

TABLE OF CONTENTS

略号一覧表.....	3
2.6.4 薬物動態試験の概要文.....	4
1 まとめ.....	4
2 分析法.....	7
2.1 ラット及びサル血漿中 andexanet 濃度測定のための ELISA 法.....	7
2.2 ラット及びサル血漿中 andexanet 濃度測定のための電気化学発光法.....	7
2.3 ラット及びサルを用いた試験における抗 andexanet 抗体測定法.....	8
2.4 GLP 非適用ラット PK 試験におけるリバーロキサバン濃度測定法.....	9
2.5 GLP 毒性試験におけるサル血漿中リバーロキサバン濃度測定法.....	9
2.6 GLP 毒性試験におけるサル血漿中エノキサパリン濃度測定法.....	9
2.7 GLP 毒性試験におけるサル血漿中アピキサバン濃度測定法.....	10
2.8 GLP 毒性試験におけるサル血漿中 betrixaban 及び PRT062802 (betrixaban 代謝物) 測定法.....	10
3 吸収.....	11
3.1 Sprague-Dawley ラットにおけるリバーロキサバン併用又は非併用下での andexanet の薬物動態.....	11
3.2 腎臓摘出ラットにおける andexanet の薬物動態.....	11
3.3 カニクイザルにおける andexanet の薬物動態.....	12
3.4 アカゲザルにおける andexanet の薬物動態.....	13
4 分布.....	15
5 代謝 (動物種間の比較).....	15
6 排泄.....	15
7 薬物動態学的薬物相互作用.....	15
8 その他の薬物動態試験.....	16
8.1 ラットにおけるリバーロキサバンの薬物動態に及ぼす andexanet の影響.....	16
8.2 カニクイザルにおける andexanet の薬物動態.....	17
9 考察及び結論.....	19

LIST OF TABLES

Table 1:	Andexanet を単回静脈内投与したときの PK パラメータの平均値 (SD)	4
Table 2:	Andexanet と FXa 阻害剤との相互作用試験.....	5
Table 3:	GLP 非適用薬物動態試験の概要	6
Table 4:	腎臓両側摘出ラット、腎臓片側摘出ラット、偽手術施行ラット及び対照ラットに andexanet (3 mg/kg) を静脈内投与したときの PK パラメータの平均値 (%RSD)	12
Table 5:	サルに異なるロット及び異なる条件で andexanet (10 mg/kg) を静脈内投与したときの PK パラメータ (平均値)	13
Table 6:	ラット及びサルに andexanet を経口投与したときの PK データの比較.....	20

LIST OF FIGURES

Figure 1:	Sprague-Dawley ラットに andexanet (1 mg) を静脈内投与したときの andexanet の平均血漿中濃度推移.....	11
Figure 2:	腎臓両側摘出ラット、腎臓片側摘出ラット、偽手術施行ラット及び対照ラットに andexanet (3 mg/kg) を静脈内投与したときの平均血漿中濃度推移	12
Figure 3:	カニクイザルに異なるロット及び条件 (フィルターの有無) の andexanet (10 mg/kg) を静脈内投与したときの平均血漿中濃度の比較.....	13
Figure 4:	アカゲザルに andexanet (10 mg) を静脈内投与したときの平均血漿中濃度推移.....	14
Figure 5:	ラットにリバーロキサバン (1 mg/kg) を経口投与後、andexanet を投与したとき又は投与しなかったときのリバーロキサバンの血漿中総濃度及び非結合型濃度推移.....	17
Figure 6:	ラットにリバーロキサバン (1 mg/kg) を経口投与後、andexanet を投与したとき又は投与しなかったときのリバーロキサバンの尿中未変化体累積排泄率 (投与量に対する割合、平均値±SD)	17
Figure 7:	カニクイザルにリバーロキサバン (60 mg/kg) を投与後、andexanet を投与したときのリバーロキサバンの平均血漿中総濃度及び非結合型濃度	18

2.6.4 薬物動態試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

略号一覧表

略号	英語	日本語
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度曲線下面積
AUC _{0-∞}	area under the plasma concentration-time curve from time zero extrapolated to infinity	投与後 0 時間から無限時間まで外挿した血漿中濃度曲線下面積
BSA	bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
CL	clearance	クリアランス
CLp	plasma clearance	血漿クリアランス
C _{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫吸着測定
FX	factor X	血液凝固第 X 因子
FXa	factor Xa	血液凝固第 Xa 因子
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GMP	Good Manufacturing Practice	医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
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
■	■	—
PBS	phosphate-buffered saline	リン酸緩衝生理食塩水
PK	pharmacokinetics	薬物動態
QC	quality control	品質管理
RLU	relative luminescence units	相対発光量
SD	Sprague-Dawley	—
t _{1/2}	half-life	半減期
T _{max}	time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
V _{ss}	steady state volume of distribution	定常状態分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

1 まとめ

ラット及びサル (アカゲザル及びカニクイザル) を用いた単回投与薬物動態 (PK) 試験において、andexanet alfa (以下、andexanet) の PK を検討した。ラットを用いた 1 試験では、リバーロキサバンの PK に及ぼす andexanet の影響を検討するため、リバーロキサバンを経口投与した後、andexanet を連続反復静脈内投与した。毒性試験の一環として、andexanet のトキシコキネティクス (TK) を検討し、その結果はモジュール 2.6.6 に示した。PK 試験の目的は、andexanet の PK パラメータを明らかにし、直接作用型活性化血液凝固第 Xa 因子 (FXa) 阻害剤の PK に及ぼす andexanet の影響を評価することであった。これらの試験結果から、andexanet の一貫性のある PK が明らかになり、andexanet と直接作用型 FXa 阻害剤との相互作用に関する知見が得られた。

すべての非臨床試験において、andexanet 静脈内投与後の血漿中濃度推移は二相性の消失を示した (Figure 1~Figure 5)。Sprague-Dawley ラット、アカゲザル及びカニクイザルに andexanet を単回投与したときの PK パラメータを Table 1 に示す。血漿クリアランス (CL) は小さく (1.65~2.06 mL/min/kg)、定常状態における見かけの分布容積 (V_{ss}) も小さく (0.147~0.266 L/kg)、両動物種の血液容積及び細胞間液 (間質液) 容積の総和と同程度であった。分布相の消失半減期は約 20~30 分と比較的短かったが、終末相の消失半減期はラットで約 10 時間、アカゲザルで約 2 時間、カニクイザルでは 2.7~12.7 時間と分布相の消失半減期に比べて長かった。長い消失半減期 (12.7 時間) が得られたのは、バリデートされた高感度 (LLOQ が低い) の分析法を用いることで、投与後長時間にわたる濃度測定が可能となり、終末相の消失を精度よく解析できたためと考えられる。すなわち、投与後長時間にわたる濃度測定が可能であったため、消失半減期が長いことを明らかにすることができた。片側及び両側腎臓摘出ラット (NC-12-0443) と正常ラットを比較検討した試験から、ラットでは腎クリアランス (CL_r) が andexanet の主要な消失経路であり、全身 CL の約 50% に相当することが明らかとなった。

Table 1: Andexanet を単回静脈内投与したときの PK パラメータの平均値 (SD)

Species	N	Dose	Terminal $t_{1/2}$ (hr)	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	V_{ss} (mL/kg)	CL (mL/hr/kg)
Sprague Dawley Rat ¹	4	1 mg	10.1 ± 1.3	65.8 ± 5.8	34.3 ± 5.6	266 ± 90	99 ± 17.5
Rhesus Monkey ²	2	10 mg	1.93 ± 1.1	10.7 ± 2.8	8.49 ± 4.0	147 ± 14	123.6 ± 56.8
Cynomolgus Monkey	3 ³	1 mg/kg	3.7 ± 2.1	9.5 ± 0.7	12.2 ± 0.8	164.2 ± 20	82.9 ± 5.3
	3 ⁴	5 mg/kg	2.7 ± 1.1	61 ± 9.3	64 ± 21	123.1 ± 17.6	84.5 ± 31.3
	12 ⁵	10 mg/kg	12.7 ± 7.3	165 ± 19.6	144 ± 29.1	79.6 ± 11.2	72.3 ± 14.1

¹ NC-12-0442-R0001.

² NC-12-0441-R0001.

³ NC-12-0470-R0001.

⁴ NC-12-0470-R0001.

⁵ NC-12-0469-R0001.

Andexanet は、直接作用型 FXa 阻害剤と内在性 FXa の結合と同様に堅固に直接作用型 FXa 阻害剤と結合するように開発された (モジュール 2.6.2 薬理試験の概要文)。静脈内投与後の andexanet は血液中 FXa 阻害剤の大部分と速やかに結合し、FXa 阻害剤の PK に顕著な影響を及ぼす。動物を用いた有効性及び PK 試験の結果から、andexanet を投与すると、血液中の直接作用型 FXa 阻害

2.6.4 薬物動態試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

剤の非結合型 (遊離型) 濃度が減少すると同時に総濃度は顕著に上昇することが示された。これらの変化は、非結合型分子がコンパートメント間で平衡化するために再分布された結果であると考えられた。

Table 2: Andexanet と FXa 阻害剤との相互作用試験

Species	Andexanet Dose (mg/kg)	Rivaroxaban Dose (mg/kg)	Study Number
Rat	0	1	NC-12-0440
	2, 1, 1, 1	1	
Monkey	1	0	NC-12-0470
	1	60	
	5	0	
	5	60	

Andexanet と FXa 阻害剤であるリバーロキサバンとの相互作用を評価するため、ラット又はカニクイザルを用いた 2 試験を実施した (Table 2)。

ラットの試験では、リバーロキサバンの総濃度及び非結合型濃度に及ぼす andexanet の影響を検討した。リバーロキサバンを単回経口投与後、andexanet を連続反復静脈内投与した。その結果、andexanet によりリバーロキサバンの総濃度が上昇するが、非結合型濃度は減少することが示された (Figure 5)。Andexanet 投与によりリバーロキサバンの血漿中濃度は一時的に上昇するものの、リバーロキサバンの腎排泄には影響を与えなかった。

サル (Table 2) の試験では、リバーロキサバンの PK に及ぼす andexanet の影響及び andexanet の PK に及ぼすリバーロキサバンの影響を検討した。本試験では、リバーロキサバン併用及び非併用下で、andexanet を 1 mg/kg 及び 5 mg/kg の 2 用量で投与した。リバーロキサバンは andexanet を 1 mg/kg で投与したときの PK に影響を及ぼし、血漿中 andexanet の最高濃度 (C_{max}) は、単独投与群と比較して 72%有意に高かった ($p < 0.001$)。このように C_{max} に対しては顕著な影響がみられたものの、投与後 0 時間から無限時間まで外挿した濃度時間曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$) に対する影響は認められなかった。しかし、リバーロキサバンを同一用量 (60 mg/kg) で投与後、andexanet を 5 mg/kg で投与したときの andexanet の C_{max} に対する影響はわずかで、統計学的に有意ではなかった ($p = 0.194$)。一方、ラットでの結果と同様に、andexanet は用量依存的にリバーロキサバンの PK に顕著な影響を及ぼし、血中総濃度及び非結合型濃度ともに変化させたが、消失速度には影響がみられなかった。リバーロキサバンの総濃度は andexanet 投与により上昇し、andexanet を 1 mg/kg で投与したとき (約 2 倍) よりも 5 mg/kg で投与したときの方が上昇の割合は顕著に高かった (約 5.5 倍)。これと同時に、非結合型濃度は減少し、andexanet を高用量で投与したときの方がその変動は大きかった (1 mg/kg 投与で 40%減少、5 mg/kg 投与では 93%減少)。

要約すると、andexanet の PK は検討した用量範囲にほぼ比例して増加し、ばらつきは比較的小さかった。試験した両動物種において andexanet の血漿中濃度推移は二相性の消失を示した。 V_{ss} は比較的小さく、血液容積と細胞外空間の総と同程度であった。分布相の消失半減期が極めて短かったものの、終末相の消失半減期は長かった。しかし、分布相における濃度の急激な減少から、分布相において薬物の 99%超が血液コンパートメントから消失したことが示された。

2.6.4 薬物動態試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Andexanet の PK には一貫性があり予測可能であった。Andexanet 投与は、その標的分子である直接作用型 FXa 阻害剤の PK に影響を及ぼした。静脈内投与後の andexanet は、直接作用型 FXa 阻害剤に高親和性で結合することにより、血中非結合濃度を減少させる。これにより直接作用型 FXa 阻害剤が血液外コンパートメントから血液中に再分布する。その結果として、血液中 FXa 阻害剤の非結合型濃度が減少し、総濃度が上昇する。

PK 試験の概要を Table 3 に示す。

Table 3: GLP 非適用薬物動態試験の概要

Type of Study	Test System	Method of Administration (Lot Used)	Bioanalysis Method	Testing Facility	Report Number
Pharmacokinetics					
Single Dose	Rat	IV (Research Lot 4)	ELISA	Portola Pharmaceuticals, Inc.	NC-12-0442-R0001
	Rat	IV (Engineering Lot █████)	ELISA	Portola Pharmaceuticals, Inc.	NC-12-0443-R0001
	Cynomolgus Monkey	IV (Engineering Lot █████, GMP Lot 1: █████, GMP Lot 2: █████)	Electrochemiluminescent █████	█████	NC-12-0469-R0001
	Rhesus Monkey	IV (Research Lot 9)	ELISA	█████ and Portola Pharmaceuticals, Inc.	NC-12-0441-R0001
Other					
PK Interaction with fXa Inhibitor	Rat	IV (Research Lot 6)	ELISA	Portola Pharmaceuticals, Inc.	NC-12-0440-R0001
PK Interaction with fXa Inhibitor	Cynomolgus Monkey	IV Lots █████, █████ and █████	Electrochemiluminescent █████	█████	NC-12-0470-R0001

2 分析法

2.1 ラット及びサル血漿中 andexanet 濃度測定のための ELISA 法

Portola 社で実施した最初の GLP 非適用 PK 試験における andexanet の濃度測定では、バリデーションは実施せず適格性のみ確認した酵素免疫吸着測定 (ELISA) 法を使用した。ヒト血液凝固第 X 因子 (FX)/FXa を認識する捕捉抗体 () 社、カタログ番号: () を用い、andexanet の血漿中濃度を測定した。捕捉抗体を 50 mM 炭酸ナトリウム緩衝液 (pH 9.6) で希釈し (1 : 100)、() 96 ウェルプレートの各ウェルに加えて 4°C で一晩固相化させた。次に、ブロッキング緩衝液 [250 µL/ウェル、1%ウシ血清アルブミン (BSA)・0.1% Tween 20 含有リン酸緩衝生理食塩水 (PBS)] をウェルに加え、室温で 60 分間放置してブロッキング後、洗浄緩衝液 (0.1% Tween 20 含有 PBS) で 5 回洗浄した。調製した標準溶液及び血漿試料 (50 µL) を ELISA プレートに移し、室温で 60 分間インキュベートした。洗浄後、テトラメチルベンジジン (TMB) 基質を各ウェルに加え (100 µL/ウェル)、12 分間反応させた後、1M H₂SO₄ (50 µL/ウェル) を加えて反応を停止させた。() 社の 96 ウェルプレートリーダーにより 450 nm (OD450) で吸光度を測定し、4 パラメータ式 () 社) を用いてデータ解析を行った。本分析法の分析範囲は 3.125~200 ng/mL であった。

2.2 ラット及びサル血漿中 andexanet 濃度測定のための電気化学発光法

ラット血漿 (NC-12-0423-R0001)、サル血漿 (NC-12-0424-R0001)、及び 3.2%から 5.3%に変更したクエン酸を添加したサル血漿 (NC-12-0425-R0001) 中の andexanet 濃度測定のため、() 社 () で電気化学発光法が開発され、GLP に準拠してバリデーションを行った。() 社の () 96 ウェルプレートの各ウェルにブロッキング溶液 () 150 µL を加えてプレートを覆い、プレートシェーカーにおいて室温で約 1 時間インキュベートした。ウェル内のブロッキング溶液 () を吸引除去し、ビオチン標識モノクローナル抗体 rADrpd-M5 (B-M5、andexanet の軽鎖を認識するモノクローナル抗体) を PBS 中に 1.5 µg/mL の濃度で含有する捕捉抗体溶液 25 µL を各ウェルに加えた。プレートを覆い、プレートシェーカーにおいて室温で約 1 時間インキュベートした。プレートを 300 µL/ウェルの 0.05% Tween 20 含有 PBS (PBST) で 3 回洗浄し、標準溶液、QC 試料及び適切に希釈した試料 25 µL を指定のウェルに加えた。プレートを覆い、プレートシェーカーにおいて室温で約 2 時間インキュベートした。インキュベート後、SULFO-TAG 標識モノクローナル抗体 66-4H12-2B7 (Ru-66-4H12-2B7、andexanet の重鎖を認識するモノクローナル抗体) を 1.7%ブロッキング溶液 () で 1 µg/mL に希釈した。プレートを PBST (300 µL/ウェル) で 3 回洗浄し、希釈した検出抗体 25 µL を各ウェルに加えた。プレートを覆い、プレートシェーカーにおいて室温で約 1 時間インキュベートした。検出抗体とともにインキュベートした後、プレートを 300 µL/ウェルの PBST で 3 回洗浄し、各ウェルに 1×リード緩衝液 () を 150 µL 加えた。() () 社) プレートリーダーによりプレートを読み取った。検量線は、log₁₀ 変換データを 5-パラメータロジスティック曲線に当てはめて作成した () 社) 。

ラット及びサル血漿中 andexanet の定量下限は、それぞれ 2 及び 2.4 ng/mL であった。ラット及びサル血漿中 andexanet の定量上限は、それぞれ 900 及び 1,800 ng/mL であった。ラット血漿については希釈の必要性はなかったが、サル血漿については、正確な定量のために少なくとも 2 倍希釈する必要があった。ラット血漿中 andexanet 濃度測定法において、日内及び日間の精度 (CV%)

2.6.4 薬物動態試験の概要文 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

は 1.6%~13.8%であった。日内真度は、2.00~900 ng/mL の QC 試料で許容判定基準を満たし、測定濃度は理論濃度の 95.5%~108%であった。バリデーシヨンの最低濃度である 1.20 ng/mL では、日内真度については許容範囲外であった。日間真度はすべてのバリデーシヨンの試料で許容判定基準を満たし、測定濃度は理論濃度の 90.3%~117%であった。

サル血漿中 andexanet 濃度測定法において、日内及び日間の精度 (CV%) は 2.2%~17.2%であった。日内真度は、1.20~900 ng/mL のバリデーシヨンの試料で許容判定基準を満たし、測定濃度は理論濃度の 95.0%~116%であった。日間真度もすべてのバリデーシヨンの試料で許容判定基準を満たし、測定濃度は理論濃度の 93.4%~105%であった。

2.3 ラット及びサルを用いた試験における抗 andexanet 抗体測定法

ラット (NC-12-0427-R0001) 及びサル (NC-12-0426-R0001) 血漿中の抗 andexanet 抗体を検出するため、[] 社 ([]) で電気化学発光法が開発され、GLP に準拠してバリデーシヨンをを行った。ビオチン標識 andexanet (B-PRT) と Ru-andexanet/sulfo 標識 andexanet (S-PRT) のマスターミックスを希釈液 (試料希釈液で 10 倍に希釈したクエン酸含有ラットプール血漿) で調製し、最終濃度を B-PRT で 0.5 µg/mL、S-PRT で 0.3 µg/mL とした。試料を試料希釈液 (1×0.1% Tween 20 含有 PBS) で 10 倍に希釈し、50 µL をポリプロピレン製プレートのウェル内で 100 µL のマスターミックスと混合した。プレートをシールし、シェーカーにおいて室温で約 1 時間インキュベートした。試料のプレインキュベート中に、[] [] [] 96 ウェルプレートの各ウェルにブロッキング緩衝液 (3% [] 含有 PBST) 150 µL を加えて準備した。プレートを覆い、シェーカーにおいて室温で約 1 時間インキュベートした。[] [] [] プレートからブロッキング緩衝液を除去し、マスターミックスとプレインキュベートした試料 50 µL をポリプロピレン製プレートから [] プレートの 2 組のウェルに加えた。プレートを覆い、シェーカーにおいて室温で約 1 時間インキュベートした。測定用のプレートを約 300 µL/ウェルの洗浄緩衝液 (1×0.05% Tween 20 含有 PBS、PBST) で 3 回洗浄し、150 µL/ウェルの 1×リード緩衝液 T を加えた。得られた相対発光量 (RLU) を、[] [] [] 社) プレートリーダーにより測定した。

カットポイントはラット及びサル血漿でそれぞれ 123.9 及び 174.6 RLU であり、これは必要な測定感度 (100 ng/mL) を十分に下回っていた。ラット血漿中抗体測定法における日内及び日間精度 (CV%) は、それぞれ 6.4%~21.7%及び 4.0%~17.1%であった。また、サル血漿中抗体測定法における日内及び日間の精度 (CV%) は、それぞれ 12.0%~19.5%及び 11.4%~23.1%であった。

代替の陽性対照として、andexanet の軽鎖領域に対する抗体 2 種類と重鎖領域に対する抗体 1 種類の 3 種類のモノクローナル抗体のプールを調製した。軽鎖領域に対する抗体は、[] [] 社 ([]) が調製した。rAD の N 末端軽鎖配列、NH₂-ANSFLFWNKDYKDGQC-OH のペプチドを調製した。このペプチドには、ヒト FXa 軽鎖の Gla ドメインのトランケーション後の andexanet に特異的なエピトープが含まれている。このペプチドをキャリアタンパク質である BSA に結合させ、マウスに免疫化した。免疫化したマウスの脾臓及びリンパ節細胞をマウス骨髄腫細胞と融合させ、ハイブリドーマを作製した。Andexanet タンパク質に結合するクローンは 6 種類認められた。Andexanet に対する解離定数 (K_d) は 2~6 nmol の範囲で、ヒト FX に対する測定可能な結合は認められなかった。この 6 種類のクローン (rADrpd-M1、M2、M5、M6 及び M8) を、抗体産生のために *in vitro* でバイオリアクターを用いてさらに拡大した。2 種類の抗軽鎖抗体 (M5 及び M6) を選択した。

2.6.4 薬物動態試験の概要文 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Andexanet の重鎖領域に対するモノクローナル抗体は、[] 社 ([]) が調製した。化学試薬 (ポリエチレングリコール、ATCC) を媒介として用い、不死化骨髄腫細胞 (SP2/O、ATCC) と完全長の andexanet で免疫化したマウスの脾臓から得た B 細胞を融合させた。複数の陽性細胞株が得られた。Andexanet、ヒト FX 及び FXa において認められるエピトープと交差反応する抗重鎖抗体 (66.4H12.2B7) を選択した。したがって、この代替の陽性対照混合物は、andexanet の成分、並びに FX 及び FXa を認識する。代替の陽性対照は、これらの 3 種類のモノクローナル抗体をそれぞれ 1 µg/mL ずつ滅菌 1×PBS に加え、最終濃度を 1 µg/mL に希釈して調製した。

2.4 GLP 非適用ラット PK 試験におけるリバーロキサバン濃度測定法

血漿中リバーロキサバン濃度は、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法を用いて測定した。血漿試料 100 µL を、96 ウェル [] フィルタープレート (0.2 µm、[] 社、[]) で処理した。その後、試料に内標準物質 CT54456 (200 ng/mL) 含有アセトニトリルを加え、沈殿させた。攪拌混合し、タンパク質を完全に沈殿させるため、4°C で 30 分以上冷蔵した。混合物を濾過して 96 ウェルコレクションプレートに移した。この濾液を、ターボイオンスプレープローブを備えた [] LC-MS/MS 装置に注入した。リバーロキサバン及び CT54456 測定の分析カラムとして、[] C18 カラム (4.6×100 mm、5 µm、[] 社、[]) を用いた。80%移動相 A (0.1% ギ酸水溶液) と 20%移動相 B (0.1% ギ酸 90%アセトニトリル溶液) の混液を用いたグラジエント溶出法 (20%移動相 B から 5.5 分かけて 75%移動相 B に増加するプログラム) で分離した。ポジティブイオンモードで、 m/z 470→342 (CT54456) のピーク面積に対する m/z 436→145 (リバーロキサバン) のピーク面積を測定した。リバーロキサバンの定量範囲は 0.200~500 ng/mL であった。

血漿中非結合型リバーロキサバン濃度測定の場合、[] メンブレン (分画分子量=10,000) を備えた [] フィルター ([] 社、[]) に、血漿試料 100 µL を加え、試料を 14,000 rpm で 10 分間遠心分離した後、得られた濾液 50 µL を上述と同様に分析した。

2.5 GLP 毒性試験におけるサル血漿中リバーロキサバン濃度測定法

サルを用いた毒性試験でサル血漿中リバーロキサバン濃度を測定するための LC-MS/MS 法 ([] 法 P1110.00) が [] 社 ([]) で開発されバリデートされた (NC-15-0626-R0001)。試料 50 µL に内標準物質溶液 30 µL を添加し、液-液抽出法 (SLE) により分析物を分離した。抽出液を窒素気流下で濃縮乾固し、残渣を溶解液 150 µL で溶解した。ポジティブイオンモードのイオンエレクトロスプレーを用いた LC-MS/MS 法により、最終抽出物を分析した。

定量範囲は 1~500 ng/mL であった。日内及び日間の精度 (CV%) は 1.1%~14.2% であった。日内真度は、1.00~375 ng/mL のバリデーション試料で許容判定基準を満たし、測定濃度は理論濃度の 96.1%~118.7% であった。日間真度もすべてのバリデーション試料で許容判定基準を満たし、測定濃度は理論濃度の 95.1%~104.2% であった。

2.6 GLP 毒性試験におけるサル血漿中エノキサパリン濃度測定法

サルを用いた毒性試験でサル血漿中エノキサパリン濃度を測定するための [] ヘパリ

2.6.4 薬物動態試験の概要文 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

ンキット () 社) を用いた発色合成基質法 (法 326.1 及び 326.2) が、 社 () で開発されバリデートされた (NC-15-0627-R0001)。血漿試料を既知量の過剰なアンチトロンビン III (ATIII) 及び FXa とインキュベートした。ヘパリンが存在する場合、ヘパリンは ATIII に結合し、FXa を阻害した。残留する FXa の濃度を、FXa によって切断され、着色化合物を放出する発色基質を加えることにより測定した。この着色化合物を、分光光度計を用いて 405 nm で測定した。残留する FXa の濃度は、血漿試料中のヘパリン濃度と反比例する。分析対象物の濃度は、4 パラメータロジスティック式を用いて算出した。

本法の定量範囲は 0.070~0.800 IU/mL であった。日内及び日間の精度 (CV%) は 1.1%~17.1% であった。日内真度は許容判定基準を満たし、測定濃度は理論濃度の 83.5%~103% であった。日間真度も許容判定基準を満たし、測定濃度は理論濃度の 82.8%~103% であった。

2.7 GLP 毒性試験におけるサル血漿中アピキサバン濃度測定法

クエン酸ナトリウム含有サル血漿中のアピキサバン濃度を測定するため、LC-MS/MS 法が 社で開発され、バリデートされた (NC-15-0655-R0001)。この分析法は、 社の手順書に従い開発され、試験方法 TM12-216.000 及び TM12-216.001 「クエン酸ナトリウム含有サル血漿中アピキサバン (PRT060949) 濃度測定」を使用した。

クエン酸ナトリウム含有サル血漿中アピキサバン濃度を測定するため、アセトニトリル沈殿及び LC-MS/MS を用いた。抽出液の一部を、LC-MS/MS () に注入した。試料抽出液中の夾雑物からアピキサバン及び内標準物質 PRT066224 を分離するため、 社の C18、3 µm HPLC カラム (2.1×50 mm) を用いた。内標準物質のピーク面積に対する化合物 (アピキサバン) のピーク面積を算出した。

アピキサバンの定量範囲は、0.500~250 ng/mL であった (8 濃度、n=2)。日内真度は検量範囲全体で-3.6%~6.6%、精度 (CV%) は 4.1%~6.6% であった。日間真度は、検量範囲全体で 0%~10.5%、精度 (CV%) は 3.9%~15.6% であった (最高値は定量下限であり、次に高い CV は 7.3% であった)。

2.8 GLP 毒性試験におけるサル血漿中 betrixaban 及び PRT062802 (betrixaban 代謝物) 測定法

カニクイザル血漿中 betrixaban (PRT054021) 及び PRT062802 (betrixaban 代謝物) 濃度を、WCTDDS 手順書 ATM-1854 (NC-15-0638-R0001) に従い測定した。本試験で用いた分析法は、血漿 0.0500 mL で、各分析対象物について定量範囲 0.50~200 ng/mL でバリデートされた。

日内真度 (バイアス) は-3.3%~9.2%、精度 (CV%) は 2.6%~8.2% であった。日間真度は 0.4%~5.3%、精度 (CV%) は 3.2%~5.8% であった。不活性代謝物についても同様の真度及び精度が得られた。

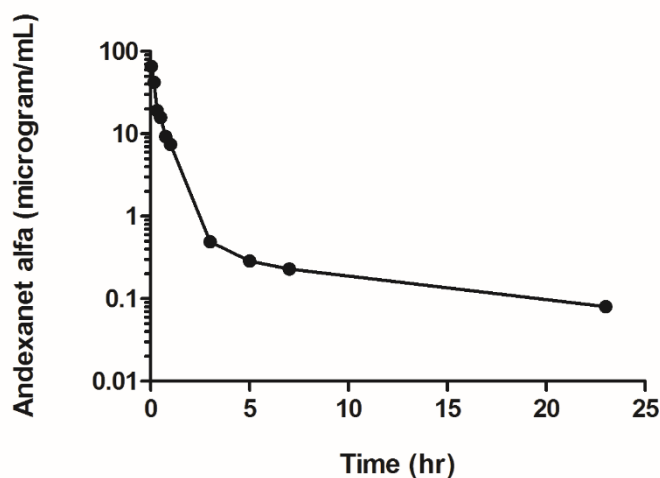
3 吸収

3.1 Sprague-Dawley ラットにおけるリバーロキサバン併用又は非併用下での andexanet の薬物動態

2群(1群4匹)の雄性 Sprague-Dawley ラットにリバーロキサバン併用又は非併用下で andexanet (1 mg、Research Lot #4) を5分間かけて静脈内投与した (NC-12-0442-R0001)。Andexanet は、溶媒又はリバーロキサバン (1 mg/kg) の経口投与から1時間後に投与した。リバーロキサバン非併用群の血漿中 andexanet の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ の平均値は、それぞれ $65.8 \pm 5.8 \mu\text{g/mL}$ 及び $34.3 \pm 5.8 \mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ であった。リバーロキサバン併用群の血漿中 andexanet の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ の平均値は、それぞれ $66.9 \pm 6.1 \mu\text{g/mL}$ 及び $20.7 \pm 2.8 \mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ であった。Andexanet を1 mg で投与したときの andexanet の曝露量 ($AUC_{0-\infty}$) は、リバーロキサバン併用でわずかながら減少することが示されたが、 C_{max} の減少は認められなかった。

Andexanet の血漿中濃度推移は、2-コンパートメントモデルで表すことができる (Figure 1)。Andexanet の全身 CL は小さく (1.65 mL/min/kg)、 V_{ss} も小さく (0.27 L/kg)、血液容積と細胞間液 (間質液) 容積の総和と同程度であった。分布相の消失半減期は19分と短かったが、終末相の消失半減期は10時間と非常に長かった (NC-12-0442-R0001)。

Figure 1: Sprague-Dawley ラットに andexanet (1 mg) を静脈内投与したときの andexanet の平均血漿中濃度推移



3.2 腎臓摘出ラットにおける andexanet の薬物動態

本試験では、4群 (1群4匹) の雄性 Sprague-Dawley ラットを用いた。1群は対照群とし、1群は偽手術を施行し、1群は片側の腎臓を摘出し、残りの1群は両側の腎臓を摘出した。各群に andexanet を 3 mg/kg で2分間かけて静脈内投与した。Andexanet の平均血漿中濃度推移を Figure 2 に示す。PK パラメータの平均値を Table 4 に示す。

片側及び両側の腎臓を摘出したラットの andexanet の全身 CL は、偽手術を施行したラットと比べるとそれぞれ 29.4%及び 50.6%減少した。このことから、ラットにおける腎からの消失が andexanet の主要な消失経路であることが示された (NC-12-0443-R0001)。

Figure 2: 腎臓両側摘出ラット、腎臓片側摘出ラット、偽手術施行ラット及び対照ラットに andexanet (3 mg/kg) を静脈内投与したときの平均血漿中濃度推移

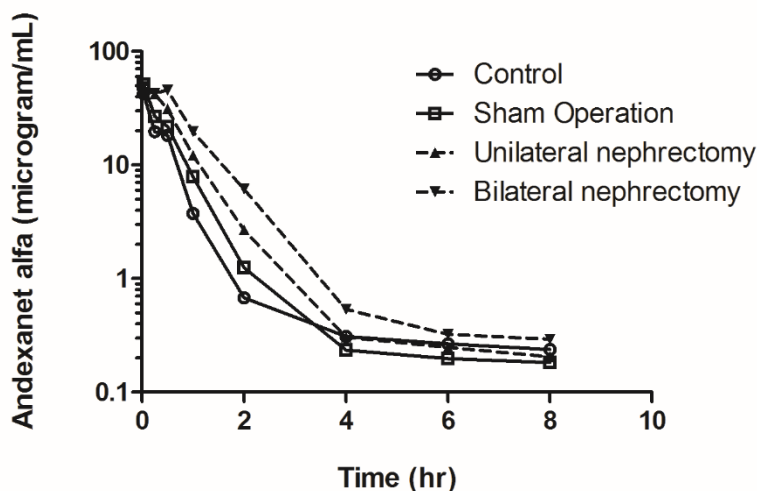


Table 4: 腎臓両側摘出ラット、腎臓片側摘出ラット、偽手術施行ラット及び対照ラットに andexanet (3 mg/kg) を静脈内投与したときの PK パラメータの平均値 (%RSD)

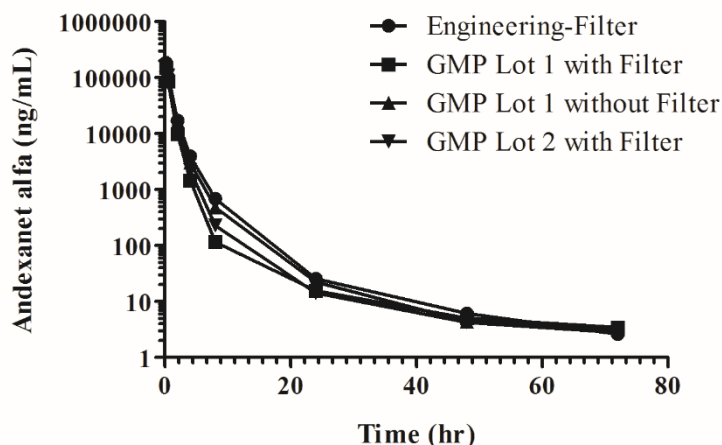
Group	AUC _{0-∞} µg*hr/mL	t _{1/2} hr	Vdss L/kg	CL mL/min/kg	% Decrease in CL (Nephrectomy/Sham)
Bilateral Nephrectomy	60.3 (16.8)	4.68 (23.0)	0.0736 (28.3)	0.844 (14.4)	50.6
Unilateral Nephrectomy	42.5 (18.5)	4.49 (31.0)	0.0836 (16.2)	1.21 (19.4)	29.4
Sham Operation	30.0 (18.8)	4.85 (50.2)	0.142 (37.4)	1.71 (17.7)	--
Control (Naïve)	22.8 (4.25)	4.30 (11.8)	0.222 (18.4)	2.20 (4.31)	--

3.3 カニクイザルにおける andexanet の薬物動態

本試験では、雄性カニクイザル (1群3匹) に異なる3ロットの andexanet をそれぞれ 10 mg/kg で単回静脈内投与し、PK を比較検討した。試験に用いたロットは、エンジニアリングロット () 及び医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準 (GMP) で製造した2種類のロット [GMP ロット 1 () 及び GMP ロット 2 ()] であった (Figure 3 参照)。GMP ロット 1 はインラインフィルターに通して又は通さないで投与し、他の2ロットはインラインフィルターに通して投与した。PK 解析により、異なるロットは同等であり、インラインフィルターの使用は血漿中濃度に影響を及ぼさないことが示された。

血漿中濃度推移は、ロット及び条件によらずほぼ同様であることが示された (Figure 3)。血漿中濃度推移に差がみられたのは投与 8 時間後の測定時点のみであったが、その時点までに andexanet の 99%以上が血液コンパートメントから消失した。ラットと同様に、血漿中濃度推移は二相性を示した (NC-12-0469-R0001)。

Figure 3: カニクイザルに異なるロット及び条件 (フィルターの有無) の andexanet (10 mg/kg) を静脈内投与したときの平均血漿中濃度の比較



また、全4群の曝露量 ($AUC_{0-\infty}$) (Table 5) は同等であった ($p=0.227$ 、一元配置分散分析、SigmaStat バージョン 9.0)。GMP ロット 1 をインラインフィルターに通して投与した群の曝露量が最も小さかったものの、GMP ロット 1 をインラインフィルターに通さないで投与した群の曝露量と比較して、t 検定による統計学的有意差は認められなかった ($p=0.066$ 、SigmaStat バージョン 9.0)。

Table 5: サルに異なるロット及び異なる条件で andexanet (10 mg/kg) を静脈内投与したときの PK パラメータ (平均値)

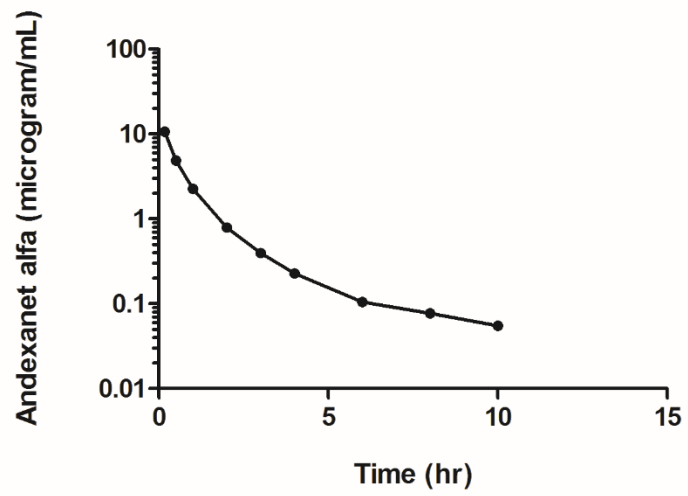
Andexanet Lot	T_{max} hours	C_{max} ng/mL	$AUC_{0-\infty}$ ng*hr/mL	CL mL/min/kg	V_d L/kg	V_{ss} L/kg	$t_{1/2}$ hours
Engineering - Filter	0.167	185,000	174,000	0.987	0.999	0.0724	11.8
GMP Lot 1 - Filter	0.167	149,000	126,000	1.33	2.20	0.0758	18.9
GMP Lot 1 - No Filter	0.167	171,000	174,000	0.981	0.989	0.0607	11.7
GMP Lot 2 - Filter	0.278	154,000	157,000	1.09	1.72	0.0653	17.4

3.4 アカゲザルにおける andexanet の薬物動態

雄性アカゲザル (2 匹) に andexanet を 10 mg (Research Lot 9) で 10 分間かけて静脈内投与した。Andexanet の血漿中濃度推移は、2-コンパートメントモデルで表すことができる (Figure 4)。 C_{max} の平均値は 10,700 ng/mL、 $AUC_{0-\infty}$ の平均値は 8,490 ng*hr/mL であった。Andexanet の全身 CL は小さく (2.06 mL/min/kg)、 V_{ss} も小さく (0.147 L/kg)、サルの血液容積と細胞間液 (間質液) 容積の総和と同程度であった。分布相の消失半減期は 21 分で、終末相の消失半減期は約 2 時間であった (NC-12-0441-R0001)。

2.6.4 薬物動態試験の概要文
アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Figure 4: アカゲザルに andexanet (10 mg) を静脈内投与したときの平均血漿中濃度推移



4 分布

本項は該当しない。

5 代謝 (動物種間の比較)

本項は該当しない。

6 排泄

本項は該当しない。

7 薬物動態学的薬物相互作用

本項は該当しない。

8 その他の薬物動態試験

8.1 ラットにおけるリバーロキサバンの薬物動態に及ぼす andexanet の影響

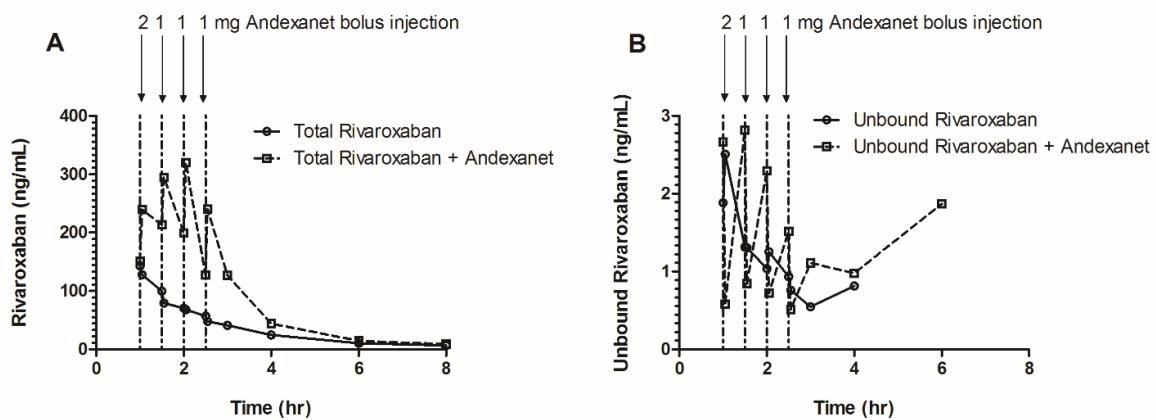
本試験 (NC-12-0440-R0001) は、リバーロキサバンの血漿中総濃度及び非結合型濃度並びに腎排泄に及ぼす andexanet の影響を検討するために実施した。2 群 (1 群 4 匹) の雄性 Sprague-Dawley ラットを用いた。1 群には、リバーロキサバンのみを 1 mg/kg で単回経口投与した。もう一方の群には、リバーロキサバンを 1 mg/kg で単回経口投与後、andexanet を 4 回連続静脈内投与した。すなわち、リバーロキサバンの投与 1 時間後に 2 mg の andexanet を負荷投与し、リバーロキサバンの投与 1.5、2 及び 2.5 時間後にそれぞれ 1 mg の andexanet を 3 回追加投与した。2 群におけるリバーロキサバンの血漿中総濃度及び非結合型濃度推移を Figure 5 に示す。

リバーロキサバンを単独投与したとき、リバーロキサバンの血漿中総濃度は投与 1 時間後に C_{max} 143 ng/mL を示し、 $AUC_{0-\infty}$ は 329 ng•hr/mL であった。投与 1 時間後の平均非結合型濃度は 1.88 ng/mL であった。リバーロキサバン投与後に andexanet を投与したとき、リバーロキサバン投与 1 時間後 (andexanet 投与前) のリバーロキサバンの血漿中総濃度及び非結合型濃度はそれぞれ 151 及び 1.49 ng/mL で、リバーロキサバン単独投与群の値に類似していた。1 回目の andexanet (2 mg) 投与後のリバーロキサバンの平均血漿中非結合型濃度は 0.1 ng/mL に減少したが、血漿中総濃度は 239 ng/mL に上昇し、この濃度は対照群 (リバーロキサバン単独投与群) 及び andexanet 投与前の濃度の約 2 倍であった。リバーロキサバン血漿中総濃度の上昇及び非結合型濃度の減少は、リバーロキサバンに対する andexanet の高親和性結合に起因すると考えられた。すなわち、非結合型の薬物は体内のコンパートメント間で平衡になるように他のコンパートメントから移行すると考えられた。Andexanet 併用によりリバーロキサバンの非結合型濃度は 80%~90%減少した。リバーロキサバンを投与後、andexanet を連続投与したときもリバーロキサバンの血漿中総濃度上昇及び非結合型濃度減少という同様の現象が観察された。Figure 5 に示すように、andexanet の各投与直後に、リバーロキサバンの総濃度に対する andexanet のモル濃度比は 2 以上に増加し、リバーロキサバンの非結合型濃度は 1 ng/mL 未満に減少した。

リバーロキサバンの血漿中総濃度は、andexanet の投与後一時的に上昇したものの、リバーロキサバンの腎排泄は andexanet による影響を受けなかった。Figure 5 に示すように、リバーロキサバン投与 6 時間後のリバーロキサバンの血漿中総濃度は両群で類似しており、その後の消失も同様であった。このことから、andexanet 投与による血漿中リバーロキサバン濃度の変化は、リバーロキサバンの消失に影響しないこと示唆された。また、リバーロキサバンの尿中排泄は andexanet の影響を受けなかった (Figure 6)。リバーロキサバンを単独投与したとき、投与後 24 時間までに尿中に排泄された未変化体の投与量に対する累積排泄率 (%) は 4.52%であった。Figure 6 に示すように、andexanet を併用投与したときには、投与量に対する累積排泄率は 5.31%であった。

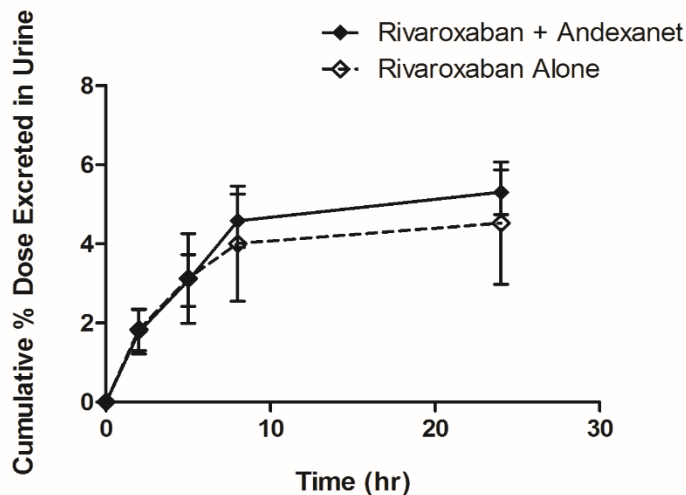
要約すると、andexanet の併用によりリバーロキサバンの非結合型濃度が速やかに減少した。リバーロキサバンの総濃度に対する andexanet のモル濃度比が十分であるとき (2 以上など)、リバーロキサバンの非結合型濃度は 1 ng/mL 未満に減少し、これによりリバーロキサバンの活性は低下すると考えられた。リバーロキサバンの血漿中総濃度及び非結合型濃度は andexanet 併用により変化するものの、リバーロキサバンの消失は andexanet 非併用群と同じであったことから、ラットにおいて andexanet はリバーロキサバンの腎排泄に影響を及ぼさないことが示された。ラットでは、リバーロキサバンの腎排泄は全身 CL の約 5%を占めている。

Figure 5: ラットにリバーロキサバン (1 mg/kg) を経口投与後、andexanet を投与したとき又は投与しなかったときのリバーロキサバンの血漿中総濃度及び非結合型濃度推移



Legend: Starting one hour post oral dose of 1 mg/kg rivaroxaban, one group of rats were administered sequential IV bolus doses of andexanet of 2, 1, 1, and 1 and 1 mg at 1, 1.5, 2, and 2.5 hours post rivaroxaban administration. The total (A) and unbound (B) concentrations of rivaroxaban in the andexanet-treated group were compared to the control group (rivaroxaban only). Andexanet administration resulted in increased total rivaroxaban levels after each dose, while the unbound levels simultaneously declined.

Figure 6: ラットにリバーロキサバン (1 mg/kg) を経口投与後、andexanet を投与したとき又は投与しなかったときのリバーロキサバンの尿中未変化体累積排泄率 (投与量に対する割合、平均値±SD)



Note: The successive IV bolus doses of andexanet were 2, 1, 1, and 1 mg administered at 1, 1.5, 2, and 2.5 hours, respectively.

8.2 カニクイザルにおける andexanet の薬物動態

カニクイザルにおいて、直接作用型 FXa 阻害剤であるリバーロキサバン併用又は非併用下での andexanet の PK を検討した (NC-12-0470-R0001)。リバーロキサバン併用群では、リバーロキサバン (60 mg/kg) を andexanet 投与前日に 12 時間間隔で 2 回経口投与し、さらに andexanet 投与 4 時間前に最後 (3 回目) の経口投与を行った。もう一方の群には、同じ投与時点にリバーロキサ

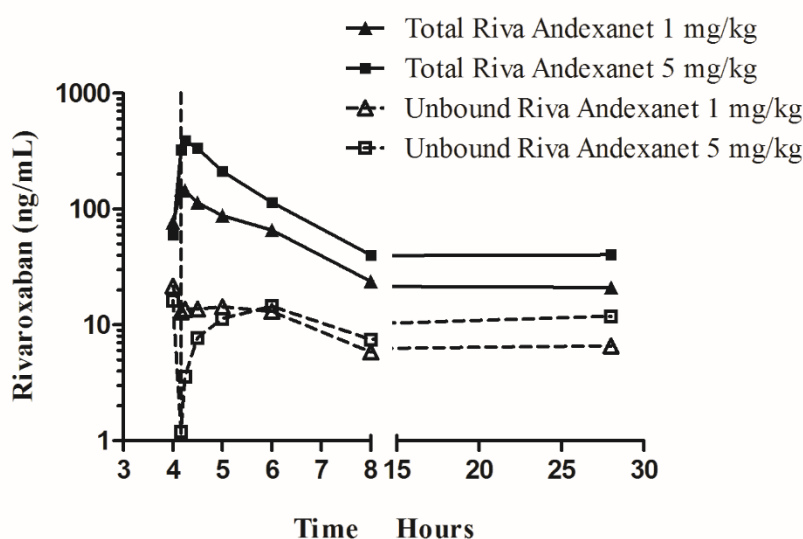
2.6.4 薬物動態試験の概要文 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

バンの溶媒を投与し、andexanet を投与した。

Andexanet は2用量(1 mg/kg 及び 5 mg/kg)で投与した。リバーロキサバン(60 mg/kg)と andexanet (1 mg/kg) 併用投与による andexanet の PK への影響がみられた。すなわち、リバーロキサバン併用下での andexanet の C_{max} は約 72%高く、これは統計学的に有意な変化であった (t 検定、 $p < 0.001$)。一方、リバーロキサバン併用下に andexanet を 5 mg/kg で投与したとき、andexanet の C_{max} は 15%高かったものの、統計学的に有意な変化ではなかった (t 検定、 $p = 0.194$)。リバーロキサバンの AUC については、andexanet の用量が 1 mg/kg と 5 mg/kg のいずれでも、統計学的有意差はなかった。 C_{max} に対する影響は、andexanet の用量が低いほど顕著であった (p 値 : 1 mg/kg 及び 5 mg/kg 投与群の AUC に関してそれぞれ 0.085 及び 0.722)。

Andexanet はリバーロキサバンの PK に対して用量依存的に顕著な影響を及ぼした。リバーロキサバンの血漿中総濃度は andexanet を投与すると上昇し、その割合は 1 mg/kg 投与 (約 2 倍) よりも 5 mg/kg 投与 (約 5.5 倍) の方がはるかに大きかった。一方、非結合型濃度は高用量の andexanet を投与した時の方が大きく減少した (1 mg/kg 投与で 40%減少、5 mg/kg 投与で 93%減少)。リバーロキサバンの血漿中総濃度の上昇及び非結合型濃度の減少を Figure 7 に示す。

Figure 7: カニクイザルにリバーロキサバン (60 mg/kg) を投与後、andexanet を投与したときのリバーロキサバンの平均血漿中総濃度及び非結合型濃度



要約すると、andexanet を低用量で投与した場合、andexanet の PK に及ぼすリバーロキサバンの影響が認められた。Andexanet を 5 倍高い用量で投与した場合には、影響は少なく、統計学的にも有意ではなかった。一方、リバーロキサバンを投与後、andexanet を投与すると、用量依存的にリバーロキサバンの総濃度が上昇し、非結合型濃度が減少した。

9 考察及び結論

ラット及びサル (アカゲザル及びカニクイザル) を用いた単回及び反復投与試験において、andexanet の PK を評価した。1 試験では、ラットにリバーロキサバンを経口投与した後、andexanet を連続静脈内投与した。併用投与試験の目的は、リバーロキサバンの PK に及ぼす andexanet の影響及び andexanet の PK に及ぼすリバーロキサバンの影響を検討することであった。

Andexanet の PK は一貫しており、予測可能である。曝露量は検討した用量範囲内 (1~10 mg/kg) で用量にほぼ比例して増加し、試験した両動物種において、andexanet の血漿中濃度推移は二相性の消失を示した。ラット及びサルを用いた毒性試験の TK 評価においても、PK の一貫した用量比例性が認められた (モジュール 2.6.6)。V_{ss} は比較的小さく、血液容積と細胞外空間の総和と同程度であった。分布相の消失半減期は極めて短かったものの、終末相の消失半減期は動物種や試験によって異なっていた。分布相における急激な濃度の減少から、分布相において薬物の 99%超が血液コンパートメントから消失したことが示された。この速やかな消失は毒性試験でも観察され、andexanet の蓄積が全くなかったことと合致する (モジュール 2.6.6)。

Andexanet を FXa 阻害剤の存在下で投与したときの andexanet の PK は複雑であった。Andexanet を 1 mg/kg で投与したときの PK はリバーロキサバンの影響を受けると考えられ、andexanet の血漿中濃度及び曝露量は、リバーロキサバン非併用下における値よりも高かった。しかし、andexanet を 5 mg/kg で投与したときの PK はリバーロキサバンの影響を受けなかった。これは andexanet の一部が内皮細胞表面上の組織因子経路インヒビター (TFPI) と相互作用することに起因すると考えられた。リバーロキサバン及び他の FXa 阻害剤は、この相互作用を阻害又は減弱させ、TFPI と相互作用した andexanet を循環血漿中に戻すものと推察された。単回投与用量漸増臨床試験 (11-501 試験) の最低用量では予想よりも低い曝露量が認められたが、FXa 阻害剤非併用下において、高用量 (90~600 mg) では線形が認められた。

PK 試験で認められた最大の影響は、FXa 阻害剤の PK に及ぼす andexanet の影響であった。ラット及びサルを用いた 2 試験において、andexanet 併用及び非併用下でリバーロキサバンの総濃度及び非結合型濃度に及ぼす andexanet の影響を検討した。ラットの試験 (NC-12-0440-R0001) では、andexanet を初回の 2 mg/kg の静脈内投与後、1 mg/kg の低用量で反復静脈内投与したところ、リバーロキサバンの総濃度が最大で 2 倍高くなった。リバーロキサバンの総濃度の上昇と同時に、非結合型濃度は 0.1 ng/mL に減少した。サルにリバーロキサバンを投与後、andexanet を 5 mg/kg の用量で投与すると、リバーロキサバンの血漿中総濃度は顕著に上昇し (5.5 倍)、非結合型濃度は 93%減少した。これらの観察された変化は、総濃度が顕著に上昇した一方、andexanet の高親和性結合と呼応して非結合型濃度が減少した臨床試験の結果と一致している。非結合型濃度は FXa 阻害活性と直接的関連性があることから、FXa 阻害剤の活性のサロゲートマーカーとなる。これらの試験結果から、直接作用型 FXa 阻害剤の PK に及ぼす andexanet の用量依存的な影響が明らかとなり、非臨床薬理試験結果 (モジュール 2.6.2) 及び臨床試験結果の両方とも一致していた (Table 6)。モジュール 2.4 非臨床試験の概括評価を参照のこと。

2.6.4 薬物動態試験の概要文
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

Table 6: ラット及びサルに andexanet を経口投与したときの PK データの比較

Systemic (plasma) Exposure				
Species (Formulation)	Dose (mg/kg/day)	C _{max} (ng/mL)	AUC (ng.hr/mL)	References
Rat (PBS)	~3.33	65,800	34,300	NC-12-0442
Rat (PBS)	3	42,600	22,800	NC-12-0443
Monkey	~4	10,700	8,490	NC-12-0441
Monkey	1	9,543	12,158	NC-12-0470
Monkey	5	61,134	64,298	NC-12-0470
Monkey	10	164,750	157,750	NC-12-0469

結論として、非臨床試験の動物種における andexanet の PK は予測可能である。静脈内投与後の andexanet の血漿中濃度推移は二相性の消失を示し、分布相での消失は速やかで、終末相での消失は緩やかであった。ラット及びサルともに、血漿中 andexanet 濃度は用量に依存して増加した (Table 6)。また、ラット及びサルともに、V_{ss} は比較的小さく、血液容積と細胞間液 (間質液) 容積の総和と同程度であった。Andexanet は、その標的分子である FXa 阻害剤の PK に顕著な影響を及ぼすが、標的分子は、治療用量と同程度の曝露量では andexanet の PK にほとんど影響を及ぼさない。これらの結果から、andexanet は静脈内投与可能であり、その曝露量及び消失は予測可能であることが示された。Andexanet が FXa 阻害剤の PK に及ぼす影響は一時的であり、これは andexanet の速やかな消失に起因するものと考えられた。

TABLE OF CONTENTS

2.6.5	薬物動態試験概要表	2
1	薬物動態試験：一覧表	2
2	分析方法及びバリデーション試験	3
3	薬物動態試験：単回投与後の吸収	5
4	薬物動態試験：反復投与後の吸収	9
5	薬物動態試験：分布	9
6	薬物動態試験：タンパク結合	9
7	薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験	9
8	薬物動態試験：その他の分布試験	9
9	薬物動態試験：代謝：In Vivo	9
10	薬物動態試験：代謝：In Vitro	9
11	薬物動態試験：推定代謝経路	9
12	薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害	9
13	薬物動態試験：排泄	9
14	薬物動態試験：排泄：胆汁中	9
15	薬物動態試験：薬物相互作用	9
16	薬物動態試験：その他	10

2.6.5 薬物動態試験概要表
 アンデキサネット アルファ（遺伝子組換え）

2.6.5 薬物動態試験概要表

1 薬物動態試験：一覧表

Overview					
Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	GLP Compliance	Study Number
Absorption					
Pharmacokinetics of PRT064445 in the Sprague-Dawley Rat in the Presence or Absence of Rivaroxaban	Rat, SD	Intravenous	Portola	Non-GLP	NC-12-0442
Pharmacokinetics of PRT064445 in the Nephrectomized Rat Model	Nephrectomized Rat, SD	Intravenous	Portola	Non-GLP	NC-12-0443
Pharmacokinetics of a Single Intravenous Dose of Engineering Lot (), GMP Lot 1, and GMP lot 2 of 10 mg/kg PRT064445 (andexanet alfa) to Cynomolgus Monkeys	Monkey, Cynomolgus	Intravenous		Non-GLP	NC-12-0469
Pharmacokinetics of PRT064445 in the Rhesus Monkey	Monkey, Rhesus	Intravenous		Non-GLP	NC-12-0441
Distribution					
Not Applicable					
Metabolism					
Not Applicable					
Excretion					
Not Applicable					
Pharmacokinetic Drug Interactions					
Not Applicable					
Other					
Effect of PRT064445 (andexanet) on Pharmacokinetics of Rivaroxaban in the Sprague-Dawley Rat	Rat, SD	Intravenous	Portola	Non-GLP	NC-12-0440
Effect of Rivaroxaban on the Pharmacokinetics of Andexanet alfa Administered in Cynomolgus Monkeys	Monkey, Cynomolgus	Intravenous		Non-GLP	NC-12-0470

2.6.5 薬物動態試験概要表
 アンデキサネット アルファ（遺伝子組換え）

2 分析方法及びバリデーション試験

Species/ Sample Matrix	Analytes	Calibration Range	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	GLP Compliance	Study Number
Rat/Plasma	Andexanet	2.0-900 ng/mL	Antibody Capture Quantitation-Electrochemiluminescent	██████████ (██████████) Electrochemiluminescent	CV for intra- and inter-assay precision ranged from 1.6-13.8%; interassay accuracy ranged from 90.3-116.6% of nominal concentrations	GLP	NC-12-0423
Monkey/ Plasma	Andexanet	2.4-1,800 ng/mL	Antibody Capture Quantitation-Electrochemiluminescent	██████████ Electrochemiluminescent	Intra- and inter-assay precision CVs ranged from 2.2-17.2%. Intra-assay accuracy met acceptance criteria for validation samples between 1.20 and 900 ng/mL, with recoveries between 95.0-116.4% of the nominal. Inter-assay accuracy met acceptance criteria with recoveries between 93.4-104.9% of nominal.	GLP	NC-12-0424
Monkey/ Plasma	Andexanet	2.4-1,800 ng/mL	██████████ Electrochemiluminescent	██████████ Electrochemiluminescent	Assay modified for use in sample collection in tubes containing 5.3% citrate.	GLP	NC-12-0425
Rat/Plasma	Anti-Andexanet Antibody	Assay sensitivity using a surrogate positive control was 0.033 ng/mL	██████████ Electrochemiluminescent	██████████ Electrochemiluminescent		GLP	NC-12-0427
Monkey/ Plasma	Anti-Andexanet Antibody	Assay sensitivity using a surrogate positive control was 0.057 ng/mL	██████████ Electrochemiluminescent	██████████ Electrochemiluminescent		GLP	NC-12-0426

2.6.5 薬物動態試験概要表
 アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

2 分析方法及びバリデーション試験 (続き)

Species/ Sample Matrix	Analytes	Calibration Range	Type of Assay	Method Utilized	Noteworthy Findings (Precision and Accuracy Validation)	GLP Compliance	Study Number
Monkey/ Plasma	Apixaban	0.50-250 ng/mL	LC/MS/MS		Intra-batch bias ranged from -3.6-6.6% and CVs ranged from 4.1-6.6%; Inter-batch bias ranged from 0-10.5% with CVs from 3.9-15.6%	GLP	NC-15-0655
Monkey/ Plasma	Rivaroxaban	1-500 ng/mL	LC/MS/MS		Intra- and inter-batch CVs ranged from 1.1-14.2%. Bias values ranged from 96.1-118.7%	GLP	NC-15-0626
Monkey/ Plasma	Betrixaban and PRT062802 (betrixaban metabolite)	0.50-200 ng/mL for both analytes	LC/MS/MS		Intra-batch bias range for both analytes ranged from -3.3-9.2% with CVs that ranged from 2.6-8.2%; inter-batch bias ranged from 0.4-5.3% with CVs ranging from 3.2-5.8%.	GLP	NC-15-0638
Monkey/ Plasma	Enoxaparin	0.070-0.80 IU/mL	Chromogenic assay using ██████████ Heparin Kit		Intra- and inter-batch CVs ranged from 1.1-17.1%. Intra-batch accuracies ranged from 83.5-102.5% while inter-batch bias ranged from 82.8-102.7%	GLP	NC-15-0627

2.6.5 薬物動態試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

Pharmacokinetics of PRT064445 in the Sprague-Dawley Rat in the Presence or Absence of Rivaroxaban			Test Article: Andexanet Study No. NC-12-0442		
Species	Rat	Rat			
Gender (M/F)/Number of animals:	M/2	M/2			
Feeding condition:	Fasted Overnight	Fasted Overnight			
Vehicle/Formulation:	Phosphate-Buffered Saline	Phosphate-Buffered Saline			
Method of Administration:	Intravenous	Intravenous			
Dose (mg/kg):	~3.33	~3.33			
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma			
Analyte:	Andexanet	Andexanet			
Assay:	ELISA	ELISA			
PK parameters:	+Vehicle	+Rivaroxaban			
C _{max} (µg/mL)	65.8	66.9			
AUC ₀₋₂₃ (µg*hr/mL)	33.2	19.8			
AUC _{0-∞} (µg*hr/mL)	34.3	20.7			
V _{ss} (L/kg)	0.266	0.495			
CL (mL/min/kg)	1.65	2.72			
Distribution t _{1/2} (min)	19.1	10.8			
Terminal t _{1/2} (hr)	10.1	10.4			

Additional Information: Two rats were co-administered oral 1 mg/kg rivaroxaban and two were administered vehicle for rivaroxaban.

2.6.5 薬物動態試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 (続き)

Pharmacokinetics of PRT064445 in the Nephrectomized Rat Model			Test Article: Andexanet Study No. NC-12-0443		
Species	Rat	Rat	Rat	Rat	
Gender (M/F)/Number of animals:	M/4	M/4	M/4	M/4	
Feeding condition:	fasted overnight	fasted overnight	fasted overnight	fasted overnight	
Vehicle/Formulation:	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	
Method of Administration:	Intravenous	Intravenous	Intravenous	Intravenous	
Dose (mg/kg):	3	3	3	3	
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	
Analyte:	Andexanet	Andexanet	Andexanet	Andexanet	
Assay:	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA	
PK parameters:	Control	Sham Operation	Unilateral nephrectomy	Bilateral nephrectomy	
AUC _{all} (µg*hr/mL)	21.3	28.8	41.3	58.3	
AUC _{0-∞} (µg*hr/mL)	22.8	30.0	42.5	60.3	
CL (mL/min/kg)	2.20	1.71	1.21	0.844	
t _{1/2} (hr)	4.30	4.85	4.49	4.68	
V _d (L/kg)	0.822	0.729	0.474	0.350	
V _{ss} (L/kg)	0.222	0.142	0.0836	0.0736	

Additional Information: Not applicable.

2.6.5 薬物動態試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 (続き)

Pharmacokinetics of a Single Intravenous Dose of Engineering Lot (), GMP Lot #1 (), and GMP Lot #2 () of 10 mg/kg PRT064445 (Andexanet Alfa) to Cynomolgus Monkeys			Test Article: Andexanet Study No. NC-12-0469		
Species	Monkey	Monkey	Monkey	Monkey	Monkey
Gender (M/F)/Number of animals:	M/3	M/3	M/3	M/3	M/3
Feeding condition:	Fasted Overnight	Fasted Overnight	Fasted Overnight	Fasted Overnight	Fasted Overnight
Vehicle/Formulation:	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88
Method of Administration:	Intravenous	Intravenous	Intravenous	Intravenous	Intravenous
Dose (mg/kg):	0	10	10	10	10
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	Andexanet	Andexanet	Andexanet	Andexanet	Andexanet
Assay:	Electrochemiluminescent	Electrochemiluminescent	Electrochemiluminescent	Electrochemiluminescent	Electrochemiluminescent
PK parameters:	Placebo	Engineering Lot	GMP 1/Filter	GMP1/No Filter	GMP2
T _{max} (hr)	NA	0.167	0.167	0.167	0.278
C _{max} (ng/mL)	NA	18,500	149,000	171,000	154,000
AUC _{0-∞} (ng*hr/mL)	NA	174,000	126,000	174,000	157,000
CL (mL/min/kg)	NA	0.987	1.33	0.981	1.09
V _d (L/kg)	NA	0.999	2.20	0.989	1.721
V _{ss} (L/kg)	NA	0.072	0.076	0.061	0.065
Terminal t _{1/2} (hr)	NA	11.8	18.9	11.7	17.4

Additional Information: Not applicable.

2.6.5 薬物動態試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

3 薬物動態試験：単回投与後の吸収（続き）

Pharmacokinetics of PRT064445 in the Rhesus Monkey			Test Article: Andexanet Study No. NC-12-0441		
Species	Monkey				
Gender (M/F)/Number of animals:	M/2				
Feeding condition:	fasted overnight				
Vehicle/Formulation:	Phosphate-buffered saline				
Method of Administration:	Intravenous				
Dose (mg/kg):	10				
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma				
Analyte:	PRT064445				
Assay:	Electrochemiluminescent				
PK parameters:					
C _{max} (ug/mL)	10.7				
AUC _{0-∞} (hr*ug/mL)	8.49				
CL (mL/min/kg)	2.06				
V _{ss} (L/kg)	0.147				
Distribution t _{1/2} (min)	21.0				
Elimination t _{1/2} (hr)	1.93				

Additional Information: Not applicable.

4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

本項は該当しない。

5 薬物動態試験：分布

本項は該当しない。

6 薬物動態試験：タンパク結合

本項は該当しない。

7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

本項は該当しない。

8 薬物動態試験：その他の分布試験

本項は該当しない。

9 薬物動態試験：代謝：In Vivo

本項は該当しない。

10 薬物動態試験：代謝：In Vitro

本項は該当しない。

11 薬物動態試験：推定代謝経路

本項は該当しない。

12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

本項は該当しない。

13 薬物動態試験：排泄

本項は該当しない。

14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

本項は該当しない。

15 薬物動態試験：薬物相互作用

本項は該当しない。

2.6.5 薬物動態試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

16 薬物動態試験：その他

Effect of PRT064445 (Andexanet) on Pharmacokinetics of Rivaroxaban in the Sprague-Dawley Rat			Test Article: Rivaroxaban Study No. NC-12-0440		
Species	Rat	Rat			
Gender (M/F)/Number of animals:	M/4	M/4			
Feeding condition:	fasted overnight	fasted overnight			
Vehicle/Formulation:	50% polyethylene glycol 300 in water	50% polyethylene glycol 300 in water			
Method of Administration:	Oral	Oral			
Dose (mg/kg):	1	1			
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma			
Analyte:	rivaroxaban*	rivaroxaban			
Assay:	HPLC/MS/MS	HPLC/MS/MS			
PK parameters:					
C _{max} (ng/mL)	334	143			
AUC _{0-∞} (hr*ng/mL)	705	329			
Elimination t _{1/2} (hr)	1.96	2.19			
%Dose Eliminated in Urine (24 hours)	5.31	4.52			

* Group treated with PRT064445 and rivaroxaban.

2.6.5 薬物動態試験概要表

アンデキサネット アルファ (遺伝子組換え)

16 薬物動態試験：その他 (続き)

Effect of Rivaroxaban on the Pharmacokinetics of Andexanet Alfa Administered in Cynomolgus Monkeys			Test Article: Andexanet Study No. NC-12-0470	
Species	Monkey	Monkey	Monkey	Monkey
Gender (M/F)/Number of animals:	M/3	M/3	M/3	M/3
Feeding condition:	Fasted Overnight	Fasted Overnight	Fasted Overnight	Fasted Overnight
Vehicle/Formulation:	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88	10 mM Tris, 95 mM Arginine, 4% (w/v) sucrose, and 0.01% (v/v) Polysorbate 80 in sterile water for Injection, USP pH adjusted 7.88
Method of Administration:	Intravenous	Intravenous	Intravenous	Intravenous
Dose (mg/kg):	1*	1	5*	5
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	Andexanet	Andexanet	Andexanet	Andexanet
Assay:	Electrochemiluminescent	Electrochemiluminescent	Electrochemiluminescent	Electrochemiluminescent
PK parameters:				
T _{max} (hr)	0.167	0.167	0.167	0.167
C _{max} (ng/mL)	16,433	9,567	70,333	61,333
AUC _{0-∞} (ng*hr/mL)	14,767	12,133	59,267	64,300
CL (mL/hr/kg)	69	83	86	84
Vd _{ss} (L/kg)	89	164	90	123
Terminal t _{1/2} (hr)	5.0	3.8	4.2	2.7

* In addition to andexanet dose, oral doses of 60 mg/kg rivaroxaban were administered.