 168 時間にわたる乳汁／血漿放射能濃度比は 2.72～7.68 であった．これらの結果から，哺育中雌性ラットにおいて本剤関連成分が乳汁中に移行することが確認された．

2.6.4.6.4　イヌにおける尿糞中排泄

イヌに[^{14}C]-Pro-NETU（5.9 mg/kg）を単回静脈内投与したときの排泄を検討した（PNET-13-75 試験）．投与後 336 時間までの尿及び糞中の放射能排泄率を表 2.6.4.6.4-1 に示した．投与後 336 時間までに投与した放射能の 91.1%が排泄され，そのうちの 88.1%が糞中に，3.1%が尿中（ケージ洗浄液中の回収も含む）に排泄され，糞中への排泄が主であることが示された．

表 2.6.4.6.4-1 イヌにおける 5.9 mg/kg [^{14}C]-Pro-NETU 単回静脈内投与後の尿及び糞中排泄率（PNET-13-75）

Sample	Time interval (hr)	Percent of dose	
		Mean	SD
Urine	0-24	0.23	0.07
	24-48	0.27	0.17
	48-72	0.17	0.10
	72-96	0.18	0.01
	96-120	0.11	0.03
	120-144	0.08	0.01
	144-168	0.06	0.01
	168-192	0.04	0.01
	192-216	0.04	0.01
	216-240	0.03	0.01
	240-264	0.02	0.00
	264-288	0.01	0.01
	288-312	0.00	0.01
	312-336	0.01	0.01
	Subtotal	1.26	0.32
Feces	0-24	17.89	4.87
	24-48	14.86	0.82
	48-72	13.62	2.90
	72-96	10.24	1.86
	96-120	7.51	0.58
	120-144	7.60	1.39
	144-168	4.24	1.56
	168-192	2.48	0.67
	192-216	3.19	0.04
	216-240	2.10	0.23
	240-264	1.71	0.31
	264-288	1.15	0.07
	288-312	0.93	0.11
	312-336	0.54	0.19
	Subtotal	88.06	2.23
Cage wash	0-336	1.80	0.41
Total		91.12	2.18

N=3
第 4.2.2.2.4 項 試験報告書 No.PNET-13-75 Table 2 及び Table 3 改変

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1　代謝酵素に関連した薬物相互作用

2.6.4.7.1.1　CYP 分子種に対する可逆的阻害

2.6.4.7.1.1.1　ホスネツピタント

ホスネツピタント（0.3～1000 µmol/L）の各 CYP 分子種（CYP1A2，2B6，2C8，2C9，2C19，2D6 及び 3A）に対する阻害を，ヒト肝ミクロソームを用いて検討した（PNET-15-49 試験）．各分子種の選択的基質の代謝に対するホスネツピタントの IC_{50} は，208.4 µmol/L（CYP1A2），106.8 µmol/L（CYP2B6），56.7 µmol/L（CYP2C8），27.9 µmol/L（CYP2C9），46.1 µmol/L（CYP2C19），

217.2 μmol/L（CYP2D6），196.8 μmol/L（CYP3A，基質：ミダゾラム）及び 299.2 μmol/L（CYP3A4，基質：テストステロン）であった．

2.6.4.7.1.1.2　NETU，代謝物 M1，M2 及び M3

NETU（0～10 又は 100 μmol/L）の CYP1A2，2C9，2C19，2D6 及び 3A に対する阻害を，ヒト肝ミクロソームを用いて検討した（1003907 試験）．NETU は CYP3A に選択的なテストステロン及びミダゾラムの水酸化を競合的に阻害し，K_i（阻害定数）はそれぞれ 1.1 及び 2.2 μmol/L であった．同じく CYP3A の基質であるニフェジピン及びシンバスタチンの代謝に対する NETU の IC_{50} はそれぞれ 12.0 及び 10.5 μmol/L であった．本試験において，NETU の阻害剤としての臨床濃度を 1 未満から 10 μmol/L と想定した場合，臨床で CYP3A によって代謝される薬剤と併用において相互作用を起こす可能性が否定できないと考察された．一方，CYP2C9 の選択的基質であるジクロフェナクの水酸化に対する NETU の K_i は 25.0 μmol/L であり，その他の CYP 分子種（CYP1A2，2C19 及び 2D6）については，NETU の IC_{50} は>100 μmol/L であった．これらの結果から，NETU が，臨床で CYP1A2，2C9，2C19 及び 2D6 を介した薬物相互作用を起こす可能性は低いと考察された．更に，ヒト肝ミクロソームを用いて，NETU（0.3～100 μmol/L）の CYP2B6 及び 2C8 に対する阻害を検討した結果，NETU の CYP2B6 及び 2C8 に対する IC_{50} はそれぞれ 32.39 及び 50.43 μmol/L であった（NETU-13-20 試験）．[I]/K_i（阻害剤最高濃度[I]として，海外臨床試験で NETU 300 mg を被験者に経口投与したときの C_{max} である 1.3 μmo/L を設定）から求めた特定の酵素反応に対する被験薬の存在下と非存在下における基質の固有クリアランス値の比（R 値）[1(ア)①1] は CYP2B6 及び 2C8 に対してそれぞれ 1.08 及び 1.05 と 1.10 未満であったことから，NETU が，臨床で CYP2B6 及び 2C8 を介した薬物相互作用を起こす可能性は低いことが示唆された．

代謝物 M1 及び M2（0～30 μmol/L）の CYP3A に対する阻害を，ヒト肝ミクロソームを用いて検討した（1003907 試験）．テストステロンの水酸化に対する代謝物 M1 の IC_{50} は 1.2 μmol/L であり，代謝物 M2 は溶解度の問題で IC_{50} を算出することはできなかったものの外挿値では NETU 及び M1 の IC_{50} と大差なかった．更に，代謝物 M1，M2 及び M3（0.3～100 μmol/L）の CYP1A2，2B6，2C8，2C9，2C19，2D6 及び 3A に対する阻害を，ヒト肝ミクロソームを用いて検討した（NETU-13-20 試験）．M1 に関して，CYP3A に対する阻害としてテストステロン及びミダゾラムでの IC_{50} はそれぞれ 0.70 及び 0.51 μmol/L であった．それ以外の CYP（CYP1A2，2B6，2C8，2C9，2C19 及び 2D6）に対する IC_{50} は 4 μmol/L 以上であった．海外臨床試験結果より M1 の C_{max} である 0.1 μM を[I]に設定したときに，R 値が 1.10 を超えたのは CYP3A のみであった．M2 に関して，すべての CYP 分子種に対して IC_{50} は 23 μmol/L 以上であり，R 値（[I]に 0.35 μmol/L を設定）は 1.10 未満であった．M3 に関して，CYP3A に対する IC_{50} はテストステロン及びミダゾラムでそれぞれ 9.45 及び 10.95 μmol/L，それ以外の CYP 分子種に対する IC_{50} は 23 μmol/L 以上であり，すべての CYP 分子種に対して M3 の R 値（[I]に 0.16 μmol/L を設定）は 1.10 未満であった．以上の結果から，代謝物 M1 が臨床で CYP3A を阻害する可能性を除き，M1，M2 及び M3 が，臨床で CYP を介した薬物相互作用を起こす可能性は低いことが示唆された．

2.6.4.7.1.2　CYP3A 及び 2C9 に対する時間依存的阻害の検討

ヒト肝ミクロソームを用いて，ホスネツピタント（0.3～1000 μmol/L）の CYP3A 及び 2C9 に対する時間依存的阻害を検討した（PNET-15-81 試験）．CYP3A（基質：8.4 μmol/L ミダゾラム）に対して，ホスネツピタントの添加濃度 1000 μmol/L のときには顕著な時間依存的阻害を示し，最大不活性化速度定数（k_{inact}）及び最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度（K_I）

はそれぞれ 0.04 min^{-1} 及び 1091 μmol/L であった．しかし，0.3～300 μmol/L での検討では，30 分プレインキュベーション後の IC_{50} シフト比が 1.42 となり，時間依存的阻害は認められなかった．CYP2C9（基質：28 μmol/L ジクロフェナク）に対して，ホスネツピタントの添加濃度 1000 μmol/L のときには顕著な時間依存的阻害を示したが（k_{inact} 及び K_I は算出不能），0.3～300 μmol/L での検討では，30 分プレインキュベーション後の IC_{50} シフト比が 0.72 となり，時間依存的阻害は認められなかった．本剤の海外臨床用量 235 mg おける C_{max} が約 10 μmol/L であることを考慮すると，ホスネツピタントが臨床で CYP3A 及び 2C9 に対して時間依存的阻害を起こす可能性は低いと考察された．

ヒト肝ミクロソームを用いて，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3（0.3～100 μmol/L）の CYP3A 及び 2C9 に対する時間依存的阻害を検討した（PNET-13-26 試験）．CYP3A（基質：8.4 μmol/L ミダゾラム）に対して，30 分プレインキュベーション後の IC_{50} シフト比が NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 でそれぞれ 0.85，0.91，1.15 及び 0.86 であった．CYP2C9（基質：28 μmol/L ジクロフェナク）に対して，検討濃度では，IC_{50} 及び IC_{50} シフト比の算出に至るまでの阻害は起こらなかった．これらの結果から，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 は CYP3A 及び 2C9 に対して時間依存的阻害はないことが示唆された．更に，高濃度域（50～250 μmol/L）での NETU の CYP3A に対する時間依存的阻害を検討した結果，30 分プレインキュベーション後の IC_{50} シフト比が 0.99 であったことから（PNET-15-16 試験），この結果からも NETU は CYP3A に対して時間依存的阻害はないことが示唆された．

2.6.4.7.1.3　　CYP3A4 が代謝に関与する抗悪性腫瘍薬との相互作用の検討

CYP3A が代謝に関与する抗悪性腫瘍薬として，ビンクリスチン（NETU-06-15 試験），シクロホスファミド（NETU-09-10 試験）及びドセタキセル（NETU-09-09 試験）の代謝に対する NETU（それぞれ 0～100，0.03～3000 及び 0.03～3000 μmol/L）の阻害についてヒト肝ミクロソーム（0.2～0.25 mg/mL）を用いて検討した．

ビンクリスチン（10 μmol/L）の主代謝物（ピペリジン環の酸化的開裂体）の生成を NETU は濃度依存的に阻害したが，IC_{50} としては>100 μmol/L であった．IC_{50} が K_i に近似すると仮定した場合，C_{max}/K_i が 0.1 未満となることから，臨床で NETU とビンクリスチンを併用投与した場合，問題となるような薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた（NETU-06-15 試験）．

シクロホスファミド（0.5 mmol/L）の主代謝物（4-ヒドロキシシクロホスファミド）の生成を NETU は阻害し，相対 IC_{50} は 57.3 μmol/L と算出された．IC_{50} が K_i に近似すると仮定した場合，C_{max}/K_i が 0.1 未満となることから，臨床で NETU とシクロホスファミドを併用投与した場合，問題となるような薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた（NETU-09-10 試験）．

ドセタキセル（0.5 mmol/L）の主代謝物（ヒドロキシドセタキセル）の生成に対して NETU は濃度依存的に阻害し，IC_{50} は 3.7 μmol/L と算出された．IC_{50} が K_i に近似すると仮定した場合，C_{max}/K_i が約 0.5 であったことから，臨床で NETU 及びドセタキセルを併用投与した場合に薬物相互作用が生じる可能性が示唆された（NETU-09-09 試験）．

2.6.4.7.1.4　　UGT 分子種に対する阻害

各 UGT 分子種（UGT1A1，1A3，1A4，1A6，1A9，2B7 及び 2B15）に対するホスネツピタントの阻害をヒト肝ミクロソームとこれらの選択的基質を用いて検討した結果（PNET-20-06 試験），ホスネツピタントの IC_{50} は UGT1A1，1A3，1A9，2B7 及び 2B15 でそれぞれ 88，125，117，3.1 及び 6.1 μmol/L であり，UGT1A4 及び 1A6 で 300 μmol/L 以上であった．

各 UGT 分子種（UGT1A1，1A3，1A6，1A9，2B7 及び 2B17）に対する NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の阻害をこれらの組換えヒト UGT 酵素とその選択的基質を用いて検討した（NETU-14-35 試験）．NETU は UGT1A1，2B7 及び 2B17 に対して阻害活性を有し，IC_{50} はそれぞれ 38.1，0.735 及び 22.6 μmol/L であった．M1 は UGT1A1，1A3，1A6，1A9，2B7 及び 2B17 に対して IC_{50} で 29.9～192 μmol/L の阻害活性，M2 は UGT1A1，1A3，1A9，2B7 及び 2B17 に対して 33.3～110 μmol/L の阻害活性，M3 は UGT1A1，1A3，2B7 及び 2B17 に対して 15.6～74.8 μmol/L の阻害活性を示した．ヒト肝ミクロソームを用いて同様の検討を実施した結果，組換え UGT 酵素を用いた場合に比べて，IC_{50} が高くなる傾向にあった．

2.6.4.7.1.5　　CYP 分子種に対する誘導

ヒト非凍結肝細胞を用いて CYP1A2，2C9，2C19 及び 3A に対する NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の誘導を検討した（NETU-10-27 試験）．肝細胞（3 ロット）に対して，NETU を 0.2～20 μmol/L，代謝物 M1，M2 及び M3 を 0.02～2 μmol/L の濃度で 72 時間曝露した後，肝細胞の各分子種における酵素活性で誘導を評価した．20 μmol/L NETU では，細胞の剥離や代謝活性の未検出といった細胞毒性を示唆する現象が認められ，また，CYP3A に対する NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 では，媒体のみの対照より酵素活性が低くなり，これらの細胞毒性又は CYP3A 阻害がその原因として考えられた．CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP3A4 に対して，いずれの化合物においても曝露後の酵素活性は，各分子種での陽性対照（CYP1A2：オメプラゾール，CYP2C9，2C19 及び 3A4：リファンピシン）の 40%未満であった．以上の結果から，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 に CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP3A に対する誘導能はないことが示唆された．

また，ヒト凍結肝細胞を用いて CYP2B6 に対する NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の誘導を検討した（NETU-13-47 試験）．肝細胞（3 ロット）に対して NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 を 1～50 μmol/L の濃度で 72 時間曝露し，誘導能は CYP2B6 の mRNA レベル及び酵素活性で評価した．NETU，代謝物 M1 及び M3 では 10 μmol/L 以上，M2 では 50 μmol/L 以上の曝露で細胞生存率の著しい低下が認められた．NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 のいずれにおいても 1 μmol/L の曝露後の酵素活性は，その陽性対照（フェノバルビタール）の 40%未満であったことから，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 に CYP2B6 に対する誘導能はないことが示唆された．また，mRNA レベルとしての評価では，M2 だけが 10 μmol/L で CYP2B6 を誘導することが示唆されたが，1 μmol/L では NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 のいずれにおいても誘導能は認められなかった．

2.6.4.7.2　　トランスポーターに関連した薬物相互作用

2.6.4.7.2.1　　ホスネツピタント

P-gp，BCRP，胆汁酸排出トランスポーター（BSEP），MATE1，MATE2-K，有機アニオントランスポーター（OAT）1，OAT3，OATP2B1，OCT1 及び OCT2 に対するホスネツピタントの基質性を PNET-18-21 試験で，また，OATP1B1 及び OATP1B3 に対するホスネツピタントの基質性を PNET-15-27 試験で，トランスポーターを発現したベシクル又は細胞におけるホスネツピタントの輸送活性と選択的阻害剤による阻害効果から検討した．その結果，ホスネツピタントは OATP1B1 及び OATP1B3 に対して基質であり，一方，P-gp，BCRP，BSEP，MATE1，MATE2-K，OAT1，OAT3，OATP2B1，OCT1 及び OCT2 に対しては基質にはならないことが示唆された．

P-gp，BCRP，BSEP，MATE1，OATP1B1，OATP1B3，OAT1，OAT3，OCT1 及び OCT2 の輸送活性に対するホスネツピタントの阻害を PNET-15-27 試験で，また，MATE2-K の輸送活性に対す

るホスネツピタントの阻害を PNET-18-21 試験で検討した．P-gp の輸送活性はホスネツピタント（50 μmol/L）で 47%阻害され，BCRP 及び BSEP の輸送活性に対しては，ホスネツピタントによる阻害は認められなかった．MATE1，OATP1B1 及び OATP1B3 の輸送活性は，ホスネツピタントにより阻害され，IC_{50} はそれぞれ 29.48，19.01 及び 17.37 μmol/L であった．OCT1 の輸送活性はホスネツピタント（300 μmol/L）で 44%阻害され，OCT2，OAT1，OAT3 及び MATE2-K の輸送活性に対しては，ホスネツピタントによる阻害は認められなかった．

2.6.4.7.2.2　NETU

ヒト結腸がん由来（Caco-2）細胞における輸送活性及び P-gp の選択的阻害剤による阻害効果から，P-gp に対する NETU（1 及び 10 μmol/L）の基質性を検討した結果，NETU の Efflux ratio が 2 未満となり，阻害剤（50 μmol/L Verapamil 及び 12.5 μM Cyclosporin A）の影響も受けなかったことから，NETU は Caco-2 細胞で発現している P-gp を主とする排出トランスポーターの基質ではないことが示唆された（NETU-14-30 試験）．また，BCRP，OATP1B1，OATP1B3 及び OCT1 に対する NETU の基質性（NETU-12-81 試験）並びに BSEP に対する NETU の基質性（NETU-14-34 試験）を検討した．これらの発現細胞における NETU の輸送活性の結果から，いずれのトランスポーターに対しても NETU は基質にはならないことが示唆された．

P-gp に対する NETU の阻害として，Caco-2 細胞における P-gp の選択的基質（10 nmol/L ジゴキシン）の輸送活性に対する阻害を検討した結果，1 μmol/L 以下の濃度では明らかな阻害は認められなかったが，5 μmol/L では有意な阻害が認められた（NETU-06-13 試験）．BCRP，BSEP，多剤耐性関連タンパク質（MRP）2，OATP1B1，OATP1B3，OAT1，OAT3，OCT1 及び OCT2 の輸送活性に対する NETU の阻害について最高 30 μmol/L の濃度まで検討した（NETU-12-81 試験）. BCRP のベシクルでの輸送活性に対して NETU は濃度依存的に阻害し, IC_{50} は 6.0 μmol/L であった. BSEP, OATP1B1, OATP1B3 及び OAT1 の輸送活性に対して NETU による阻害が認められたが, 30 μmol/L でそれぞれ 32%，22%，44%及び 33%と阻害の程度としては強くはなかった．MRP2 及び OAT3 の輸送活性は NETU によって阻害されなかった．OCT1 及び OCT2 の輸送活性に対して NETU は濃度依存的に阻害し，IC_{50} はそれぞれ 8.1 及び 22.3 μmol/L であった．

2.6.4.7.2.3　代謝物 M1，M2 及び M3

P-gp，BCRP，OATP1B1，OATP1B3 及び OCT1 に対する代謝物 M1，M2 及び M3 の基質性（NETU-12-81 試験）並びに BSEP に対する代謝物 M1，M2 及び M3 の基質性（NETU-14-34 試験）ついて，これらの発現細胞における代謝物の輸送活性と選択的阻害剤による阻害効果から検討した. P-gp の発現系における代謝物 M2 の Net efflux ratio が 2 を超え, また, 発現細胞での Efflux ratio が選択的阻害剤により減少したことから，代謝物 M2 が P-gp の基質であることが示唆された．一方，代謝物 M1 及び M3 に P-gp に対する基質性は認められなかった．BCRP，BSEP，OATP1B1，OATP1B3 及び OCT1 に対しては，いずれの代謝物も基質にはならないことが示唆された．

P-gp，BCRP，BSEP，MRP2，OATP1B1，OATP1B3，OAT1，OAT3，OCT1 及び OCT2 の輸送活性に対する代謝物 M1，M2 及び M3 の阻害について最高 30 μmol/L の濃度まで検討した（NETU-12-81 試験）．P-gp の輸送活性に対して，これらの代謝物は濃度依存的に阻害し，代謝物 M1，M2 及び M3 の IC_{50} はそれぞれ 4.95，8.00 及び 5.35 μmol/L であった．BCRP の輸送活性に対して，代謝物 M1，M2 及び M3 はいずれも濃度依存的に阻害し，IC_{50} はそれぞれ 8.6，22.6 及び 10.6 μmol/L であった. BSEP の輸送活性に対して, 代謝物 M1 の阻害は 30 μmol/L まで認められず, 代謝物 M2 及び M3 での阻害は認められたものの 30 μmol/L でそれぞれ 31%及び 41%と阻害の程

度としては強くはなかった．OATP1B1 の輸送活性に対して，代謝物 M1，M2 及び M3 の阻害が認められたが，30 μmol/L でそれぞれ 31%，51%及び 22%と阻害の程度としては強くはなかった．OATP1B3 の輸送活性に対して，代謝物 M1 の阻害は 30 μmol/L で 26%と阻害の程度としては強くなかったが, 代謝物 M2 及び M3 の阻害は, M1 の阻害より強く, IC_{50} はそれぞれ 4.3 及び 9.6 μmol/L であった．OAT1 の輸送活性に対して，代謝物 M2 の阻害は 30 μmol/L まで認められず，代謝物 M1 及び M3 での阻害は認められたものの 30 μmol/L でそれぞれ 32%及び 40%と阻害の程度としては強くはなかった．MRP2 及び OAT3 の輸送活性に対して，いずれの代謝物も 30 μmol/L まで阻害は認められなかった．OCT1 の輸送活性に対して，代謝物 M1，M2 及び M3 はいずれも濃度依存的に阻害し，M1 の 10 μmol/L での阻害が 40%，M2 及び M3 の IC_{50} がそれぞれ 7.4 及び 4.4 μmol/L であった. OCT2 の輸送活性に対して, 代謝物 M1, M2 及び M3 での阻害が認められたが, 30 μmol/L でそれぞれ 42%，29%及び 42%と阻害の程度としては強くはなかった.

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

該当なし

2.6.4.9　考察及び結論

本剤をラット，イヌ及びサルに静脈内投与したとき，ホスネツピタントは血漿から速やかに消失し（$T_{1/2}$ がラット及びイヌでそれぞれ 0.1～0.569 hr 及び 0.2～0.328 hr），活性本体 NETU も投与後すぐに C_{max} に達したことから，いずれの種においてもホスネツピタントは生体内で速やかに NETU に変換されることが示唆された．また，ラット及びサルに Pro-NETU を静脈内投与したときの NETU 及び主要代謝物の曝露量が，等モル用量の NETU を静脈内投与したときの曝露量とほぼ類似していたことから，ホスネツピタントから NETU への十分な変換が起こっていると考えられた．この変換に関して，*in vitro* でも検討され，ホスネツピタントを各種生体試料とインキュベーションしたときの安定性の結果より，変換の程度にヒトを含め大きな種差はないこと，変換には CYP は関与せず，また変換は肝臓だけでなく複数の組織で起こっていることが示唆された．変換の機序は，ホスファターゼによるホスネツピタントの脱リン酸化と，その後の生理学的 pH での加水分解によるものと推察している [1(ア)①2]．ホスネツピタントより生成した NETU は血漿中から緩徐に消失し（$T_{1/2}$ がラット，イヌ及びサルでそれぞれ 23.9～26 hr，20.9 hr 及び 14.5～16 hr），いずれの種においても NETU の曝露量（AUC）はホスネツピタントより明らかに高かった．

ラットに[^{14}C]-Pro-NETU を静脈内投与したときの放射能の組織分布において，多くの組織で血中よりも高いレベルで放射能が推移し，血中も含め，ほとんどの組織で投与後 336 時間まで放射能が検出された．また，アルビノラットと比較した有色ラットの放射能の組織分布から，本剤関連成分のメラニンへの結合が示唆された．同様に[^{14}C]-Pro-NETU を静脈内投与した妊娠ラットでは放射能が胎盤を通過し胎児に分布することが確認され，哺育中ラットでは放射能が乳汁に移行することが確認された．NETU の作用部位と考えられる脳での曝露に関して，ラットでは，ホスネツピタントの C_{max} 及び AUC はいずれも NETU と比べて極めて低く，これは，ホスネツピタントの血液脳関門に対する低い透過性と非常に短い $T_{1/2}$ に起因するものと考えられた．ヒトを含め NETU 及び主要代謝物のタンパク結合率及び血液／血漿分配比に大きな種差は認められなかった. NETU のヒト血漿タンパク結合に関与するタンパク種はアルブミン及び α_1-酸性糖タンパク質であった.

ホスネツピタントから生成した活性本体 NETU は CYP による代謝を受け, 主代謝物として M1, M2 及び M3 を生成した．ラット，イヌ及びサルにおけるこれら代謝物の血漿中曝露として，代謝

物 M1 の曝露は NETU の半分～同程度であり，M2 及び M3 の曝露は NETU と比べて明らかに低かった．ヒト，イヌ及びラット肝試料を用いた *in vitro* 代謝の検討から，代謝物の定性的プロファイルに種差はないことが示唆された．組換えヒト CYP 酵素を用いた検討及びヒト肝ミクロソームでの CYP 各分子種に対する選択的阻害剤を用いた検討から，ヒトにおける NETU の代謝に関与する主代謝酵素は CYP3A であることが明らかとなり，CYP2C9 及び 2D6 も一部，関与することが示唆された．

ラット及びイヌに[^{14}C]-Pro-NETU を静脈内投与したときの放射能の排泄において，糞中への排泄が主であり，尿中への排泄はラットで投与量の 0.9%，イヌで 3.1%と，その寄与は小さかった．ラットの糞中には主に胆汁を介して排泄されることが示されたが，胆管カニューレ処置したラットで糞中排泄も認められたことから，一部，消化管分泌を介して排泄されると考えられた．

CYP の阻害に関して，ホスネツピタントに CYP2C9 及び 2C19 に対する阻害活性が認められ，IC_{50} がそれぞれ 27.9 及び 46.1 μmol/L であった．しかし，生理学的薬物速度論モデルにて CYP2C9 及び 2C19 の基質薬（それぞれ S-ワルファリン及びオメプラゾール）と Pro-NETU（臨床用量 235 mg，30 分の点滴静注）を併用したときの基質薬の C_{max} 及び AUC の上昇率を予測した結果（PNET-16-29 試験），いずれの基質薬においても C_{max} が 1.00 倍，AUC が 1.00 倍上昇すると算出され，臨床でホスネツピタントが CYP2C9 及び CYP2C19 を介した薬物相互作用を起こす可能性は低いことが示唆された．一方，NETU に CYP3A 及び CYP2C9 に対する阻害活性が認められ，CYP3A に対する K_i が 1.1 μmol/L（基質：テストステロン）及び 2.2 μmol/L（基質：ミダゾラム），CYP2C9 に対する K_i が 25.0 μmol/L であった．また，代謝物 M1 にも NETU と同程度の CYP3A 阻害活性が認められた．NETU の開発段階で，血漿中想定濃度と K_i の関係から，NETU が臨床で CYP2C9 を介した薬物相互作用を起こす可能性は低いと考えられたが，CYP3A については，その可能性が否定できないと考えられ，臨床薬物相互作用試験（第 2.7.2.2.3 項）で評価した．CYP3A 及び 2C9 に対するホスネツピタント，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 の時間依存的阻害については，高濃度（1000 μmol/L）のホスネツピタントでのみ CYP3A 及び 2C9 に対する阻害活性が認められたが，これにはインキュベーション中にホスネツピタントから分解で生成した NETU による阻害が寄与している可能性が否定できなかった．また，臨床での血漿中濃度を考慮すると，臨床で時間依存的阻害が起こる可能性は低いと考えられた．UGT の阻害に関して，ホスネツピタントに UGT2B7 及び 2B15 に対する阻害が認められ，IC_{50} がそれぞれ 3.1 及び 6.1 μmol/L であった．$K_i = IC_{50}/2$ の仮定のもと K_i とホスネツピタントの非結合形血中最高濃度（$[I_{u,b}]$）の推定値（0.797 μmol/L）から Basic model にて算出された UGT2B7 及び 2B15 に対する R 値はそれぞれ 1.51 及び 1.26 となり，カットオフ値の 1.02 を上回った．しかし，臨床での血漿中ホスネツピタント濃度は点滴終了時に C_{max} に達した後，30 分後には 1/400 程度にまで低下することから，その影響は極めて限定的であり，ホスネツピタントが臨床上問題となる UGT2B7 及び 2B15 を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えた．また，NETU に UGT2B7 に対する阻害が認められ，IC_{50} が 0.735 μmol/L であった．これより Basic model にて算出された UGT2B7 に対する R 値は 1.05 とカットオフ値 $^{1(ア)①3}$ の 1.02 を上回ったが，カットオフ値との差異がわずかであったことから，NETU が臨床上問題となる UGT2B7 を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えた．CYP の誘導に関して，代謝物 M2 に CYP2B6 に対する誘導能が認められたが，そのときの濃度［10 μmol/L（1 μmol/L は誘導能なし）］に比べて，臨床での M2 の C_{max}（0.44 μmol/L）は十分低いことから，M2 が臨床上問題となる CYP2B6 を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた．

本剤のトランスポーターに対する基質性の検討から，ホスネツピタントが OATP1B1 及び OATP1B3 の基質，代謝物 M2 が P-gp の基質であることが示された．NETU，代謝物 M1 及び M2 は検討したトランスポーターに対していずれも基質ではなかった．

ホスネツピタントに P-gp に対する阻害活性（50 µmol/L の濃度で 47%阻害）が認められたが，生理学的薬物速度論モデルにて，Pro-NETU 併用による P-gp の基質薬（ジゴキシン）の C_{max} 及び AUC の上昇率を予測した結果（PNET-16-29 試験），それぞれ 1.04 倍及び 1.01 倍と算出され，これより臨床でホスネツピタントが P-gp を介した薬物相互作用を引き起こす可能性が低いことが示唆された．一方，NETU の開発段階で，NETU（5 µmol/L）に P-gp に対する阻害活性が認められ，代謝物 M1，M2 及び M3 も同様に阻害活性が認められたことから，その影響を臨床薬物相互作用試験で評価した（第 2.7.2.2.3.8 項）．BCRP に対して，NETU，代謝物 M1，M2 及び M3 に阻害活性が認められ，IC_{50} がそれぞれ 6.0，8.6，22.6 及び 10.6 µmol/L となった．それぞれの化合物において IC_{50} に対する最高血中濃度比を算出した結果，NETU のみがカットオフ値 1(ア)①4 の 0.1 を超え 0.20 と算出されたことから，BCRP に関して臨床における Pro-NETU の薬物相互作用の可能性を否定することはできなかった．ホスネツピタントに MATE1，OATP1B1 及び OATP1B3 に対する阻害活性が認められ，IC_{50} がそれぞれ 29.48，19.01 及び 17.37 µmol/L となった．しかし，生理学的薬物速度論モデルにて，Pro-NETU 併用による OATP1B1 及び OATP1B3 の基質薬（ロスバスタチン）の C_{max} 及び AUC の上昇率を予測した結果，いずれも 1.00 倍と算出され（PNET-16-29 試験），これより臨床でホスネツピタントが OATP1B1 及び OATP1B3 を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いことが示唆された．MATE1 に関して，$K_i = IC_{50}/2$ の仮定のもと K_i とホスネツピタントの$[I_{u,b}]$推定値（0.797 µmol/L）から Basic model にて算出された $1+[I_{u,b}]/K_i$ が 1.05 となり，カットオフ値 1(ア)①3 の 1.02 をわずかに超えたが，ホスネツピタントの非常に速い血漿からの消失を考慮すると，ホスネツピタントが臨床上問題となるような MATE1 を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えた．OATP1B3 に対して，代謝物 M2 及び M3 に阻害活性が認められ，IC_{50} がそれぞれ 4.3 及び 9.6 µmol/L となったが，$K_i = IC_{50}/2$ の仮定のもと K_i と M2 及び M3 の$[I_{u,b}]$推定値（それぞれ 0.010 及び 0.001 µmol/L）から算出される $1+[I_{u,b}]/K_i$ がいずれも 1.00 であったことから，臨床で OATP1B3 を介した薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられた．OCT1 に対して，NETU，代謝物 M2 及び M3 に阻害活性が認められ，IC_{50} がそれぞれ 8.1，7.4 及び 4.4 µmol/L であったが，$K_i = IC_{50}/2$ の仮定のもと各 K_i と NETU，M2 及び M3 の$[I_{u,b}]$推定値（それぞれ 0.017，0.010 及び 0.001 µmol/L）から算出された $1+[I_{u,b}]/K_i$ がいずれも 1.00 であったことから，臨床で OCT1 を介した薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられた．OCT2 に対して NETU に阻害活性が認められたが，IC_{50} が 22.3 µmol/L であったことから，OCT1 同様，臨床で OCT2 を介した薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられた．

2.6.4.10　図表

本文内の適切な箇所に記載した．

2.6.4.11　参考文献

1. “Guidance for Industry” Drug Interaction Studies - Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (February 2012).
2. Krise JP, Narisawa S, Stella VJ. A novel prodrug approach for tertiary amines. 2. Physicochemical and in vitro enzymatic evaluation of selected N-phosphonooxymethyl prodrugs. J Pharm Sci.

1999;88:922-927

3. 「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 日付，薬生薬審発 0723 第 4 号，厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長通知）
4. “Guidance for Industry” In Vitro Drug Interaction Studies - Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (January 2020).

アロカリス点滴静注　235 mg

第 2 部（モジュール 2）:
CTD の概要（サマリー）

2.6.5　薬物動態試験の概要表

大鵬薬品工業株式会社

目次

目次 2
2.6.5 薬物動態試験の概要表 3
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 3
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 7
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 9
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 10
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 11
2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合 12
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 13
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 15
2.6.5.9 薬物動態試験：*In vivo* における代謝 16
2.6.5.10 薬物動態試験：*In vitro* における代謝 18
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 23
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 24
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 32
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 33
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 34
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 40

2.6.5　薬物動態試験の概要表

2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表

試験の種類	試験系	試験実施施設	試験番号	被験物質／投与	添付場所
バリデーション	ラット血漿	[redacted]（イタリア）	84540	ホスネツピタント	第 4.2.2.1.1 項
バリデーション	ラット血漿	[redacted]（イタリア）	82240	ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.1.2 項
バリデーション	ラット脳	[redacted]（イタリア）	PNET-12-74	ホスネツピタント，ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.1.3 項
バリデーション	ウサギ血漿	[redacted]（イタリア）	PNET-13-23	ホスネツピタント，ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.1.4 項
バリデーション	イヌ血漿	[redacted]（イタリア）	84580	ホスネツピタント，ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.1.5 項
バリデーション	イヌ血漿	[redacted]（イタリア）	92410	ホスネツピタント	第 4.2.2.1.6 項
バリデーション	イヌ心臓	[redacted]（イタリア）	PNET-14-27	ホスネツピタント，ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.1.7 項
バリデーション	サル血漿	[redacted]（イタリア）	92050	ホスネツピタント，ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.1.8 項
吸収	ラット，イヌ	[redacted]（中国）	NETU-09-20	ホスネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.2.1 項
吸収	ラット	[redacted]（イタリア）	PNET-13-15	ホスネツピタント，ネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.2.2 項
吸収	ラット	[redacted]（イタリア）	PNET-13-37	ホスネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.2.3 項
吸収，排泄（尿糞中）	イヌ	[redacted]（イタリア）	PNET-13-75	ホスネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.2.4 項
吸収	サル	[redacted]（スペイン）	PNET-12-16	ホスネツピタント，ネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.2.5 項
吸収（トキシコキネティックス）	ラット	[redacted]（イタリア）	PNET-11-21	ホスネツピタント／反復静脈内投与	第 4.2.3.2.2 項
吸収（トキシコキネティックス）	ラット	[redacted]（イタリア）	PNET-13-18	ホスネツピタント／反復静脈内投与	第 4.2.3.2.5 項
吸収（トキシコキネティックス）	イヌ	[redacted]（イタリア）	PNET-11-22	ホスネツピタント／反復静脈内投与	第 4.2.3.2.4 項

2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表（続き）

試験の種類	試験系	試験実施施設	試験番号	被験物質／投与	添付場所
吸収（トキシコキネティックス）	イヌ	[redacted]（フランス），[redacted]（イタリア）	PNET-13-27	ホスネツピタント／反復静脈内投与	第 4.2.3.2.6 項
分布（血漿タンパク結合）	ヒト血漿	[redacted]（イタリア）	PNET-15-90	ホスネツピタント	第 4.2.2.3.1 項
分布（血漿タンパク結合，血球移行）	ヒト，イヌ，ラット血液及び血漿，スナネズミ血漿 ヒト血漿タンパク種	[redacted]（スイス）	1006047	ネツピタント	第 4.2.2.3.2 項
分布（血漿タンパク結合，血球移行）	ヒト，イヌ，ラット血液及び血漿	[redacted]（スイス）	1010388	M1，M2，M3	第 4.2.2.3.3 項
分布（血球移行）	ヒト血液，血漿	[redacted]（イタリア）	PNET-15-91	ホスネツピタント	第 4.2.2.3.4 項
組織分布	ラット	[redacted]（イタリア）	PNET-13-39	ホスネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.3.5 項
分布（胎盤移行性），排泄（乳汁排泄）	妊娠ラット 哺育中ラット	[redacted]（日本）	AE-8413-G	ホスネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.3.6 項
代謝（*In vitro*）	ヒト，イヌ，ラット肝ミクロソーム	[redacted]（中国）	NETU-10-03	ホスネツピタント	第 4.2.2.4.1 項
代謝（*In vitro*）	ヒト肝，腎，肺，小腸 S9 フラクション	[redacted]（イタリア）	PNET-14-04	ホスネツピタント	第 4.2.2.4.2 項
代謝（*In vitro*）	ヒト，イヌ，ラット肝細胞	[redacted]（中国）	NETU-10-04	ホスネツピタント	第 4.2.2.4.3 項
代謝（*In vitro*）	ヒト，イヌ，ラット肝細胞	[redacted]（中国）	NETU-10-18	ホスネツピタント	第 4.2.2.4.4 項
代謝（*In vitro*，代謝酵素同定）	ヒト，イヌ，ラット肝ミクロソーム及び肝細胞，マーモセット肝ミクロソーム 組換えヒト CYP 酵素	[redacted]（スイス）	1003832	ネツピタント	第 4.2.2.4.5 項
代謝（*In vitro*，代謝酵素同定）	組換えヒト CYP 酵素 ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（イタリア）	NETU-13-21	ネツピタント	第 4.2.2.4.6 項
代謝（*In vivo*）	ラット	[redacted]（イタリア）	PNET-14-32	ホスネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.4.7 項
代謝（*In vivo*）	イヌ	[redacted]（イタリア）	PNET-14-41	ホスネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.4.8 項
排泄（尿糞中）	ラット	[redacted]（イタリア）	PNET-13-36	ホスネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.5.1 項
排泄（胆汁中）	ラット	[redacted]（イタリア）	PNET-13-38	ホスネツピタント／単回静脈内投与	第 4.2.2.5.2 項

2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表（続き）

試験の種類	試験系	試験実施施設	試験番号	被験物質／投与	添付場所
薬物動態学的薬物相互作用（CYP 阻害）	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（イタリア）	PNET-15-49	ホスネツピタント	第 4.2.2.6.1 項
薬物動態学的薬物相互作用（CYP 阻害）	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（スイス）	1003907	ネツピタント，M1，M2	第 4.2.2.6.2 項
薬物動態学的薬物相互作用（CYP 阻害）	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（イタリア）	NETU-13-20	ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.6.3 項
薬物動態学的薬物相互作用（CYP 阻害）	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（イタリア）	PNET-15-81	ホスネツピタント	第 4.2.2.6.4 項
薬物動態学的薬物相互作用（CYP 阻害）	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（イタリア）	NETU-13-26	ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.6.5 項
薬物動態学的薬物相互作用（CYP 阻害）	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（イタリア）	NETU-15-16	ネツピタント	第 4.2.2.6.6 項
薬物動態学的薬物相互作用（*in vitro*）	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（オランダ）	NETU-06-15	ネツピタント	第 4.2.2.6.7 項
薬物動態学的薬物相互作用（*in vitro*）	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（オランダ）	NETU-09-10	ネツピタント	第 4.2.2.6.8 項
薬物動態学的薬物相互作用（*in vitro*）	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（オランダ）	NETU-09-09	ネツピタント	第 4.2.2.6.9 項
薬物動態学的薬物相互作用（UGT 阻害）	組換えヒト UGT 酵素，ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（イギリス）	NETU-14-35	ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.6.10 項
薬物動態学的薬物相互作用（UGT 阻害）	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]（オランダ）	PNET-20-06	ホスネツピタント	第 4.2.2.6.11 項
薬物動態学的薬物相互作用（CYP 誘導）	ヒト肝細胞	[redacted]（オランダ）	NETU-10-27	ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.6.12 項
薬物動態学的薬物相互作用（CYP 誘導）	ヒト肝細胞	[redacted]（イタリア）	NETU-13-47	ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.6.13 項
薬物動態学的薬物相互作用（トランスポーター）	発現細胞，発現ベシクル	[redacted]（ハンガリー）	PNET-18-21	ホスネツピタント	第 4.2.2.6.14 項
薬物動態学的薬物相互作用（トランスポーター）	発現細胞，発現ベシクル	[redacted]（ハンガリー）	PNET-15-27	ホスネツピタント	第 4.2.2.6.15 項

2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表（続き）

試験の種類	試験系	試験実施施設	試験番号	被験物質／投与	添付場所
薬物動態学的薬物相互作用（トランスポーター）	Caco-2 細胞	[redacted]（イタリア）	NETU-14-30	ネツピタント	第 4.2.2.6.16 項
薬物動態学的薬物相互作用（トランスポーター）	発現ベシクル	[redacted]（ハンガリー）	NETU-14-34	ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.6.17 項
薬物動態学的薬物相互作用（トランスポーター）	発現細胞，発現ベシクル	[redacted]（ハンガリー）	NETU-12-81	ネツピタント，M1，M2，M3	第 4.2.2.6.18 項
薬物動態学的薬物相互作用（トランスポーター）	発現細胞，発現ベシクル	[redacted]（ハンガリー）	NETU-06-13	ネツピタント	第 4.2.2.6.19 項
薬物動態学的薬物相互作用（予測）	該当なし	[redacted]（イギリス）	PNET-16-29	該当なし	第 4.2.2.6.20 項

CYP：シトクロム P450；UGT：UDP-グルクロン酸転移酵素；Caco-2：ヒト結腸がん由来

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

Method	Biological Matrix	Test Item and LLOQ	Validation method		Pharmacokinetic and Toxicity report	
			Study No.	Location in CTD	Study No.	Location in CTD
LC/MS/MS	Rat Plasma	Fosnetupitant: LLOQ 3.274 ng/mL	84540	4.2.2.1.1	PNET-11-21 PNET-13-15 PNET-13-18 PNET-13-49 PNET-13-56	4.2.3.2.2 4.2.2.2.2 4.2.3.2.5 4.2.3.3.2.1 4.2.3.5.2.2
LC/MS/MS	Rat Plasma	NETU: LLOQ 5.040 ng/mL M1: LLOQ 9.870 ng/mL M2: LLOQ 9.979 ng/mL M3: LLOQ 9.990 ng/mL	82240	4.2.2.1.2	PNET-11-21 PNET-13-15 PNET-13-18 PNET-13-49 PNET-13-56	4.2.3.2.2 4.2.2.2.2 4.2.3.2.5 4.2.3.3.2.1 4.2.3.5.2.2
LC/MS/MS	Rat Brain	Fosnetupitant; LLOQ 3.417 ng/mL NETU: LLOQ 4.741 ng/mL M1: LLOQ 9.900 ng/mL M2: LLOQ 10.02 ng/mL M3: LLOQ 10.31 ng/mL	PNET-12-74	4.2.2.1.3	PNET-13-15 PNET-13-18	4.2.2.2.2 4.2.3.2.5
LC/MS/MS	Rabbit Plasma	Fosnetupitant; LLOQ 3.209 ng/mL NETU: LLOQ 5.244 ng/mL M1: LLOQ 9.580 ng/mL M2: LLOQ 10.37 ng/mL M3: LLOQ 9.244 ng/mL	PNET-13-23	4.2.2.1.4	PNET-13-53 PNET-13-71	4.2.3.5.2.4 4.2.3.5.2.5
LC/MS/MS	Dog Plasma	Fosnetupitant; LLOQ 3.469 ng/mL NETU: LLOQ 4.631 ng/mL M1: LLOQ 10.12 ng/mL M2: LLOQ 10.46 ng/mL M3: LLOQ 10.69 ng/mL	84580 92410	4.2.2.1.5 4.2.2.1.6	PNET-11-22 PNET-12-35 PNET-13-27	4.2.3.2.4 4.2.1.3.6 4.2.3.2.6

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験（続き）

Method	Biological Matrix	Test Item and LLOQ	Validation method		Pharmacokinetic and Toxicity report	
			Study No.	Location in CTD	Study No.	Location in CTD
LC/MS/MS	Dog Heart	Fosnetupitant; LLOQ 6.417 ng/mL NETU: LLOQ 10.49 ng/mL M1: LLOQ 19.16 ng/mL M2: LLOQ 20.73 ng/mL M3: LLOQ 18.49 ng/mL	PNET-14-27	4.2.2.1.7	PNET-12-35 PNET-13-27	4.2.1.3.6 4.2.3.2.6
LC/MS/MS	Monkey Plasma	Fosnetupitant; LLOQ 3.185 ng/mL NETU: LLOQ 4.631 ng/mL M1: LLOQ 10.12 ng/mL M2: LLOQ 10.46 ng/mL M3: LLOQ 10.69 ng/mL	92050	4.2.2.1.8	PNET-12-16	4.2.2.2.5

LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; LLOQ: Lower limit of quantification

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与

Test Article：Fosnetupitant, Netupitant

Study Number	NETU-09-20	PNET-13-15	PNET-13-37	PNET-13-75	PNET-12-16
Location in CTD	4.2.2.2.1	4.2.2.2.2	4.2.2.2.3	4.2.2.2.4	4.2.2.2.5
Species/Strain	Wistar rat, Beagle dog	Wistar rat	Wistar rat	Beagle dog	Cynomolgus monkey
Number of animals/Sex	Rat: 5 males Dog: 3 males	54 males	3 males	3 males	6 males, 6 females
Feeding conditions	Fasted 12 hr, water *ad libitum*	*Ad libitum*	*Ad libitum*	Fasted 16 hr before and 4 hr after dosing, water *ad libitum*	*Ad libitum*
Vehicle/Formulation	5% Glucose solution (for rat) DMSO:Ethanol:Tween80:5% glucose solution=5:4:1:90, v/v (for dog)	Pro-NETU: 0.5 mol/L NaOH solution (pH 7.5 ~ 8.0, titrated by HCl) and 5% glucose NETU: 5% Glucose solution	0.5 mol/L NaOH solution (pH 7.5, titrated by HCl) and 5% glucose	0.5 mol/L NaOH solution (pH 7.5, titrated by HCl) and 5% glucose	Pro-NETU: 0.5 mol/L NaOH solution (pH 7.5 ~ 8.0, titrated by HCl) and 5% glucose NETU: 5% Glucose solution
Method of Administration	Intravenous	Intravenous	Intravenous	Intravenous	Intravenous
Test article: Dose (mg/kg)	ProNetu-2a: 10.0 (for rat), 3.0 (for dog)	Pro-NETU: 11.9 NETU: 10.0	[^{14}C]-Pro-NETU: 5.9	[^{14}C]-Pro-NETU: 5.9	Pro-NETU: 4.5 NETU: 3.8
Sample matrix	Plasma	Plasma, Brain	Blood, plasma	Blood, plasma	Plasma
Analyte	Fosnetupitant, NETU	Fosnetupitant, NETU, M1, M2, M3	Radioactivity, Fosnetupitant, NETU, M1, M2, M3	Radioactivity, Fosnetupitant, NETU, M1, M2, M3	Fosnetupitant, NETU, M1, M2, M3
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LSC, LC/MS/MS	LSC, LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK parameters (main)	$AUC_{0\text{-}t}$, C_{max}, and T_{max}	AUC_{last}, C_{max}, T_{max}, $T_{1/2}$, and CL_{tot}	AUC_{last}, AUC_{inf}, C_{max}, T_{max}, and $T_{1/2}$	AUC_{last}, AUC_{inf}, C_{max}, T_{max}, and $T_{1/2}$	AUC_{last}, AUC_{inf}, C_{max}, T_{max}, $T_{1/2}$, and CL_{tot}
Results (Table location in CTD)	Table 2.6.4.3.1.1-1 Table 2.6.4.3.1.2-1	Table 2.6.4.3.1.1-2 Table 2.6.4.4.4-1	Table 2.6.4.3.1.1-3 Table 2.6.4.3.1.1-4	Table 2.6.4.3.1.2-2 Table 2.6.4.3.1.2-3	Table 2.6.4.3.1.3-1

LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; LSC: Liquid scintillation counting

2.6.5.4　　薬物動態試験：吸収：反復投与

本剤をラット及びイヌに反復静脈内投与したときの血中動態（トキシコキネティックス）を検討した毒性試験（ラット：PNET-11-21 及び PNET-13-18 試験，イヌ：PNET-11-22 及び PNET-13-27 試験）の概要は第 2.6.7 項に記載した.

2.6.5.5　薬物動態試験：分布

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.3.5
Study number: PNET-13-39

Species/Strain	Albino Wistar rat and pigmented Lister Hooded rats
Number of animals/Sex	Wistar: 6 males and 6 females; Pigmented: 1 male
Feeding conditions	*Ad libitum*
Test article	[^{14}C]-Pro-NETU (Lot No. G0465/5, G0463/5) Radioactivity: 2.76 MBq/mg; Radiochemical purity: ≥93%
Vehicle/Formulation	0.5 mol/L NaOH solution (pH 7.5, titrated by HCl) and 5% glucose
Method of administration	Intravenous
Dose	5.9 mg/kg (3.7 MBq/kg)
Sampling time	1, 6, 24, 72, 216, 336 hr (albino); 24 hr (pigmented)
Assay	Whole body autoradiography
Results (Table/Figure location in CTD)	Figure 2.6.4.4.3-1, Table 2.6.4.4.3-1, Table 2.6.4.4.3-2, Table 2.6.4.4.3-3

2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合

Study Number	PNET-15-90	1006047				1010388		
Location in CTD	4.2.2.3.1	4.2.2.3.2				4.2.2.3.3		
Test article	Fosnetupitant	Netupitant (NETU)				M1, M2, M3		
Method	Equilibrium dialysis	Equilibrium dialysis				Equilibrium dialysis		
Assay	LC/MS/MS	LSC				LSC		
Species	Human	Human	Dog	Rat	Gerbil	Human	Dog	Rat
% Bound	92.14 (1 µmol/L), 94.86 (10 µmol/L)	99.54 ~ 99.73 (9.13 ~ 1300 ng/mL) Mean ± SD: 99.67 ± 0.032 HSA: 97.0 ~ 97.3 (20.3 ~ 2290 ng/mL) Mean ± SD: 97.1 ± 0.1 AGP: 89 ~ 96.2 (17.6 ~ 1810 ng/mL)	99.58 ~ 99.82 (79.3 ~ 13400 ng/mL) Mean ± SD: 99.78 ± 0.023 (~ 2.8 µg/mL)	99.44 ~ 99.71 (78.5 ~ 13300 ng/mL) Mean ± SD: 99.69 ± 0.021 (~ 0.9 µg/mL)	99.44 ~ 99.59 (9.73 ~ 855 ng/mL) Mean ± SD: 99.50 ± 0.06	M1: 99.03 ~ 99.19 (121 ~ 2540 ng/mL) Mean ± SD: 99.09 ± 0.06 M2: 97.5 ~ 97.8 (115 ~ 2500 ng/mL) Mean ± SD: 97.7 ± 0.1 M3: 99.05 ~ 99.19 (114 ~ 2070 ng/mL) Mean ± SD: 99.12 ± 0.05	M1: 99.24 ~ 99.51 (247 ~ 5890 ng/mL) Mean ± SD: 99.43 ± 0.10 M2: 97.4 ~ 98.2 (118 ~ 2460 ng/mL) Mean ± SD: 97.8 ± 0.3 M3: 98.8 ~ 99.02 (118 ~ 2320 ng/mL) Mean ± SD: 98.9 ± 0.09	M1: 99.45 ~ 99.76 (124 ~ 2580 ng/mL) Mean ± SD: 99.75 ± 0.02 (~ 1170 ng/mL) M2: 98.4 ~ 99.46 (120 ~ 2490 ng/mL) Mean ± SD: 99.35 ± 0.17 (~ 1090 ng/mL) M3: 95.7 ~ 97.8 (108 ~ 2330 ng/mL) Mean ± SD: 97.5 ± 0.5 (~ 972 ng/mL)

LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; LSC: Liquid scintillation counting; SD: Standard deviation; HSA: Human serum albumin; AGP: α_1-Acid glycoprotein

2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

胎盤移行性

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.3.6
Study number: AE-8413-G

Species/Strain	AE-8413-G
Number of animals/Sex	Rat (Crl:CD (SD))
Number of animals / Sex	Day 12 of pregnancy: 4 females; Day 18 of pregnancy: 3 females
Feeding conditions	*Ad libitum*
Test article	[^{14}C]-Pro-NETU (Lot No. CFQ44115) Radioactivity: 2.98 MBq/mg; Radiochemical purity: ≥88.7%
Vehicle/Formulation	0.5 mol/L NaOH solution (pH 7.5, titrated by HCl) and 5% glucose
Method of administration	Intravenous
Dose	5.9 mg/kg (3.7 MBq/kg)
Sampling time	1, 6, 24, 168 hr (Day 12); 1, 6, 24 hr (Day 18)
Assay	Whole body autoradiography
Results (Table location in CTD)	Table 2.6.4.4.5-1

2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（続き）

乳汁排泄

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.3.6
Study number: AE-8413-G

Species/Strain	Rat (Crl:CD (SD))
Number of animals/Sex	3 lactating females (Postpartum day 11)
Feeding conditions	*Ad libitum*
Test article	[^{14}C]-Pro-NETU (Lot No. CFQ44115) Radioactivity: 2.98 MBq/mg; Radiochemical purity: ≥88.7%
Vehicle/Formulation	0.5 mol/L NaOH solution (pH 7.5, titrated by HCl) and 5% glucose
Method of administration	Intravenous
Dose	5.9 mg/kg (3.7 MBq/kg)
Sampling time	Plasma, Milk: 1, 6, 24, 48, 96, 168 hr
Assay	LSC

Results

Time	Radioactivity concentration (ng eq. of Pro-NETU/mL)*		
(hr)	Milk	Plasma	Concentration ratio of milk to plasma
1	9918.63 ± 385.00	1291.53 ± 124.18	7.68
6	6958.15 ± 553.83	962.58 ± 112.56	7.23
24	4014.35 ± 841.48	635.38 ± 82.56	6.32
48	1830.90 ± 185.04	462.53 ± 30.04	3.96
96	415.40 ± 35.80	152.78 ± 18.40	2.72
168	68.73 ± 25.62	24.32 ± 3.39	2.83
C_0 (ng eq./mL)	–	1369.88 ± 127.65	
C_{max} (ng eq./mL)	9918.63 ± 385.00	–	
$T_{1/2}$ (h)	24.36 ± 1.62	28.12 ± 0.67	
AUC_{last} (ng eq.·h/mL)	287386.5 ± 19586.6	55665.8 ± 4651.6	
AUC_{inf} (ng eq.·h/mL)	289836.4 ± 19880.4	56654.6 ± 4799.3	

* Mean ± SD

LSC: Liquid scintillation counting; SD: Standard deviation; –: Not applicable

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

血球移行性

Study Number	PNET-15-91	1006047			1010388		
Location in CTD	4.2.2.3.4	4.2.2.3.2			4.2.2.3.3		
Test article	Fosnetupitant	Netupitant (NETU)			M1, M2, M3		
Assay	LC/MS/MS	LSC			LSC		
Species	Human	Human	Dog	Rat	Human	Dog	Rat
Blood to plasma partitioning ratio	0.4 (0.1 µmol/L), 0.6 (1 µmol/L), 0.4 (10 µmol/L)	0.68 ~ 0.70 (52.0 ~ 994 ng/mL) Mean ± SD: 0.69 ± 0.01 (f_E: 13 ± 1%)	0.76 ~ 0.80 (55.1 ~ 2990 ng/mL) Mean ± SD: 0.77 ± 0.02 (f_E: 13 ± 2%)	0.76 ~ 0.99 (49.0 ~ 13700 ng/mL) Mean ± SD: 0.77 ± 0.01 (f_E: 19 ± 1%) (~ 303 ng/mL)	M1: 1.08 ~ 1.12 (124 ~ 2460 ng/mL) Mean ± SD: 1.10 ± 0.02 M2: 0.68 ~ 0.69 (73.8 ~ 2500 ng/mL) Mean ± SD: 0.69 ± <0.01 M3: 0.62 (352 ng/mL)	M1: 0.73 ~ 0.84 (621 ~ 5880 ng/mL) Mean ± SD: 0.73 ± 0.01 (~ 1080 ng/ml) M2: 0.65 ~ 0.67 (133 ~ 2490 ng/mL) Mean ± SD: 0.66 ± 0.01 M3: 0.75 (358 ng/mL)	M1: 0.93 ~ 1.19 (126 ~ 2480 ng/mL) Mean ± SD: 0.94 ± 0.02 (~ 347 ng/mL) M2: 0.69 ~ 0.83 (69.5 ~ 2470 ng/mL) Mean ± SD: 0.69 ± <0.01 (~ 361 ng/mL) M3: 0.84 (346 ng/mL)

LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; LSC: Liquid scintillation counting; SD: Standard deviation; f_E: fraction in erythrocytes

脳中動態：ホスネツピタントのラットの脳中動態（単回静脈内投与）を検討した試験（PNET-13-15）の概要は Table 2.6.4.4.4-1 に記載し，トキシコキネティックスとしてラットの脳中動態（反復静脈内投与）を検討した毒性試験の概要は第 2.6.7 項に記載した．

心臓中動態：トキシコキネティックスとしてイヌの心臓中動態を検討した毒性試験（PNET-13-27）の概要は第 2.6.7 項に記載した．

2.6.5.9　薬物動態試験：*In vivo* における代謝

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.4.7
Study number: PNET-14-32

Species/Strain	Wistar rat
Number of animals/Sex	4 males
Feeding conditions	*Ad libitum*
Test article	[^{14}C]-Pro-NETU (Lot No. F0601/9, G0463/5, G0465/5) Radioactivity: 2.76 MBq/mg; Radiochemical purity: ≥90% (Lot No. F0601/9), ≥93% (Lot No. G0463/5, G0465/3) ≥93%
Vehicle/Formulation	0.5 mol/L NaOH solution (pH 7.5, titrated by HCl) and 5% glucose
Method of administration	Intravenous
Dose	5.9 mg/kg (3.7 MBq/kg)
Sampling time or period	Plasma: 1, 6, 24 hr; Urine: 0 ~ 24 hr; Feces: 0 ~ 24, 24 ~ 48, 48 ~ 72, 72 ~ 96, 96 ~ 120 hr; Bile: 0 ~ 8, 8 ~ 24, 24 ~ 48, 48 ~ 72 hr
Quantification/Identification	LC-RAD-MS/MS

Results

Radioactivity (%) of metabolites to total (for plasma) and to administered dose (for urine, bile and feces)

Retention time (min)		15.0	12.8	13.6	16.6	18.5	18.8	19.5	20.8
Sample	Sampling time or period (hr)	Fosnetupitant	M3	V	AC	M1	M4	NETU	M2
Plasma	1	-	1.2	-	1.2	3.8		76.1	7.3
Plasma	6	-	3.4	0.8	1.9	18.2		63.4	5.4
Plasma	24	-	2.9	0.6	4.4	39.9	-	41.4	3.5
Urine	0 ~ 24	-	0.01	0.01	0.00	0.02		0.01	0.05
Bile	0 ~ 72	1.48	1.10	2.47	1.63	0.54	0.26	2.77	6.97
Feces	0 ~ 120	-	1.91	-	10.23	9.38	-	8.72	0.03

Mean value
-: Not detected
V: Metabolite of dihydroxylation
AC: Metabolite of N-demethylation and loss of ethyl from the piperazine

LC-RAD-MS/MS: Liquid chromatograph-radiochemical detector-tandem mass spectrometer

2.6.5.9　薬物動態試験：*In vivo* における代謝（続き）

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.4.8
Study number: PNET-14-41

Species/Strain	Beagle dog
Number of animals/Sex	3 males
Feeding conditions	Fasted 16 hr before and 4 hr after dosing, water *ad libitum*
Test article	[^{14}C]-Pro-NETU (Lot No. G0465/5, G0463/5) Radioactivity: 2.76 MBq/mg; Radiochemical purity: ≥93%
Vehicle/Formulation	0.5 mol/L NaOH solution (pH 7.5, titrated by HCl) and 5% glucose
Method of administration	Intravenous
Dose	5.9 mg/kg (0.37 MBq/kg)
Sampling time or period	Plasma: 0.25+0.5+1, 2+4+8 hr; Urine: 0 ~ 24 hr; Feces: 0 ~ 24, 24 ~ 48, 48 ~ 72, 72 ~ 96 hr;
Quantification/Identification	LC-RAD-MS/MS

Results

Radioactivity (%) of metabolites to total (for plasma) and to administered dose (for urine, bile and feces)

Retention time (min)		15.9	11.5	13.6	13.7	17.4	19.4	19.4	20.2	21.6
Sample	Sampling time or period (hr)	Fosnetupitant	O	M3	T	AC	M1	M4	NETU	M2
Plasma	0.25+0.5+1	27.6	-	-	-	-	3.0		63.4	1.6
Plasma	2+4+8	-	-	-	-	-	2.9		74.7	16.6
Urine	0 ~ 24	-	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01		0.03	0.00
Feces	0 ~ 96	-	4.42	6.20		6.73	1.94	-	8.52	-

Mean value
-: Not detected
O: Metabolite of hydroxylation of toluene to benzylalcohol, N-demethylation and loss of ethyl from the piperazine
T: Metabolite of cleavage of the piperazine to 6-amino-pyridinyl and hydroxylation
AC: Metabolite of N-demethylation and loss of ethyl from the piperazine

LC-RAD-MS/MS: Liquid chromatograph-radiochemical detector-tandem mass spectrometer

2.6.5.10　薬物動態試験：*In vitro* における代謝

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.4.1
Study number: NETU-10-03

Type of study	*In vitro* metabolism of fosnetupitant
Method	Biological material/Species: Human, dog and rat liver microsomes (0.5 mg protein/mL) Test article: Fosnetupitant disodium salt (0.5 μmol/L) Incubation: 37°C, 60 min (± NADPH) Determination: Formation of NETU and remaining fosnetupitant (LC/MS/MS)
Results	After 60 min incubation, in the presence of NADPH, NETU formed was 10.3, 3.0 and 17.0 % of the fosnetupitant concentration at time zero in human, dog and rat microsomes respectively. The percentage of fosnetupitant remained at 60 min is 97.7%, 103% and 80.4% in human, dog and rat microsomes, respectively.

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.4.3
Study number: NETU-10-04

Type of study	*In vitro* metabolism of fosnetupitant
Method	Biological material/Species: Human, dog and rat hepatocytes (1.2×10^6 cells/mL) Test article: Fosnetupitant disodium salt (1 μmol/L) Incubation: 37°C (under 5% CO_2, 95% humidity), 240 min Determination: Formation of NETU and remaining fosnetupitant (n=2) (LC/MS/MS)
Results	After 240 min incubation, NETU formed was 64, 45 and 71 % of the fosnetupitant concentration at time zero in human, dog and rat hepatocytes respectively. The percentage of fosnetupitant remained at 240 min is 29%, 35% and 27% in human, dog and rat hepatocytes, respectively.

LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

2.6.5.10　薬物動態試験：*In vitro* における代謝（続き）

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.4.2
Study number: PNET-14-04

Type of study	*In vitro* metabolism of fosnetupitant
Method	Biological material/Species: Human liver, kidney, lung and intestine S9 fraction (1mg protein/mL) Test article: Pro-NETU (0.5 µmol/L) Incubation: 37°C, 120 min (± NADPH) Determination: Formation of NETU and remaining Fosnetupitant (LC/MS/MS)

Results

Human S9 fraction	Liver	Kidney	Lung	Intestine
Remaining of fosnetupitant (% of nominal concentration)	With NADPH: 52.02% Without NADPH: 23.80%	With NADPH: 50.58% Without NADPH: 31.80%	With NADPH: 29.76% Without NADPH: 13.25%	With NADPH: 52.02% Without NADPH: 0.89%
Formation of NETU (%)	With NADPH: 9.90% Without NADPH 67.70%	With NADPH: 58.12% Without NADPH 114.58%	With NADPH: 109.54% Without NADPH 141.76%	With NADPH: 66.22% Without NADPH 125.22%

n=5

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.4.4
Study number: NETU-10-18

Type of study	*In vitro* metabolism of fosnetupitant: metabolite identification
Method	Biological material/Species: Human, dog and rat hepatocytes (2.25×10^6 cells/mL for human and dog, and 1.25×10^6 cells/mL for rat) Test article: Fosnetupitant disodium salt (20 µmol/L) Incubation: 37°C (under 5% CO_2, 95% humidity), 240 min Identification of metabolites : LC/MS/MS
Results (Location in CTD)	The fosnetupitant metabolite patterns of observed in hepatocyte incubations of rat, dog, and human were qualitatively similar. In all species NETU and its three major metabolites (M1, M2 and M3) were formed. Besides NETU, M1, M2 and M3, fosnetupitant metabolites include also an hydroxy-piperazine of the Netupitant (M4), two hydroxy-piperazine of M1 (M5 and M6),and two products with a concomitant hydroxylation and de-hydrogenation of the piperazine ring (M7 and M8) of NETU. Overall eight prominent fosnetupitant metabolites (M1-M8) were identified in incubations with human hepatocytes, all of which were also identified in incubations in hepatocytes of dog and rat.

LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

2.6.5.10　薬物動態試験：*In vitro* における代謝（続き）

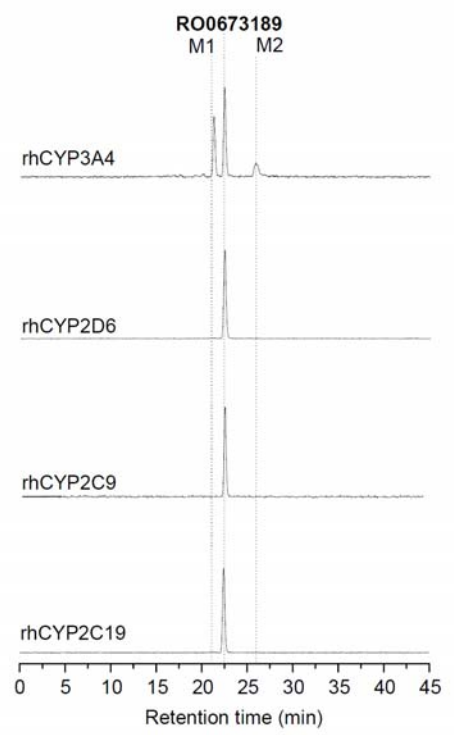
Test Article: Netupitant
Location in CTD: 4.2.2.4.5
Study number: 1003832

Type of study	*In vitro* metabolism of NETU
Method	Biological material/Species: Human, dog, rat and marmoset liver microsomes (100 µg protein/assay) Test article: Radiolabeled NETU (10 µmol/L) Incubation: 37°C, 20 min (+ NADPH)
	Biological material/Species: Human liver microsomes (250 µg protein/assay) Test article: Radiolabeled NETU (10 µmol/L) Incubation: 37°C, 30 min (+ NADPH)
	Biological material/Species: Human, dog and rat hepatocytes ($1 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^6$ cells/mL) Test article: Radiolabeled NETU (10 µmol/L) Incubation: 37°C (under 5% CO_2/95% air), 24 hr
	Quantification/Identification: LC-UV-RAD, LC/MS
Results	The metabolite patterns observed in microsomal incubations of rat, dog, human and marmoset liver and hepatocytes of rat, dog and human were qualitatively similar. In all species two major metabolites, M1 and M2 were formed although with quantitative differences. M3 was also found in the different microsomal incubations of human liver.

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
LC-UV-RAD: Liquid chromatograph with ultraviolet and radiochemical detectors
LC/MS: Liquid chromatography/ mass spectrometer

2.6.5.10　薬物動態試験：*In vitro* における代謝（続き）

Test Article: Netupitant
Location in CTD: 4.2.2.4.5
Study number: 1003832

Type of study	In *vitro* metabolism of NETU: CYP identification
Method (2)	Biological material/Species: rhCYP3A4, 2D6, 2C9 and 2C19 isoforms (100 ~ 600 pmol CYP/assay) Test article: Radiolabeled NETU (1 ~ 5 µmol/L) Incubation: 37°C, 30 min - 1 hr (+ NADPH) Determination: Formation of metabolites (LC-UV-RAD)
Results (2)	HPLC chromatograms of NETU incubated with rhCYP isoforms  Incubation with rhCYP indicated that all oxidative steps were catalyzed by CYP3A (with two apparent Km between 2.8 to 9.1 µmol/L) but not 2C9, 2C19 or 2D6.

rhCYP: Recombinant human CYP;
NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
LC-UV-RAD: Liquid chromatograph with ultraviolet and radiochemical detectors
RO0673189: NETU

2.6.5.10　薬物動態試験：*In vitro* における代謝（続き）

Test Article: Netupitant
Location in CTD: 4.2.2.4.6
Study number: NETU-13-21

Type of study	*In vitro* metabolism of NETU: CYP identification
Method	Biological material/Species: Human liver microsomes (0.8 mg/mL) and recombinant human CYP isoforms (20 pmol CYP) Test article: NETU (10 µmol/L) CYP selective inhibitor: 100 µmol/L Furafylline (CYP1A2), 100 µmol/L Ticlopidine (CYP2B6), 100 µmol/L Trimetoprim (CYP2C8), 100 µmol/L Sulfaphenazole (CYP2C9), 100 µmol/L Nootkatone (CYP2C19), 100 µmol/L Quinidine (CYP2D6), 1 µmol/L Ketoconazole (CYP3A) Incubation: 37°C, 60 min (+NADPH) Determination: Disappearance of NETU (LC/MS/MS)

Results

NETU disappearance in human liver microsomes and rhCYP isoforms in the presence and in the absence of CYP inhibitors

Matrix	CYP inhibitor	Intrinsic clearance of NETU* (µL/min/mg protein or pmol CYP)
HLM	None	32.64
HLM	Furafylline (CYP1A2)	36.06
HLM	Ticlopidine (CYP2B6)	31.00
HLM	Trimetoprim (CYP2C8)	48.16
HLM	Sulfaphenazole (CYP2C9)	4.77
HLM	Nootkatone (CYP2C19)	59.28
HLM	Quinidine (CYP2D6)	13.94
HLM	Ketoconazole (CYP3A)	1.64
rhCYP1A2	None	0.17
rhCYP2B6	None	0.32
rhCYP2C8	None	0.57
rhCYP1A2	Furafylline (CYP1A2)	0.28
rhCYP2B6	Ticlopidine (CYP2B6)	0.41
rhCYP2C8	Trimetoprim (CYP2C8)	1.35

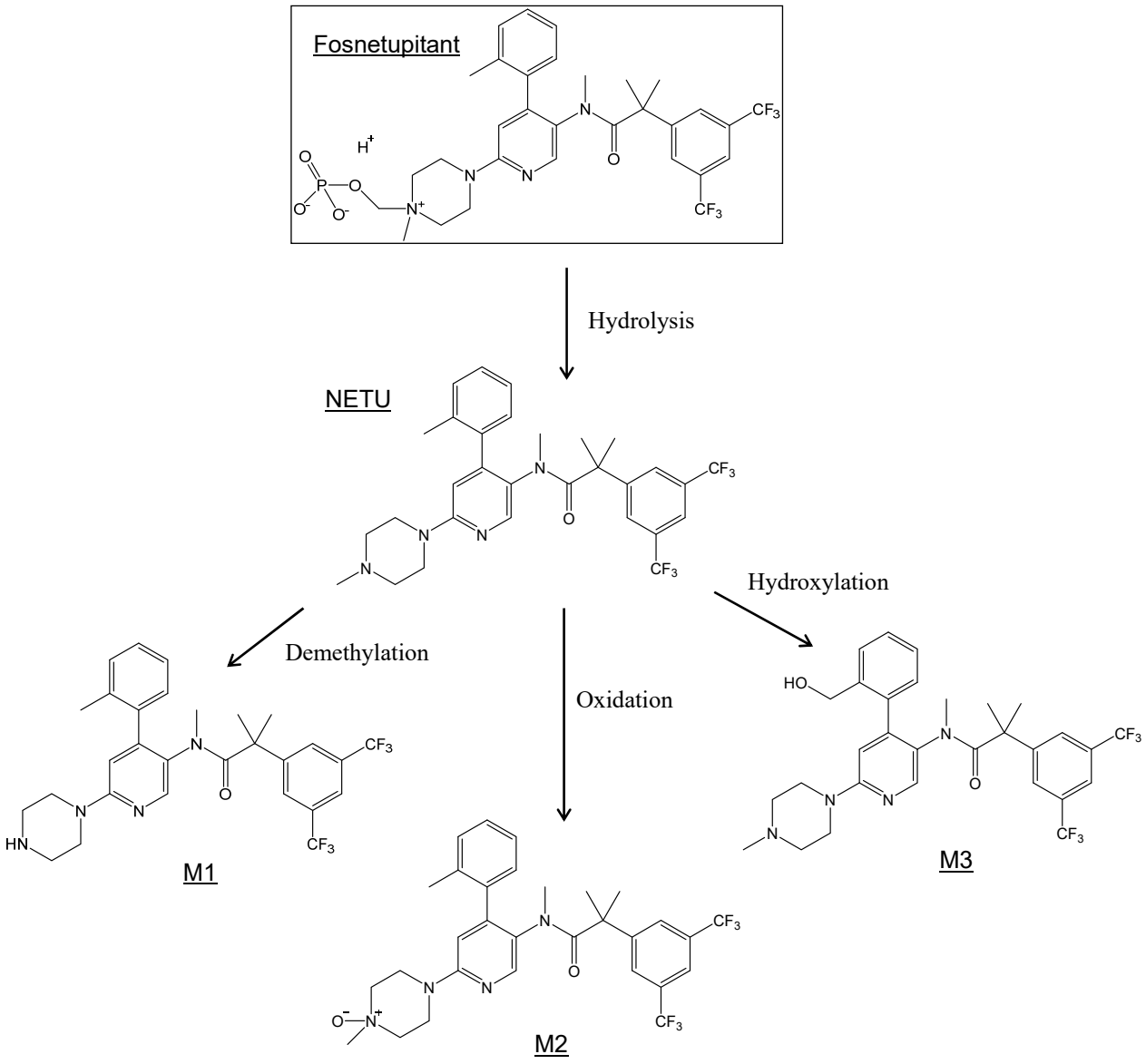
*Mean (n=2)

HLM: Human liver microsomes; rhCYP: Recombinant human CYP
NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路

Test Article: Fosnetupitant

Human, Dog and Rat



2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

Test Article: Netupitant, M1, M2, M3
Location in CTD: 4.2.2.6.12
Study number: NETU-10-27

Type of study

In vitro induction of CYP

Method

Biological material/Species: Fresh human hepatocytes (total 6 donors)
Test article: NETU (0.2 ~ 20 µmol/L), M1, M2, M3 (0.02 ~ 2 µmol/L)
Positive control: 50 µmol/L Omeprazole (CYP1A2), 30, 10, 50 µmol Rifampicin (CYP2C9, 2C19 and 3A, respectively)
Substrate: 60 µmol/L Phenacetin (CYP1A2), 30 µmol/L Tolbutamide (CYP2C9), 50 µmol/L S-mephenytoin (CYP2C19), 4 µmol/L Midazolam (CYP3A)
Incubation: 37°C (under 5% CO_2 in air), 72 hr
Determination: Fold induction (CYP activity) of the test substance and the positive control (Criteria of inducer: ≥40% of the positive control)

Results

Test substance	Concentration	CYP1A2		CYP2C9	
		Fold Induction	% of control inducer	Fold Induction	% of control inducer
Vehicle control	NA	1.2	0.0	1.1	0.0
Omeprazole	50 µmol/L	14.0	100	NA.	NA.
Rifampicin	30 µmol/L	NA.	NA.	2.6	100
NETU	0.2 µmol/L	0.8	<0	0.7	<0
NETU	2 µmol/L	0.8	<0	0.9	4.0
NETU	20 µmol/L	0.1	<0	0.03	<0
M1	0.02 µmol/L	1.0	0.5	0.9	2.1
M1	0.2 µmol/L	0.9	<0	0.8	<0
M1	2 µmol/L	0.8	<0	0.9	3.4
M2	0.02 µmol/L	1.0	0.8	1.0	3.9
M2	0.2 µmol/L	0.9	<0	0.9	0.1
M2	2 µmol/L	0.9	<0	1.0	1.8
M3	0.02 µmol/L	1.1	0.7	0.9	<0
M3	0.2 µmol/L	1.0	0.2	0.8	0.3
M3	2 µmol/L	0.7	<0	0.9	<0

Test substance	Concentration	CYP2C19		CYP3A	
		Fold Induction	% of control inducer	Fold Induction	% of control inducer
Vehicle control	NA	1.0	0.0	1.2	0.0
Rifampicin	10 µmol/L	6.0	100	NA.	NA.
Rifampicin	50 µmol/L	NA.	NA.	3.1	100
NETU	0.2 µmol/L	1.1	3.0	0.6	<0
NETU	2 µmol/L	2.4	27.6	0.2	<0
NETU	20 µmol/L	0.0	<0	0.0	<0
M1	0.02 µmol/L	1.2	3.8	0.8	<0
M1	0.2 µmol/L	1.2	4.9	0.4	<0
M1	2 µmol/L	2.2	22.6	0.1	<0
M2	0.02 µmol/L	1.0	1.0	1.0	4.5
M2	0.2 µmol/L	1.2	4.7	0.9	<0
M2	2 µmol/L	2.3	29.2	0.4	<0
M3	0.02 µmol/L	1.1	2.4	1.1	8.8
M3	0.2 µmol/L	1.0	0.4	0.5	<0
M3	2 µmol/L	0.9	1.6	0.1	<0

Averages from 3 different donors; NA: Not applicable

2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（続き）

Test Article: Netupitant, M1, M2, M3
Location in CTD: 4.2.2.6.13
Study number: NETU-13-47

Type of study

In vitro induction of CYP

Method

Biological material/Species: Cryopreserved human hepatocytes (3 donors)
Test article: NETU, M1, M2, M3 (1~ 50 µmol/L)
Positive control: 1 mmol/L Phenobarbital (CYP2B6)
Substrate: 200 µmol/L S-mephenytoin (CYP2B6)
Incubation: 37˚C (under 5% CO_2, saturating humidity), 72 hr
Determination: Fold induction (CYP2B6 activity and mRNA) of the test substance and the positive control (Criteria of inducer for CYP2B activity: ≥40% of the positive control) (LC/MS/MS, Real-time RT-PCR)

Results

CYP2B6 enzymatic activity

Test substance	Lot EJW		Lot YJM		Lot NON	
	Fold induction (over control)	% of positive control	Fold induction (over control)	% of positive control	Fold induction (over control)	% of positive control
Phenobarbital (1mmol/L)	2.82	100	2.24	100	3.41	100
NETU (1 µmol/L)	0.96	-1.71	1.18	-5.90	1.38	21.47
M1 (1 µmol/L)	1.09	4.94	0.82	-14.80	1.03	1.35
M2 (1 µmol/L)	0.85	-8.43	0.70	-23.92	1.01	0.40
M2 (10 µmol/L)	1.42	23.31	1.04	3.11	1.13	5.36
M3 (1 µmol/L)	1.00	0.58	1.17	-7.11	0.91	0.06

CYP2B6 mRNA level

Test substance	Lot EJW		Lot YJM		Lot NON		Mean
	Fold induction (over control)	% of positive control	Fold induction (over control)	% of positive control	Fold induction (over control)	% of positive control	Fold induction (over control)
Phenobarbital (1mmol/L)	6.95	100	10.77	100	9.3^	100	10.04±1.93
NETU (1 µmol/L)	3.3	17.72	0.91	-1.13	2.13	4.89	1.52±1.2
M1 (1 µmol/L)	1	-0.01	1.17	1.77	0.88	-1.44	1.03±0.15
M2 (1 µmol/L)	0.56	-7.36	0.96	-0.41	0.76	-2.91	0.86±0.2
M2 (10 µmol/L)	3.22	37.34	5.76	48.73	4.77	45.48	5.27±1.28
M3 (1 µmol/L)	1.99	7.63	0.77	-2.89	2.07	4.61	1.42±0.73
M3 (10 µmol/L)	2.27	9.84	2.1	14	0.63	25.54	1.37±0.9

Data are expressed as a mean of three individual determinations except for ^ where n=2.

LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; RT-PCR: Reverse transcription polymerase chain reaction

2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（続き）

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.1
Study number: PNET-15-49

<table>
<tr><td>Type of study</td><td>In vitro inhibition of CYP</td></tr>
<tr><td>Method</td><td>Biological material/Species: Human liver microsomes (0.1 or 0.2 mg protein/mL)
Test article: Fosnetupitant (0.3 ~ 1000 µmol/L)
Substrate: 6 µmol/L Tacrine (CYP1A2), 43 µmol/L Bupropion (CYP2B6), 14 µmol/L Paclitaxel (CYP2C8), 7 µmol/L Diclofenac (CYP2C9), 71 µmol/L S-mephenytoin (CYP2C19), 5 µmol/L Dextromethorphan (CYP2D6), 2.1 µmol/L Midazolam (CYP3A), 43 µmol/L Testosterone (CYP3A)
Incubation: 37°C, 10, 20 or 40 min (+ NADPH)
Determination: IC_{50} calculated from concentrations of the metabolites of the substrates (LC/MS/MS)</td></tr>
<tr><td>Results</td><td>
<table>
<tr><th>CYP enzyme</th><th>Substrate</th><th>Enzyme reaction</th><th>IC_{50} (µmol/L) (95% CI)</th></tr>
<tr><td>CYP1A2</td><td>Tacrine</td><td>Tacrine-1-hydroxylation</td><td>208.40 (121.7 ~ 357.0)</td></tr>
<tr><td>CYP2B6</td><td>Bupropion</td><td>Bupropion hydroxylation</td><td>106.8 (78.37 ~ 145.6)</td></tr>
<tr><td>CYP2C8</td><td>Paclitaxel</td><td>Paclitaxel 6-hydroxylation</td><td>56.7 (39.42 ~ 81.42)</td></tr>
<tr><td>CYP2C9</td><td>Diclofenac</td><td>Diclofenac 4’-hydroxylation</td><td>27.9 (22.33 ~ 34.83)</td></tr>
<tr><td>CYP2C19</td><td>S-mephenytoin</td><td>S-mephenytoin 4’-hydroxylation</td><td>46.1 (27.66 ~ 76.84)</td></tr>
<tr><td>CYP2D6</td><td>Dextromethorphan</td><td>Dextromethorphan O-demethylation</td><td>217.2 (131.8 ~ 358.0)</td></tr>
<tr><td>CYP3A</td><td>Midazolam</td><td>Midazolam 1'-hydroxylation</td><td>196.8 (96.59 ~ 400.8)</td></tr>
<tr><td>CYP3A</td><td>Testosterone</td><td>Testosterone 6β-hydroxylation</td><td>299.2 (251.7 ~ 355.6)</td></tr>
</table>
Values are mean of three replicate incubations.
CI: Confidence interval</td></tr>
</table>

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2’-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration
LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（続き）

Test Article: Netupitant, M1, M2
Location in CTD: 4.2.2.6.2
Study number: 1003907

<table>
<tr><td>Type of study</td><td>In vitro inhibition of CYP</td></tr>
<tr><td>Method</td><td>Biological material/Species: Human liver microsomes (0.075 ~ 1 mg protein/mL)
Test article: NETU (0 ~ 100 µmol/L) , M1, M2 (0 ~ 30 µmol/L)
Substrate : 25 µmol/L Tacrine (CYP1A2), 5 and 2 ~ 50 µmol/L Diclofenac (CYP2C9), 32.8 µmol/L S-mephenytoin (CYP2C19), 40 µmol/L Bufuralol (CYP2D6), 5 and 2 ~ 50 µmol/L Midazolam (CYP3A), 20 and 5 ~ 20µmol/L Testosterone (CYP3A), 20 µmol/L Nifedipine (CYP3A), 3 µmol/L Simvastatin (CYP3A)
Incubation: 37°C, 5 ~ 30 min (+ NADPH)
Determination: IC_{50} and K_i calculated from concentrations of the metabolites of the substrates (HPLC, Radio-HPLC)</td></tr>
<tr><td></td><td>
<table>
<tr><td colspan="2">CYP enzyme</td><td>CYP2C9</td><td colspan="4">CYP3A</td><td>CYP1A2</td><td>CYP2C19</td><td>CYP2D6</td></tr>
<tr><td colspan="2">Substrate</td><td>Diclofenac</td><td>Midazolam</td><td>Testosterone</td><td>Nifedipine</td><td>Simvastatin</td><td>Tacrine</td><td>S-mephenytoin</td><td>Bufuralol</td></tr>
<tr><td rowspan="3">IC_{50} (µmol/L)</td><td>NETU</td><td>22.6 ± 3.0</td><td>5.9 ± 1.0</td><td>1.7 ± 0.2</td><td>12.0 ± 0.5</td><td>10.5 ± 0.8</td><td>>>100</td><td>>>100</td><td>>>100</td></tr>
<tr><td>M1</td><td></td><td></td><td>1.2 ± 0.5</td><td colspan="5"></td></tr>
<tr><td>M2</td><td></td><td></td><td>>1</td><td colspan="5"></td></tr>
<tr><td colspan="2">CYP enzyme</td><td>CYP2C9</td><td colspan="2">CYP3A</td><td colspan="5"></td></tr>
<tr><td colspan="2">Substrate</td><td>Diclofenac</td><td>Midazolam</td><td>Testosterone</td><td colspan="5"></td></tr>
<tr><td rowspan="2">Apparent K_i (µmol/L)</td><td>NETU</td><td>25.0 ± 7.4</td><td>2.2 ± 0.6</td><td>1.1 ± 0.2</td><td colspan="5"></td></tr>
<tr><td colspan="2">Inhibition mechanism</td><td>Competitive</td><td>Competitive</td><td>Competitive</td><td colspan="5"></td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate; IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration; K_i: Inhibition constant
HPLC: High performance liquid chromatography

2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（続き）

Test Article: Netupitant, M1, M2, M3
Location in CTD: 4.2.2.6.3
Study number: NETU-13-20

Type of study

In vitro inhibition of CYP

Method

Biological material/Species: Human liver microsomes (0.1 or 0.2 mg protein/mL)
Test article: NETU, M1, M2, M3 (0.3 ~ 100 µmol/L)
Substrate: 6 µmol/L Tacrine (CYP1A2), 43 µmol/L Bupropion (CYP2B6), 14 µmol/L Paclitaxel (CYP2C8), 7 µmol/L Diclofenac (CYP2C9), 71 µmol/L S-mephenytoin (CYP2C19), 5 µmol/L Dextromethorphan (CYP2D6), 2.1 µmol/L Midazolam (CYP3A), 43 µmol/L Testosterone (CYP3A)
Incubation: 37°C, 10, 20 or 40 min (+ NADPH)
Determination: IC_{50} and K_i calculated from concentrations of the metabolites of the substrates (LC/MS/MS)

Results

CYP enzyme	Substrate	Enzyme reaction	Compound	IC_{50} (95% CI) (µmol/L)	K_i (µmol/L)
CYP1A2	Tacrine	Tacrine-1 -hydroxylation	M1	39.39 (23.43 ~ 66.22)	19.70
			M2	>100 (NA)	NA
			M3	>100 (NA)	NA
CYP2B6	Bupropion	Bupropion hydroxylation	NETU	32.39 (27.22 ~ 38.55)	16.20
			M1	4.89 (2.87 ~ 8.33)	2.44
			M2	23.72 (16.03 ~ 35.10)	11.86
			M3	23.62 (15.94 ~ 35.01)	11.81
CYP2C8	Paclitaxel	Paclitaxel 6-hydroxylation	NETU	50.43 (39.36 ~ 64.60)	25.22
			M1	4.74 (4.09 ~ 5.50)	2.37
			M2	>100 (NA)	NA
			M3	26.95 (21.07 ~ 34.48)	13.48
CYP2C9	Diclofenac	Diclofenac 4'-hydroxylation	M1	26.41 (18.45 ~ 37.80)	13.21
			M2	>100 (NA)	NA
			M3	>100 (NA)	NA
CYP2C19	S-mephenytoin	S-mephenytoin 4'-hydroxylation	M1	33.26 (23.86 ~ 46.38)	16.63
			M2	57.45 (41.08 ~ 80.34)	28.73
			M3	77.03 (53.66 ~ 110.6)	38.52
CYP2D6	Dextromethorphan	Dextromethorphan O-demethylation	M1	8.54 (4.84 ~ 15.08)	4.27
			M2	58.12 (41.10 ~ 82.18)	29.06
			M3	74.97 (51.88 ~ 108.3)	37.49
CYP3A4	Midazolam	Midazolam 1'-hydroxylation	M1	0.51 (0.44 ~ 0.59)	0.25
			M2	38.84 (32.20 ~ 46.85)	19.42
			M3	10.95 (8.80 ~ 13.63)	5.48
CYP3A4	Testosterone	Testosterone 6β-hydroxylation	M1	0.70 (0.64 ~ 0.77)	0.35
			M2	39.04 (25.49 ~ 59.78)	19.52
			M3	9.45 (6.22 ~ 14.36)	4.72

N=3.
CI: Confidence interval; NA: Not applicable

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration; K_i: Inhibition constant
LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（続き）

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.4
Study number: PNET-15-81

Type of study	*In vitro* time-dependent inhibition of CYP
Method	Biological material/Species: Human liver microsomes (0.1 mg protein/mL) Test article: Fosnetupitant (0.3 ~ 1000 µmol/L) Substrate: 28 µmol/L Diclofenac (CYP2C9), 8.4 µmol/L Midazolam (CYP3A) Incubation: ~30 min (1st step), 10 min (2nd Step) (+ NADPH), 37°C Determination: IC_{50} shift, K_I and k_{inact} calculated from concentrations of the metabolites of the substrates (LC/MS/MS)
Results	The CYP3A IC_{50} shift ratio after 30 min was 1.42 and 1.24 for fosnetupitant concentrations up to 300 and 100 µmol/L, respectively. Considering the low IC_{50} shift ratio in the concentration range of 0.3 ~ 300 µmol/L, fosnetupitant cannot be considered a potential CYP3A time-dependent inhibition. The CYP2C9 IC_{50} shift ratio after 30 min was 0.72 for fosnetupitant concentrations up to 300 µmol/L. At the highest fosnetupitant concentration of 1000 µmol/L, there was notably time dependent IC_{50} shifts for CYP3A and CYP2C9. K_I and k_{inact} for CYP3A were 1091 µmol/L and 0.04 min^{-1}, respectively. It was impossible determine K_I and k_{inact} for CYP2C9.

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration; K_I: Inhibitor concentration causing half-maximal inactivation
k_{inact}: Maximal inactivation rate constant
LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

Test Article: Netupitant, M1, M2, M3
Location in CTD: 4.2.2.6.5
Study number: NETU-13-26

Type of study	*In vitro* time-dependent inhibition of CYP
Method	Biological material/Species: Human liver microsomes (0.1 mg protein/mL) Test article: NETU, M1, M2, M3 (0.3 ~ 100 µmol/L) Substrate: 28 µmol/L Diclofenac (CYP2C9), 8.4 µmol/L Midazolam (CYP3A) Incubation: 30 min (1st step), ~30 min (2nd Step) (+ NADPH) Determination: IC_{50} shift calculated from concentrations of the metabolites of the substrates (LC/MS/MS)
Results	The CYP3A IC_{50} shift ratios after 30 min of pre-incubation time were 0.85, 0.91, 1.15 (extrapolated) and 0.86 for NETU, M1, M2 and M3, respectively. The CYP2C9 IC_{50} after 0 min and 30 min of pre-incubation time were >100 µmol/L for NETU, M1, M2 and M3. In the concentration range tested, neither NETU nor its three metabolites (M1, M2 and M3) showed any time-dependent inhibitory effect towards CYP3A4 and CYP2C9.

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration; LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（続き）

Test Article: Netupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.6
Study number: NETU-15-16

Type of study	*In vitro* time-dependent inhibition of CYP
Method	Biological material/Species: Human liver microsomes (0.1 mg protein/mL) Test article: NETU (50 ~ 250 µmol/L) Substrate: 8.4 µmol/L Midazolam (CYP3A) Incubation: ~30 min (1st step), 10 min (2nd Step) (+ NADPH), 37°C Determination: IC_{50} shift calculated from concentrations of the metabolites of the substrates (LC/MS/MS)
Results	The CYP3A IC_{50} shift ratio after 30 min of pre-incubation time was 0.99 for NETU. NETU didn't show any time-dependent effect towards CYP3A.

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration; LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.11
Study number: PNET-20-06

Type of study	*In vitro* inhibition of UGT		
Method	Biological material/Species: Human liver microsomes (0.05 ~ 0.2 mg protein/mL) Test article: Fosnetupitant (0.1 ~ 300 µmol/L) Substrate/Metabolite: 5 µmol/L SN38/ SN38-glucuronide (UGT1A1), 18 µmol/L CDCA/ CDCA-glucuronide (UGT1A3), 6 µmol/L Trifluoperazine/Trifluoperazine-glucuronide (UGT1A4), 50 µmol/L Serotonine/Serotonine-glucuronide (UGT1A6), 60 µmol/L Propofol/ Propofol-glucuronide (UGT1A9), 60 µmol/L Zidovudine/Zidovudine-glucuronide (UGT2B7), 60 µmol/L Oxazepam/S-Oxazepam-glucuronide (UGT2B15) Incubation: 37°C, 15 or 30 min Determination: IC_{50} calculated from concentrations of the metabolites of the substrates (LC/PDA/MS)		
Results		UGT isoform	Reversible (Direct) Inhibition IC_{50} Value (µmol/L)
		UGT1A1	88
		UGT1A3	125
		UGT1A4	>300
		UGT1A6	>300
		UGT1A9	117
		UGT2B7	3.1
		UGT2B15	6.1

SN38: 7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin; CDCA: Chenodeoxycholic acid.
IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration
LC/PDA/MS: Liquid chromatography/photo diode array/mass spectrometry

2.6.5.12　薬物代謝酵素の誘導／阻害（続き）

Test Article: Netupitant, M1, M2, M3
Location in CTD: 4.2.2.6.10
Study number: NETU-14-35

Type of study

In vitro inhibition of UGT

Method

Biological material/Species: Human liver microsomes (0.05 ~ 0.2 mg protein/mL), Expressed UGT enzymes (0.025 ~ 0.5 mg protein/mL)
Test article: NETU, M1, M2, M3 (0 ~ 200 µmol/L)
Substrate: 10 µmol/L 17β-Estradiol (UGT1A1), 10 µmol/L 17β-Estradiol (UGT1A3), 10 µmol/L 1-Naphthol (UGT1A6), 20 µmol/L Propofol (UGT1A9), 400 µmol/L Morphine (UGT2B7), 10 µmol/L Testosterone (UGT2B17)
Incubation: 37°C, 10, 15 or 60 min
Determination: IC_{50} calculated from concentrations of the metabolites of the substrates (LC/MS/MS, Radio-HPLC)

Results

UGT isoform/ metabolite	IC_{50} (µmol/L)							
	NETU		M1		M2		M3	
	UGT	HLM	UGT	HLM	UGT	HLM	UGT	HLM
UGT1A1 17β-Estradiol-3-glucuronide	38.1	118	65.3	198*	33.3	106	15.6	19.8
UGT1A3 17β-Estradiol-3-glucuronide	NA	NA	61.2	NA	53.3	NA	56.6	NA
UGT1A6 1-Naphthol glucuronide	NA	NA	192*	NA	>200	NA	NA	NA
UGT1A9 Propofol glucuronide	>200	NA	129	NA	107	NA	NA	NA
UGT2B7 Morphine-3-glucuronide	0.735	2.65	40.1	194*	49.4	>200	28.0	>200
UGT2B17 Testosterone-17β-O-glucuronide	22.6	>200	29.9	194*	110	>200	74.8	>200

UGT: Expressed UGT enzymes; HLM: Human liver microsomes; NA: Not applicable
*An accurate estimation of IC_{50} can't be determined because inhibition was only observed at the top concentration of test compound.

IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration; LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry
HPLC: High performance liquid chromatography

2.6.5.13　薬物動態試験：排泄

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.5.1
Study number: PNET-13-36

Species/Strain	Wistar rat
Number of animals/Sex	4 males
Feeding conditions	*Ad libitum*
Test article	[^{14}C]-Pro-NETU (Lot No. F0601/9, G0463/5) Radioactivity: 2.76 MBq/mg; Radiochemical purity: ≥90% (Lot No. F0601/9), ≥93% (Lot No. G0463/5)
Vehicle/Formulation	0.3 mol/L NaOH solution (pH 7.5, titrated by HCl) and 5% glucose
Method of administration	Intravenous
Dose	5.9 mg/kg (3.7 MBq/kg)
Sampling period	Urine, Feces: 0 ~ 24, 24 ~ 48, 48 ~ 72, 72 ~ 96, 96 ~ 120, 120 ~ 144, 144 ~ 168 hr
Quantification	LSC
Results	Table 2.6.4.6.1-1

LSC: Liquid scintillation counting

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.2.4
Study number: PNET-13-75

Species/Strain	Beagle dog
Number of animals/Sex	3 males
Feeding conditions	Fasted 16 hr before and 4 hr after dosing, water *ad libitum*
Test article	[^{14}C]-Pro-NETU (Lot No. G0465/5, G0463/5) Radioactivity: 2.76 MBq/mg; Radiochemical purity: ≥93%
Vehicle/Formulation	0.5 mol/L NaOH solution (pH 7.5, titrated by HCl) and 5% glucose
Method of administration	Intravenous
Dose	5.9 mg/kg (0.37 MBq/kg)
Sampling period	Urine, Feces: 0 ~ 24 (Urine: 0 ~ 4, 0 ~ 8, 8 ~ 24), 24 ~ 48, 48 ~ 72, 72 ~ 96, 96 ~ 120, 120 ~ 144, 144 ~ 168, 168 ~ 192, 192 ~ 216, 216 ~ 240, 240 ~ 264, 264 ~ 288, 288 ~ 312, 312 ~ 336 hr
Quantification	LSC
Results	Table 2.6.4.6.4-1

LSC: Liquid scintillation counting

2.6.5.14　薬物動態試験：排泄：胆汁中

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.5.2
Study number: PNET-13-38

Species / Strain	Wistar rat
Feeding conditions	*Ad libitum*
Number of animals / Sex	3 males
Surgical Procedure	Rats were fitted with a flexible plastic cannula implanted in the common bile duct under general anesthesia.
Test article	[^{14}C]-Pro-NETU (Lot No. G0465/5, G0463/5) Radioactivity: 2.76 MBq/mg; Radiochemical purity: ≥93% (Lot No. G0465/5), ≥93% (Lot No. G0463/5)
Vehicle/formulation	0.3 mol/L NaOH solution (pH 7.5, titrated by HCl) and 5% glucose
Method of administration	Intravenous
Dose	5.9 mg/kg (3.7 MBq/kg)
Sampling time or period	Bile: 0 ~ 4, 4 ~ 8, 8 ~ 24, 24 ~ 48, 48 ~ 72 hr; Urine, Feces: 0 ~ 24, 24 ~ 48, 48 ~ 72 hr
Quantification	LSC
Results	Table 2.6.4.6.2-1

LSC: Liquid scintillation counting

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

Test Article: Netupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.7
Study number: NETU-06-15

Type of study	*In vitro* inhibition of vincristine metabolism
Method	Biological material/Species: Human liver microsomes (0.2 mg protein/mL) Test article: NETU (0 - 100 µmol/L) Substrate: 10 µmol/L Vincristine Incubation: 37°C, 15 min (+ NADPH) Determination: IC_{50} calculated from concentrations of the metabolite (M1) of vincristine (LC/PDA/MS)
Results	A concentration- dependent inhibiting effect was observed for NETU on the formation of the major metabolite of Vincristine, M1. The IC_{50} value of NETU could not be calculated since at the highest tested concentration of substrate (100 µmol/L), the percentage of enzyme activity was just above 50%.

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration
LC/PDA/MS: Liquid chromatography/photo diode array/mass spectrometry.

Test Article: Netupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.8
Study number: NETU-09-10

Type of study	*In vitro* inhibition of cyclophosphamide metabolism
Method	Biological material/Species: Human liver microsomes (0.25 mg protein/mL) Test article: NETU (0 - 3000 µmol/L) Substrate: 0.5 mmol/L Cyclophosphamide Incubation: 37°C, 30 min (+ NADPH) Determination: IC_{50} calculated from concentrations of the metabolite (4-hydroxycyclophosphamide) of cyclophosphamide (LC/PDA/MS)
Results	A partial inhibiting effect was observed for NETU on the formation of the major metabolite of cyclophosphamide with an inhibition of approximately 53% at the highest concentration tested. The relative IC_{50} value of NETU was calculated to be 57.3 µmol/L when using cyclophosphamide as a substrate.

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration
LC/PDA/MS: Liquid chromatography/photo diode array/mass spectrometry

Test Article: Netupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.9
Study number: NETU-09-09

Type of study	*In vitro* inhibition of docetaxel metabolism
Method	Biological material/Species: Human liver microsomes (0.25 mg protein/mL) Test article: NETU (0 - 3000 µmol/L) Substrate: 0.5 µmol/L Docetaxel Incubation: 37°C, 15 min (+ NADPH) Determination: IC_{50} calculated from concentrations of the metabolite (hydroxydocetaxel) of docetaxel (LC/PDA/MS)
Results	A concentration-dependent inhibiting effect was observed for NETU on the formation of the major metabolite of docetaxel. The IC_{50} value of NETU was calculated to be 3.7 µmol/L when using docetaxel as a substrate.

NADPH: β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt hydrate
IC_{50}: Half maximal (50%) inhibitory concentration
LC/PDA/MS: Liquid chromatography/photo diode array/mass spectrometry

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.14, 4.2.2.6.15
Study number: PNET-18-21, PNET-15-27

Type of study

In vitro interaction with transporters as substrate

Method

Assay type: Vesicular transport assay
Transporter: Human BSEP, BCRP, P-gp (PNET-18-21)
Test article (substrate): Fosnetupitant (1,10 µmol/L)
Incubation: 2, 20 min
Determination: ATP-dependent accumulation of fosnetupitant measured using LC/MS/MS

Assay type: Uptake transporter assay
Transporter: Human OATP1B1, OATP1B3 (PNET-15-27); Human MATE1, MATE2-K, OAT1, OAT3, OATP2B1, OCT1, OCT2 (PNET-18-21)
Test article (substrate): Fosnetupitant (1,10 µmol/L)
Inhibitor: 50 µmol/L Rifampicin (OATP1B1, OATP1B3), 100 µmol/L Verapamil (OCT1)
Incubation: 2, 20 min
Determination: Accumulation of fosnetupitant (LC/MS/MS)

Results

Transporter	Fosnetupitant fold accumulation					
	Fosnetupitant 1 µmol/L		Fosnetupitant 10 µmol/L		Fosnetupitant* Follow-up assay	
	2 min	20 min	2 min	20 min	− inhibitor	+ inhibitor
PNET-15-27						
OATP1B1	3.65	12.77	3.93	10.53	8.77	0.91
OATP1B3	3.20	8.64	1.90	5.59	8.72	0.83
PNET-18-21						
BSEP	1.21	1.10	1.15	1.02	NA	NA
BCRP	1.19	1.17	1.26	1.18	NA	NA
P-gp	1.18	1.19	1.31	1.20	NA	NA
MATE1	0.47	0.84	1.15	1.18	NA	NA
MATE2-K	0.57	0.91	1.20	1.28	NA	NA
OAT1	0.44	0.89	1.15	1.10	NA	NA
OAT3	0.68	0.86	1.71	1.58	NA	NA
OATP2B1	0.81	0.93	1.21	1.03	NA	NA
OCT1	0.81	1.05	2.17	2.04	1.04	0.65
OCT2	0.56	0.66	1.13	0.90	NA	NA

n=3
* Concentration: 1 µmol/L (PNET-15-27), 10 µmol/L (PNET-18-21)

LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

Test Article: Fosnetupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.14, 4.2.2.6.15
Study number: PNET-18-21, PNET-15-27

<table>
<tr><td>Type of study</td><td>In vitro interaction with transporters as inhibitor</td></tr>
<tr><td>Method</td><td>Assay type: Vesicular transport assay
Transporter: Human BSEP, BCRP, P-gp (PNET-15-27)
Test article (inhibitor): Fosnetupitant (0.03 ~ 20 µmol/L: BSEP; 0.07 ~ 50 µmol/L: BCRP, P-gp)
Substrate: 2 µmol/L Taurocholate (BSEP), 1 µmol/L Estrone-3-sulfate (BCRP), 2 µmol/L N-methyl quinidine (P-gp)
Incubation: 1, 3 or 5 min
Determination: Substrates inside vesicles using LSC

Assay type: Uptake transporter assay
Transporter: Human MATE1, OAT1, OAT3, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2 (PNET-15-27); MATE-2K (PNET-18-21)
Test article (inhibitor): Fosnetupitant (0.41 ~ 300 µmol/L: PNET-15-27; 0.1 ~ 75 µmol/L: PNET-18-21)
Substrate: 10 µmol/L Metformin (MATE1, MATE-2K), 5 µmol/L Tenofovir (OAT1), 1 µmol/L Methotrexate (OAT3), 1 µmol/L Estradiol-17-β-glucuronid (OATP1B1), 0.1 µmol/L Cholecystokinin octapeptide (OATP1B3), 10 µmol/L Metformin (OCT1, OCT2)
Incubation: 3, 10, 15 or 20 min
Determination: Substrate transport (LSC)</td></tr>
<tr><td>Results</td><td>
<table>
<tr><th>Transporter and assay type</th><th>Probe substrate</th><th>IC_{50} (µmol/L)</th><th>Maximum inhibition at the highest tested concentration (% of control)</th></tr>
<tr><td colspan="4">PNET-15-27</td></tr>
<tr><td>BSEP</td><td>Taurocholate</td><td>NA</td><td>No interaction observed up to 20 µmol/L</td></tr>
<tr><td>BCRP</td><td>Estrone-3-sulfate</td><td>NA</td><td>No interaction observed up to 50 µmol/L</td></tr>
<tr><td>P-gp</td><td>N-methyl quinidine</td><td>NA</td><td>47% at 50 µmol/L</td></tr>
<tr><td>MATE1</td><td>Metformin</td><td>29.48</td><td>79% at 300 µmol/L</td></tr>
<tr><td>OAT1</td><td>Tenofovir</td><td>NA</td><td>No interaction observed up to 300 µmol/L</td></tr>
<tr><td>OAT3</td><td>Methotrexate</td><td>NA</td><td>No interaction observed up to 300 µmol/L</td></tr>
<tr><td>OATP1B1</td><td>Estradiol-17-β-glucuronide</td><td>19.01</td><td>91% at 300 µmol/L</td></tr>
<tr><td>OATP1B3</td><td>Cholecystokinin octapeptide</td><td>17.37</td><td>96% at 300 µmol/L</td></tr>
<tr><td>OCT1</td><td>Metformin</td><td>NA</td><td>44% at 300 µmol/L</td></tr>
<tr><td>OCT2</td><td>Metformin</td><td>NA</td><td>No interaction observed up to 300 µmol/L</td></tr>
<tr><td colspan="4">PNET-18-21</td></tr>
<tr><td>MATE-2K</td><td>Metformin</td><td>NA</td><td>No interaction observed up to 75 µmol/L</td></tr>
</table>
NA: Not applicable
</td></tr>
</table>

LSC: Liquid scintillation counting

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

Test Article: Netupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.16
Study number: NETU-14-30

Type of study	*In vitro* interaction with transporter as substrate
Method	Assay type: Bi-directional permeability assay using Caco-2 cells (P-gp) Test article (substrate): NETU (1,10 µmol/L) Inhibitors: 50 µmol/L Verapamil, 12.5 µmol/L Cyclosporin A (P-gp) Incubation: 60 ~ 240 min Determination: Donor to receiver diffusion of NETU (LC/MS/MS)
Results	NETU at 1 and 10 µmol/L showed a low permeability and the efflux ratio lower than 2. The permeability measured in the apical-basolateral experiments (expressed as Papp x 10^{-6} cm/sec) obtained in the incubation of NETU at 1 µmol/L ranged between 0.42 - 1.86, while in the incubation of NETU at 10 µmol/L, ranged between 0.26 ~ 1.74. The presence of P-gp inhibitors in the incubation of NETU at 1 µmol/L did not affect significantly the permeability and the efflux ratio of NETU.

LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

Test Article: Netupitant
Location in CTD: 4.2.2.6.19
Study number: NETU-06-13

Type of study	*In vitro* interaction with transporter as inhibitor
Method	Assay type: Caco-2 (P-gp) monolayer efflux assay Test article (inhibitor): NETU (0.2 ~ 5 µmol/L) Substrate: 10 µmol/L Digoxin (P-gp) Incubation: 120 min Determination: Permeability of digoxin (LSC)
Results	NETU interacts with P-gp as shown by a concentration-dependent modulation of digoxin transport. At 0.2 and 1 µmol/L NETU showed no significant modulation of the P_{app} of digoxin in neither direction. At 5 µmol/L NETU modulated the P_{app} of digoxin in both directions, although the effect was less prominent.

LSC: Liquid scintillation counting; P_{app}: Apparent permeability

Test Article: Netupitant, M1, M2, M3
Location in CTD: 4.2.2.6.17
Study number: NETU-14-34

Type of study	*In vitro* interaction with transporter as substrates
Method	Assay type: Vesicular transport assay Transporter: Human BSEP Test article (substrate): NETU, M1, M2, M3 (1,10 µmol/L) Incubation: 2, 20 min Determination: Accumulation of test articles inside vesicles (LC/MS/MS)
Results	

Test article	Highest fold accumulation in BSEP vesicles	Condition where highest fold was observed	Substrate
NETU	1.20	1 µmol/L / 2 min	No
M1	1.16	1 µmol/L / 2 min	No
M2	1.31	1 µmol/L / 2 min	No
M3	1.13	1 µmol/L / 20 min	No

LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

Test Article: Netupitant, M1, M2, M3
Location in CTD: 4.2.2.6.18
Study number: NETU-12-81

Type of study	*In vitro* interaction with transporters as substrates and inhibitors
Method	Assay type: Vesicular transport assay Transporter: Human BSEP, BCRP, P-gp, MPR2 Test article (inhibitor): NETU, M1, M2, M3 (0.01 ~ 30 µmol/L) Substrate: 2 µmol/L Taurocholate (BSEP), 1 µmol/L Estrone-3-sulfate (BCRP), 2 µmol/L N-methyl quinidine (P-gp), Estradiol-17β-D-glucuronide (MRP2) Incubation: 1, 3, 5 or 8 min Determination: Substrates inside vesicles (LSC) Assay type: Uptake transporter assay Transporter: Human OATP1B1, OATP1B3, OCT1 Test article (substrate): NETU, M1, M2, M3 (1, 10 µmol/L) Incubation: 2, 20 min Determination: Accumulation of NETU, M1, M2, M3 (LC/MS/MS) Assay type: Uptake transporter assay Transporter: Human OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3 Test article (inhibitor): NETU, M1, M2, M3 (0.01 ~ 30 µmol/L) Substrate: 0.1 µmol/L Estrone-3-sulfate (OATP1B1), 10 µmol/L FLuo-3 (OATP1B3), 3.63 µmol/L Metformin (OCT1, OCT2), 1.33 mol/L *p*-Aminohippuric acid (OAT1), 1 µmol/L Estrone-3-sulfate (OAT3) Incubation: 3, 10 or 20 min Determination: Substrate transport (LSC, fluorescence detection) Assay type: MDCKII monolayer assay Transporter: Human BCRP, P-gp Test article (substrate): NETU, M1, M2, M3 (3, 10, 30 µmol/L) Inhibitor: 10 µmol/L PSC833 (P-gp) Incubation: 0 ~ 120 min Determination: Bi-directional transport of NETU, M1, M2 and M3 (LC/MS/MS) Assay type: MDCKII monolayer assay Transporter: Human BCRP, P-gp Test article (inhibitor): NETU (BCRP), M1, M2, M3 (BCRP, P-gp) (10, 30 µmol/L) Substrate: 1 µmol/L Prazosin (BCRP), 5 µmol/L Digoxin (P-gp) Incubation: 60 or 120 min Determination: Bi-directional transport of substrates (LSC)

LSC: Liquid scintillation counting; LC/MS/MS: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

Test Article: Netupitant, M1, M2, M3
Location in CTD: 4.2.2.6.18
Study number: NETU-12-81

Continued

Type of study: *In vitro* interaction with transporters as substrates and inhibitors

Results

Transporter	Applied probe substrate	Compound	IC_{50} or maximal inhibition (%)	Substrate assessment (Net efflux ratio or fold accumulation)
BCRP	VT: Estrone-3-sulfate ML: Prazosin	NETU	6.0 µmol/L in VT 64 % at 30 µmol/L in ML	Not substrate (0.40)
		M1	8.6. µmol/L	Not substrate (1.94)
		M2	22.6 µmol/L	Not substrate (0.04)
		M3	10.6 µmol/L	Not substrate (0.62)
P-gp	VT: N-methyl quinidine ML: Digoxin	M1	4.95 µmol/L in VT 57% at 10 µmol/L in ML	Substrate (0.16 ~ 1.86)
		M2	8.0 µmol/L	Not substrate (5.94 ~ 269.52) (+Inhibitor: 1.29)
		M3	5.35 µmol/L	Not substrate (0.02 ~ 1.27)
BSEP	Taurocholate	NETU	32% at 30 µmol/L	NA
		M1	ND	NA
		M2	31% at 30 µmol/L	NA
		M3	41% at 30 µmol/L	NA
MRP2	Estradiol-17β-D-glucuronide	NETU	ND	NA
		M1	ND	NA
		M2	ND	NA
		M3	ND	NA
OATP1B1	Estrone-3-sulfate	NETU	22% at 30 µmol/L	Not substrate (0.68 ~ 0.84)
		M1	31% at 30 µmol/L	Not substrate (0.72 ~ 0.82)
		M2	≥30.0 µmol/L or 51% at 30 µmol/L	Not substrate (0.28 ~ 0.65)
		M3	22% at 30 µmol/L	Not substrate (0.70 ~ 0.95)
OATP1B3	FLuo-3	NETU	44% at 30 µmol/L	Not substrate (0.69 ~ 0.98)
		M1	26% at 30 µmol/L	Not substrate (0.84 ~ 0.91)
		M2	4.3 µmol/L	Not substrate (0.69 ~ 1.55)
		M3	9.6 µmol/L	Not substrate (0.79 ~ 0.89)
OCT1	Metformin	NETU	8.1 µmol/L	Not substrate (0.70 ~ 0.79)
		M1	40% at 10 µmol/L	Not substrate (0.68 ~ 0.75)
		M2	7.4 µmol/L	Not substrate (0.51 ~ 0.85)
		M3	4.4 µmol/L	Not substrate (0.69 ~ 0.76)
OCT2	Metformin	NETU	22.3 µmol/L	NA
		M1	42% at 30 µmol/L	NA
		M2	29% at 30 µmol/L	NA
		M3	42% at 30 µmol/L	NA
OAT1	*p*-Aminohippuric acid	NETU	33 % at 30 µmol/L	NA
		M1	32% at 30 µmol/L	NA
		M2	ND	NA
		M3	40% at 30 µmol/L	NA
OAT3	Estrone-3-sulfate	NETU	ND	NA
		M1	ND	NA
		M2	ND	NA
		M3	ND	NA

VT: Vesicular transport assay; ML: Monolayer transport assay
ND: Not determined; NA: Not applicable

2.6.5.16　薬物動態試験：その他

該当なし