目次

1. まとめ 5
2. 分析法 7
2.1 バレメトスタット標識体の測定 7
2.2 バレメトスタット非標識体の測定 7
3. 吸収 8
3.1 単回投与試験 8
3.1.1 ラットにバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与したときのトキシコキネティクス 8
3.1.2 雄性ラットにバレメトスタットトシル酸塩を単回静脈内投与したときの薬物動態 8
3.1.3 イヌにバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与したときのトキシコキネティクス 8
3.1.4 雄性イヌにバレメトスタットトシル酸塩を単回静脈内投与したときの薬物動態 9
3.1.5 絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与及び単回静脈内投与したときの血液中及び血漿中放射能の薬物動態 9
3.2 反復投与試験 10
4. 分布 11
4.1 アルビノラットを用いた定量的全身オートラジオルミノグラフィー 11
4.2 有色ラットを用いた定量的全身オートラジオルミノグラフィー 12
4.3 In vitro 血漿蛋白結合 12
4.4 In vitro 血球移行率 13
4.5 胎盤移行性 14
5. 代謝 15
5.1 ラット、イヌ、及びヒトの凍結肝細胞における in vitro 代謝物プロファイル 15
5.2 絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したときの血漿、尿、糞、及び胆汁中の代謝物の構造解析 15
6. 排泄 17
6.1 雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与及び単回静脈内投与したときの尿中及び糞中への放射能排泄 17
6.2 胆管カニューレを挿入した雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与後の胆汁中への放射能排泄 17
7. 薬物動態学的薬物相互作用 18
8. その他の薬物動態試験 19
9. 考察及び結論 20

表一覧

表 2.6.4.2-1　バレメトスタットの分析方法のバリデーション 7
表 2.6.4.2-2　CALZ-1809a の分析方法のバリデーション.....7
表 2.6.4.4-1　バレメトスタットの血漿蛋白結合 13
表 2.6.4.4-2　4% HSA 及び 0.1% AAG 中のバレメトスタットの血漿蛋白結合.....13
表 2.6.4.4-3　In vitro 血球移行率及び［^{14}C］バレメトスタットのマウス、ラット、イヌ、及びヒト血液中の血液/血漿比 14
表 2.6.4.5-1　投与 24 時間後までのイヌの尿、糞、及び胆汁中におけるバレメトスタット及び代謝物の組成.....16

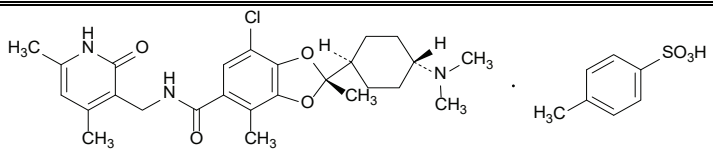
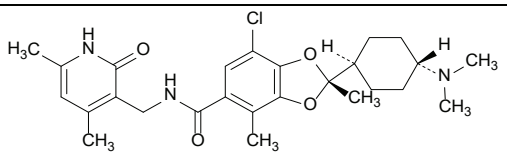
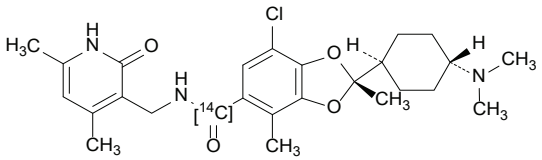
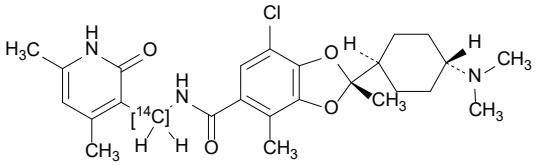
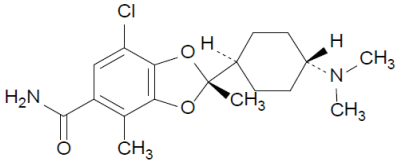
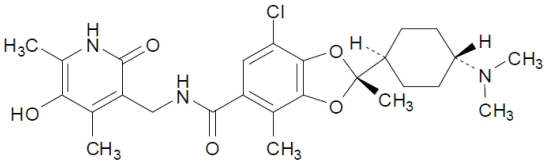
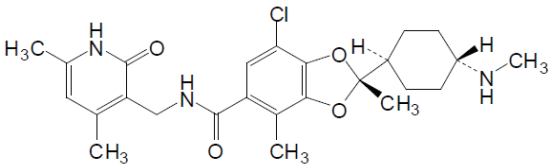
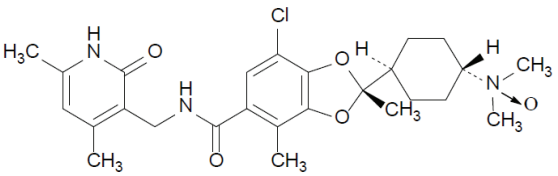
図一覧

図 2.6.4.3-1　絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを 3 mg/kg で単回経口（A）及び静脈内（B）投与したときの血液中及び血漿中放射能濃度 10
図 2.6.4.4-1　絶食下の雄性アルビノラットに 3 mg/kg の［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したときの全身オートラジオグラム.....11
図 2.6.4.4-2　絶食下の雄性有色ラットに 3 mg/kg の［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したときの全身オートラジオグラム 12
図 2.6.4.6-1　絶食下の雄性イヌに 3 mg/kg の［^{14}C］バレメトスタットを単回経口（A）及び静脈内（B）投与 168 時間後までの尿中及び糞中への放射能の累積排泄.....17

略語一覧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
AAG	alpha1-acid glycoprotein	α1-酸性糖蛋白
AUCinf	area under the plasma concentration-time curve up to infinity	無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUClast	area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time	定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCt	area under the plasma concentration-time curve up to time t	投与後 t までの血漿中濃度－時間曲線下面積
CL	total body clearance	全身クリアランス
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
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
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
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
QWBA	quantitative whole-body autoradioluminography	定量的全身オートラジオルミノグラフィー
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
ラジオ HPLC	radio-high performance liquid chromatography	ラジオ高速液体クロマトグラフィー
t1/2	terminal elimination half-life	終末相の消失半減期
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
Tmax	time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
Vss	volume of distribution at steady state	定常状態下の分布容積

化合物一覧

化合物名	定義	構造式
バレメトスタットトシル酸塩（DS-3201b）	原薬	
バレメトスタット（DS-3201a）	原薬のフリー体	
^{14}C 標識バレメトスタット	バレメトスタットの ^{14}C 標識体	 又は 
CALZ-1808a	バレメトスタットの酸化代謝物	
CALZ-1809a	バレメトスタットの酸化代謝物	
CALZ-1810a	バレメトスタットの *N*-脱メチル代謝物	
CALZ-1811a	バレメトスタットの酸化代謝物	

1. まとめ

非臨床試験では、バレメトスタットトシル酸塩及び［^{14}C］標識バレメトスタット（［^{14}C］バレメトスタット）の用量は、フリー体であるバレメトスタットの用量として表示する。

ラットにバレメトスタットトシル酸塩（20～200 mg/kg）を単回経口投与したとき、バレメトスタットの全身曝露量は雌雄ともに用量比を上回って増加した。最高血漿中濃度到達時間（time to reach maximum plasma concentration: Tmax）は 2.0～8.0 時間の範囲であった。

イヌにバレメトスタットトシル酸塩（15～60 mg/kg）を単回経口投与したとき、雌雄のイヌにおいてバレメトスタットの全身曝露量は用量の増加に応じて増加した。Tmax は 0.5～1.0 時間の範囲であった。終末相の消失半減期（terminal elimination half-life: t1/2）は約 3 時間であった。

雄性ラット及び雄性イヌにそれぞれ 20 及び 15 mg/kg でバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与したときのバイオアベイラビリティは、雄性ラット及び雄性イヌにバレメトスタットトシル酸塩を 1 mg/kg で単回静脈内投与したときの全身曝露量から算出すると、それぞれ約 5.2%及び約 71.4%であった。

絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを 3 mg/kg の用量で単回経口投与又は単回静脈内投与したときの血漿中放射能の無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to infinity: AUCinf）は、それぞれ 1760 及び 3010 ng eq·h/mL であった。血液中放射能の濃度－時間プロファイルは血漿中放射能とほぼ平行に推移した。

アルビノラット及び有色ラットを用いて、［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したときの組織分布を、定量的全身オートラジオルミノグラフィー（quantitative whole-body autoradioluminography: QWBA）によって評価した。アルビノラットでは、ほぼすべての組織中の放射能濃度が投与 4 又は 7 時間後に最高値に到達した。投与 168 時間後に放射能が検出可能であった組織は、大腸内容物、顎下腺、及び精巣のみであった。有色ラットでの放射能の分布プロファイルは、眼球及びぶどう膜を除き、アルビノラットと同様であった。眼球及びぶどう膜では、放射能が投与 168 時間後まで検出され、メラニン親和性が示唆された。

バレメトスタット（0.6～10 μg/mL）の血漿蛋白結合率は、マウスで 72.8%～82.6%、ラットで 58.1%～59.7%、イヌで 58.7%～74.4%、及びヒトの血漿で 78.0%～96.6%であった。バレメトスタット（0.6～10 μg/mL）は、α1‐酸性糖蛋白（alpha1-acid glycoprotein: AAG）に 56.0%～92.3%、ヒト血清アルブミン（human serum albumin: HSA）に 35.0%～38.7%で結合することから、主に AAG に結合することが示唆された。［^{14}C］バレメトスタットの血球移行率（0.3～5 μg/mL）は、マウスで 36.4%～41.1%、ラットで 50.4%～50.7%、イヌで 33.6%～40.5%、及びヒトで 12.3%～30.8%であった。

［^{14}C］バレメトスタット（10 μmol/L）を雄性ラット、雄性イヌ、及び男女混合ヒトの凍結肝細胞と 240 分間インキュベートし、バレメトスタットの代謝物プロファイルを定性的に検討した。ラット及びイヌ凍結肝細胞中で検出された主な代謝物は酸化体及び *N*-脱メチル

化体であった。また、［^{14}C］バレメトスタットはヒト凍結肝細胞中ではほとんど代謝されなかったものの、主な代謝反応は酸化であった。

［^{14}C］バレメトスタットをイヌに 3 mg/kg の用量で単回経口投与後に得られた血漿、尿、糞、及び胆汁中の代謝物を分析した。血漿、尿、糞、及び胆汁中の主要成分はバレメトスタットであった。血漿、尿、糞、及び胆汁中で認められた主な代謝物は酸化体及び *N*-脱メチル化体であった。

イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したとき、投与 168 時間後までに投与量の 6.0%が尿中に、91.0%が糞中に排泄された。［^{14}C］バレメトスタットを単回静脈内投与したとき、投与 168 時間後までに投与量の 10.0%が尿中に、89.9%が糞中に排泄された。胆管カニューレを挿入したイヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したとき、投与 24 時間後までに投与量の 45.8%が胆汁中に排泄された。

2. 分析法

2.1 バレメトスタット標識体の測定

血漿及び排泄物（尿、糞、及び胆汁）中放射活性は液体シンチレーションカウンター（liquid scintillation counting: LSC）により、分布試験での放射能濃度は定性的及び定量的全身オートラジオルミノグラフィーにより測定した。[^{14}C]バレメトスタット投与後の代謝物の分析は、ラジオ高速液体クロマトグラフィー（radio-high performance liquid chromatography: ラジオ HPLC）により実施した。構造解析は液体クロマトグラフィー/質量分析（liquid chromatography/mass spectrometry: LC/MS）及び液体クロマトグラフィータンデム質量分析（liquid chromatography-tandem mass spectrometry: LC-MS/MS）により実施した。

2.2 バレメトスタット非標識体の測定

薬物動態及びトキシコキネティクス（toxicokinetics: TK）試験では、バリデートされた LC-MS/MS 法によりラット、マウス、及びイヌの血漿中バレメトスタット濃度を測定した。さらに、マウス、ラット、イヌ、ヒト血漿やヒト血漿由来の 4% HSA 及び 0.1% AAG でのバレメトスタットの in vitro 血漿蛋白結合率も測定した。表 2.6.4.2-1 に、これらのバリデートされた分析法の概要を示す。ラット及びイヌの血漿中では、−20°C で 34 日間安定であった。また、表 2.6.4.2-2 に代謝物 CALZ-1809a のヒト血漿やヒト血漿由来の 4% HSA 及び 0.1% AAG でのタンパク結合率を測定するためのバリデートされた分析法の概要を示す。

表 2.6.4.2-1　バレメトスタットの分析方法のバリデーション

Assay Method	Matrix	Calibration Curve Range	LLOQ	Attachment No.
LC-MS/MS	Rat plasma	10 ng/mL to 10,000 ng/mL	10 ng/mL	4.2.2.1-1
LC-MS/MS	Dog plasma	10 ng/mL to 10,000 ng/mL	10 ng/mL	4.2.2.1-2
LC-MS/MS	Rat plasma	1 ng/mL to 1000 ng/mL	1 ng/mL	4.2.2.1-3
LC-MS/MS	Dog plasma	1 ng/mL to 2000 ng/mL	1 ng/mL	4.2.2.1-4
LC-MS/MS	Mouse, rat, dog, human plasma, 4% HSA and 0.1% AAG	200 ng/mL to 20,000 ng/mL	200 ng/mL	4.2.2.1-5
LC-MS/MS	Mouse, rat, dog, human plasma, 4% HSA and 0.1% AAG supernatant	1 ng/mL to 10,000 ng/mL	1 ng/mL	4.2.2.1-5

AAG: α1‐酸性糖蛋白、HSA: ヒト血清アルブミン、LC-MS/MS: 液体クロマトグラフィータンデム質量分析、LLOQ: 定量下限

表 2.6.4.2-2　CALZ-1809a の分析方法のバリデーション

Assay Method	Matrix	Calibration Curve Range	LLOQ	Attachment No.
LC-MS/MS	Human plasma, 4% HSA and 0.1% AAG	2.7 ng/mL to 2700 ng/mL	2.7 ng/mL	4.2.2.1-6
LC-MS/MS	Human plasma, 4% HSA and 0.1% AAG supernatant	0.3 ng/mL to 300 ng/mL	0.3 ng/mL	4.2.2.1-6

AAG: α1‐酸性糖蛋白、HSA: ヒト血清アルブミン、LC-MS/MS: 液体クロマトグラフィータンデム質量分析、LLOQ: 定量下限

3. 吸収

3.1 単回投与試験

3.1.1 ラットにバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与したときのトキシコキネティクス

資料番号 4.2.3.1-1

【方法】バレメトスタットの TK は、20、60、及び 200 mg/kg の用量でバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与した Crl:CD(SD)ラットを用いた拡張単回投与毒性試験（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準［Good Laboratory Practice: GLP］試験）で評価した（2.6.6、2.1.1 項参照）。TK サテライト動物（各群雌雄各 3 例）から、投与 24 時間後まで血漿サンプルを採取した。

【結果】TK パラメータを表 2.6.6.2-1 に示す。雌雄のラットにおいて、バレメトスタットの単回経口投与後の最高血漿中濃度（maximum plasma concentration: Cmax）及び定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time: AUClast）は用量比を上回って増加した。Tmax は評価したすべての用量で 2.0～8.0 時間の範囲であった。バレメトスタットの全身曝露量では、顕著な性差は認められなかった。

3.1.2 雄性ラットにバレメトスタットトシル酸塩を単回静脈内投与したときの薬物動態

資料番号 4.2.2.2-1

【方法】雄性 Crl:CD(SD)ラット（4 例）にバレメトスタットトシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与後のバレメトスタットの薬物動態（pharmacokinetics: PK）を検討した。バレメトスタットの血漿中濃度を投与前から投与 24 時間後まで測定した。

【結果】バレメトスタットトシル酸塩の単回静脈内投与後の、t1/2 は 2.67 時間であった。24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to 24hr: AUC24h）は 242 ng・h/mL、であった。全身クリアランス（total body clearance: CL）は 76.9 mL/min/kg、定常状態下の分布容積（volume of distribution at steady state: Vss）は 14.1 L/kg であった。

3.1.3 イヌにバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与したときのトキシコキネティクス

資料番号 4.2.3.1-2

【方法】バレメトスタットトシル酸塩を 15、30、及び 60 mg の用量で単回経口投与したビーグルイヌを用いた拡張単回投与毒性試験（GLP 試験）（2.6.6、2.2.1 項）で、バレメトスタットの TK を評価した。各群雌雄各 5 例の動物から、投与 24 時間後まで血漿サンプルを採取した。

【結果】TK パラメータを表 2.6.6.2-2 に示す。雌雄のイヌにおいて、バレメトスタットの

単回経口投与後の Cmax 及び AUClast は用量の増加に応じて増加した。Tmax は 0.5 及び 1.0 時間、t1/2 は約 3 時間であった。バレメトスタットの全身曝露量では、顕著な性差はみられなかった。

3.1.4　雄性イヌにバレメトスタットトシル酸塩を単回静脈内投与したときの薬物動態

資料番号 4.2.2.2-2

【方法】雄性ビーグルイヌ（3 例）にバレメトスタットトシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与後のバレメトスタットの PK を検討した。バレメトスタットの血漿中濃度を投与前から投与 24 時間後まで測定した。

【結果】バレメトスタットトシル酸塩の単回静脈内投与後の、t1/2 は 3.59 時間であった。AUC24h は 952 ng・h/mL であった。CL は 18.4 mL/min/kg、Vss は 2.91 L/kg であった。

3.1.5　絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与及び単回静脈内投与したときの血液中及び血漿中放射能の薬物動態

資料番号 4.2.2.5-1、4.2.2.5-2

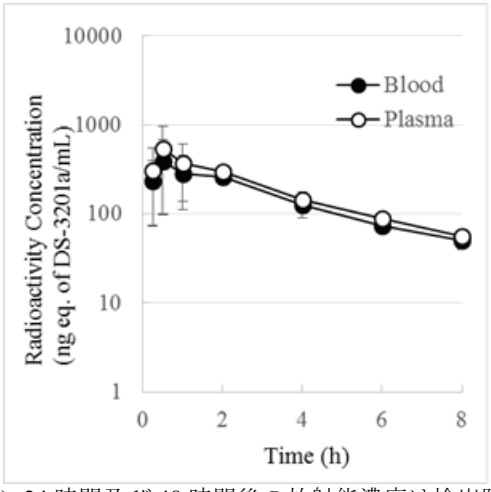
【方法】絶食下の雄性ビーグルイヌ（3 例）に［^{14}C］バレメトスタットを 3 mg/kg の用量で単回経口投与及び単回静脈内投与したときの、血液中及び血漿中放射能の PK を調べた。投与前及び投与 48 時間後まで、血液中及び血漿中放射能濃度を測定した。

【結果】［^{14}C］バレメトスタットを経口投与したとき、血漿中放射能は投与 1.0 時間後に Cmax（607 ng eq/mL）に達し、t1/2 は 2.9 時間であった。AUClast は 1530 ng eq·h/mL、AUCinf は 1760 ng eq·h/mL であった（図 2.6.4.3-1 A）。血液中放射能の Cmax は 444 ng eq/mL、AUClast は 1250 ng eq· h/mL、AUCinf は 1580 ng eq· h/mL であった。

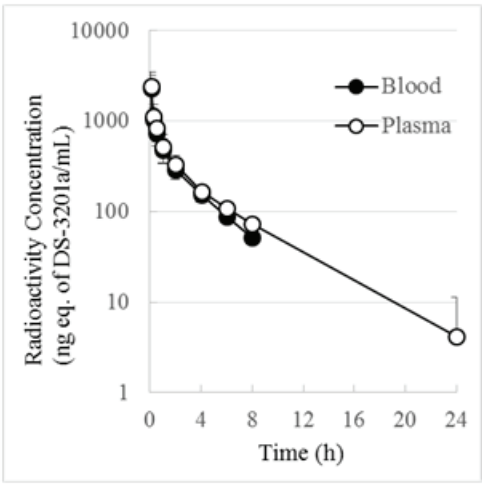
［^{14}C］バレメトスタットを静脈内投与したとき、血漿中放射能の t1/2 は 4.1 時間であり、AUCinf は 3010 ng eq·h/mL であった。血液中放射能の AUCinf は 2450 ng eq·h/mL であった。（図 2.6.4.3-1 B）。

図 2.6.4.3-1　絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを 3 mg/kg で単回経口（A）及び静脈内（B）投与したときの血液中及び血漿中放射能濃度

(A)



(B)



(A)　24 時間及び 48 時間後の放射能濃度は検出限界未満であった。
(B)　血漿サンプルでは 48 時間後、血液サンプルでは 24 時間及び 48 時間後の放射能濃度は検出限界未満であった。
データは平均値 ± 標準偏差（n = 3）で示す。
DS-3201a = バレメトスタット

3.2　反復投与試験

2.6.6.3 に記載した。

4. 分布

4.1 アルビノラットを用いた定量的全身オートラジオルミノグラフィー

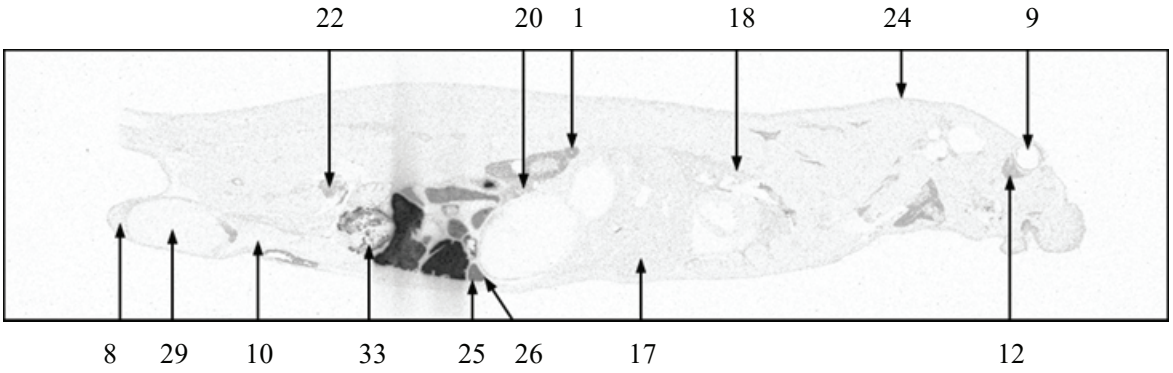
資料番号 4.2.2.3-1

【方法】絶食下の雄性アルビノラット（Crl:CD(SD)、1 例／評価時点［投与 1、4、7、24、72、及び 168 時間後］）に［^{14}C］バレメトスタットを 3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の組織分布を、QWBA によって評価した。

【結果】投与 7 及び 72 時間後の全身オートラジオルミノグラムを図 2.6.4.4-1 に示す。また、組織中放射能濃度を 2.6.5、5.1 項に示す。放射能濃度は、大半の組織で投与 4 又は 7 時間後に最高値に達した。［^{14}C］バレメトスタットは脳を除く組織に分布し、放射能濃度は大半の組織中で血液中より高かった。投与 72 時間後には、大腸内容物、顎下腺、及び精巣を除く組織で放射能が消失しており、大半の組織で放射能濃度を測定できなかった。

図 2.6.4.4-1 絶食下の雄性アルビノラットに 3 mg/kg の［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したときの全身オートラジオグラム

投与 7 時間後（左軸面）



投与 72 時間後（中心軸面）



1.	副腎	12.	ハーダー腺	23.	骨格筋
2.	血液	13.	心臓	24.	皮膚

3.	骨	14.	腎臓	25.	小腸内容物
4.	骨髄	15.	大腸内容物	26.	小腸
5.	褐色脂肪	16.	大腸	27.	脾臓
6.	小脳	17.	肝臓	28.	胃
7.	大脳	18.	肺	29.	精巣
8.	精巣上体	19.	顎下腺	30.	胸腺
9.	眼球	20.	膵臓	31.	甲状腺
10.	脂肪	21.	脳下垂体	32.	膀胱
11.	胃内容物	22.	前立腺	33.	膀胱尿

4.2　有色ラットを用いた定量的全身オートラジオルミノグラフィー

資料番号 4.2.2.3-2

【方法】絶食下の雄性有色ラット（Long-Evans、1 例／評価時点［投与 1、4、24、72、及び 168 時間後］）に［^{14}C］バレメトスタットを 3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの放射能の組織分布を、QWBA によって評価した。

【結果】投与 168 時間後の全身オートラジオルミノグラムを図 2.6.4.4-2 に示す。また、組織中放射能濃度を 2.6.5、5.2 項に示す。放射能濃度は、眼球及びぶどう膜を除くすべての組織で投与 4 時間後に最高値に達した。眼球及びぶどう膜では、放射能が投与 168 時間後まで検出され、メラニン親和性の可能性が示唆された。

図 2.6.4.4-2　絶食下の雄性有色ラットに 3 mg/kg の［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したときの全身オートラジオグラム

投与 168 時間後（左軸面）　　眼球（ぶどう膜を除く）



ぶどう膜



4.3　In vitro 血漿蛋白結合

資料番号 4.2.2.3-3

【方法】マウス、ラット、イヌ、及びヒトでのバレメトスタットの in vitro 血漿蛋白結合率を、0.6、3、及び 10 µg/mL の濃度で超遠心法を用いて測定した。さらに、ヒト血漿由来の 4% HSA 及び 0.1% AAG でのバレメトスタットの蛋白結合率を、0.6、1、3、5、及び 10 µg/mL の濃度で同じ方法を用いて測定した。

【結果】バレメトスタットの 0.6、3、及び 10 µg/mL における平均血漿蛋白結合率を表 2.6.4.4-1 に示す。マウス、イヌ、及びヒトの血漿で濃度が高くなるに従い、血漿蛋白結合率が低下する傾向がみられたが、ラットの血漿では濃度依存性は認められなかった。

4% HSA 及び 0.1% AAG 中のバレメトスタット 0.6、1、3、5、及び 10 µg/mL の血漿蛋白結合率を表 2.6.4.4-2 に示す。バレメトスタットの AAG 結合率は HSA 結合率と比較して高かった。AAG 中ではバレメトスタットの濃度が高くなるに従い、結合率が低下する傾向がみられた。

表 2.6.4.4-1　バレメトスタットの血漿蛋白結合

Valemetostat concentration	Mouse	Rat	Dog	Human
0.6 µg/mL	82.6%	59.7%	74.4%	96.6%
3 µg/mL	78.2%	58.1%	67.2%	94.2%
10 µg/mL	72.8%	58.5%	58.7%	78.0%

データは平均値（n = 3）で示す。

表 2.6.4.4-2　4% HSA 及び 0.1% AAG 中のバレメトスタットの血漿蛋白結合

Valemetostat concentration	4% HSA	0.1% AAG
0.6 µg/mL	37.9%	92.3%
1 µg/mL	38.7%	91.2%
3 µg/mL	35.0%	84.8%
5 µg/mL	36.0%	76.7%
10 µg/mL	36.4%	56.0%

データは平均値（n = 3）で示す。
AAG: α1-酸性糖蛋白、HSA: ヒト血清アルブミン.

4.4　In vitro 血球移行率

資料番号 4.2.2.3-4

【方法】マウス、ラット、イヌ、及びヒト血液中の血液細胞に対する分布を［^{14}C］バレメトスタットを用いて in vitro で 0.3、1.5、及び 5 µg/mL の用量で評価した。

【結果】［^{14}C］バレメトスタット放射能の血球移行率及び血漿中放射能濃度に対する血漿中放射能濃度の比を表 2.6.4.4-3 に示す。

表 2.6.4.4-3　In vitro 血球移行率及び［^{14}C］バレメトスタットのマウス、ラット、イヌ、及びヒト血液中の血液/血漿比

Species	Concentration as valemetostat (μg/mL)	Blood/Plasma Ratio	Distribution (%)
Mouse	0.3	0.88	36.4
	1.5	0.90	37.9
	5	0.95	41.1
Rat	0.3	1.23	50.4
	1.5	1.22	50.4
	5	1.22	50.7
Dog	0.3	0.78	33.6
	1.5	0.81	36.6
	5	0.86	40.5
Human	0.3	0.58	12.3
	1.5	0.61	16.0
	5	0.74	30.8

データは平均値（n = 3）で示す。

4.5　胎盤移行性

現時点では検討していない。

5. 代謝

5.1 ラット、イヌ、及びヒトの凍結肝細胞における in vitro 代謝物プロファイル

資料番号 4.2.2.4-1

【方法】凍結肝細胞における［^{14}C］バレメトスタットの代謝を検討するため、プールした雄性ラット、雄性イヌ、及び男女混合ヒトの凍結肝細胞と 10 μmol/L の［^{14}C］バレメトスタットを 240 分間インキュベートした。［^{14}C］バレメトスタットの代謝率及び代謝物の生成は総放射能に対する割合で示した。

【結果】ラット、イヌ、及びヒトでの［^{14}C］バレメトスタットの代謝率は、それぞれ 21.0%、5.6%、及び 6.3%であった。ラジオ HPLC のクロマトグラムでは、未変化体バレメトスタット及び 7 つのピーク（ラット、イヌ、及びヒトで確認された代謝物総数）が検出され、これら検出されたピークは酸化体あるいは *N*-脱メチル化体のいずれかであった。ヒト肝細胞では、2 つの代謝物ピークがみられ、これらのピークはラットの肝細胞でも観察された。ラット、イヌ、及びヒトにおけるバレメトスタットの主な代謝経路は酸化及び *N*-脱メチル化であった。

5.2 絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したときの血漿、尿、糞、及び胆汁中の代謝物の構造解析

資料番号 4.2.2.4-2、4.2.2.5-1

【方法】カニューレを挿入していない雄性イヌ（3 例）及び胆管カニューレを挿入した雄性イヌ（3 例）に絶食下で 3 mg/kg の［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与した後、尿及び糞（カニューレを挿入していないイヌ由来）並びに血漿及び胆汁（カニューレを挿入したイヌ由来）を採取してプールし、放射能検出器付き液体クロマトグラフィー質量分析を用いて分析した。

【結果】投与 0.5 及び 2 時間後のイヌ血漿サンプルのラジオ HPLC クロマトグラムでは、バレメトスタットが主要ピークとして検出された。また、18 種類のマイナーな代謝物が検出され、酸化体（CALZ-1808a）及び *N*-脱メチル化体（CALZ-1810a）の 2 種類の代謝物が同定された。

投与 8 及び 24 時間後までのイヌ胆汁サンプルのラジオ HPLC クロマトグラムでは、バレメトスタットが主要ピークとして検出され、*N*-脱メチル化体（CALZ-1810a）も検出された。さらに、16 種類のマイナーな代謝物が検出され、酸化体（CALZ-1808a、CALZ-1809a、CALZ-1811a）及び *N*-脱メチル化体（CALZ-1810a）の 4 種類の代謝物が同定された。

投与 24 時間後までの尿サンプルでは、8 ピークが検出された。バレメトスタットの組成比が最も高かった。投与 24 時間後までの糞サンプルでは、13 ピークが検出された。バレメトスタットの組成比が最も高く、次いで CALZ-1809a、CALZ-1810a であった。イヌの尿、糞、胆汁中で同定された代謝物の組成を表 2.6.4.5-1 に示す。

表 2.6.4.5-1　投与 24 時間後までのイヌの尿、糞、及び胆汁中におけるバレメトスタット及び代謝物の組成

Metabolites	% in analysis sample[a]			% of dose		
	Urine	Feces	Bile[b]	Urine	Feces	Bile
Valemetostat	63.1	30.1	42.0	3.5	24.8	15.9
CALZ-1808a	2.3	ND	ND	0.1	NA	NA
CALZ-1809a	1.5	22.6	1.2	0.1	18.6	0.5
CALZ-1810a	ND	11.4	15.9	NA	9.4	6.0
CALZ-1811a	ND	ND	1.4	NA	NA	0.5

データは平均値（n = 3）で示す。
ND: 検出できず、NA: 算出できず。
[a] バレメトスタット及び代謝物の組成
[b] 投与 8 時間後までのバレメトスタット及び代謝物の組成

6. 排泄

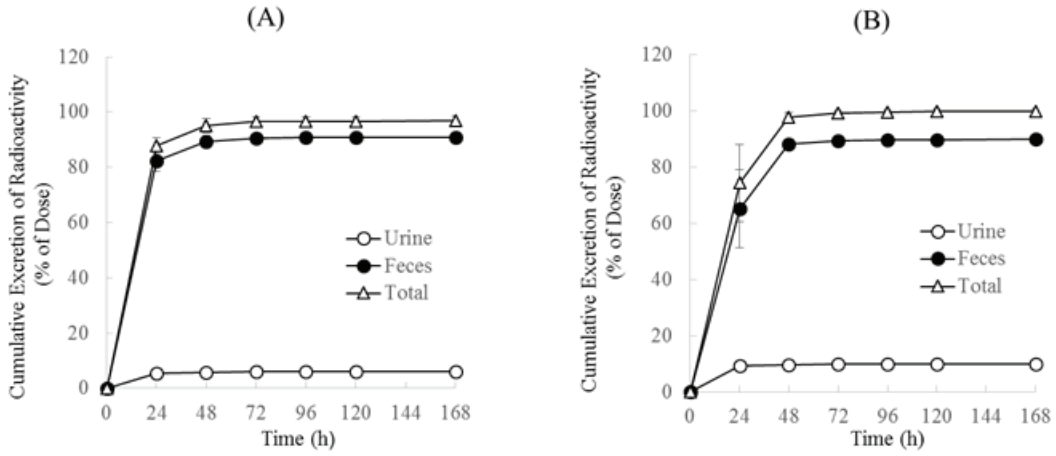
6.1 雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与及び単回静脈内投与したときの尿中及び糞中への放射能排泄

資料番号 4.2.2.5-1、4.2.2.5-2

【方法】絶食下の雄性イヌ（3 例）に［^{14}C］バレメトスタットを 3 mg/kg の用量で単回経口投与及び単回静脈内投与し、投与 168 時間後までの尿中及び糞中への放射能の排泄を、液相シンチレーション計数法により測定した。

【結果】［^{14}C］バレメトスタットの単回経口投与 168 時間後までに、投与量の 6.0%が尿中に、91.0%が糞中に排泄され、併せて 97.0%に達した（図 2.6.4.6-1 A）。［^{14}C］バレメトスタットの単回静脈内投与 168 時間後までに、投与量の 10.0%が尿中に、89.9%が糞中に排泄され、併せて 99.8%に達した。投与 168 時間後までのケージ洗浄液を含む放射能の総回収率は、投与量の 99.8%であった（図 2.6.4.6-1 B）。

図 2.6.4.6-1　絶食下の雄性イヌに 3 mg/kg の［^{14}C］バレメトスタットを単回経口（A）及び静脈内（B）投与 168 時間後までの尿中及び糞中への放射能の累積排泄



データは平均値 ± 標準偏差（n = 3）で示す。

6.2 胆管カニューレを挿入した雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与後の胆汁中への放射能排泄

資料番号 4.2.2.4-2

【方法】胆管カニューレを挿入した絶食下の雄性イヌ（3 例）に 3 mg/kg の［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与し、投与 24 時間後までの胆汁中への放射能の排泄を、液相シンチレーション計数法により測定した。

【結果】投与 8 時間後までに投与量の 37.8%が胆汁中に排泄され、投与 24 時間後までに投与量の 45.8%が胆汁中に排泄された。

7. 薬物動態学的薬物相互作用

ヒト生体試料を用いた in vitro 薬物動態学的薬物相互作用の試験成績は、2.7.2 に記載した。

8. その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施していない。

9. 考察及び結論

ラットにバレメトスタットトシル酸塩（20～200 mg/kg）を単回経口投与したとき、バレメトスタットの全身曝露量は雌雄ともに用量比を上回って増加したが、明確な性差は認められなかった。Tmax は 2～8 時間の範囲であった。

イヌにバレメトスタットトシル酸塩（15～60 mg/kg）を単回経口投与したとき、雌雄のイヌにおいてバレメトスタットの全身曝露量は用量の増加に応じて増加した。Tmax は 0.5～1 時間の範囲であった。t1/2 は雌雄ともに約 3 時間であった。

雄性ラット及び雄性イヌにそれぞれ 20 及び 15 mg/kg でバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与したときのバイオアベイラビリティは、雄性ラット及び雄性イヌにバレメトスタットトシル酸塩を 1 mg/kg で単回静脈内投与したときの全身曝露量から算出すると、それぞれ約 5.2%及び約 71.4%であった。

絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを 3 mg/kg の用量で単回経口投与及び単回静脈内投与したときの血漿中放射能の AUCinf は、それぞれ 1760 及び 3010 ng eq.h/mL であった。血液中の放射能濃度-時間プロファイルは血漿中放射能濃度とほぼ同様であった。

組織分布は QWBA を用いて評価した。アルビノラットでは、投与 168 時間後に放射能が検出可能であった組織は、大腸内容物、顎下腺、及び精巣のみであった。有色ラットの眼球及びブドウ膜では、放射能は投与 168 時間後まで検出され、メラニン親和性の可能性が示唆された。

バレメトスタットの血漿蛋白結合率（0.6～10 µg/mL）は、マウス、ラット、イヌ、及びヒトの血漿中で 58.1%～96.6%であった。マウス、イヌ、及びヒト血漿では濃度依存性が確認されたが、ラット血漿では確認されなかった。バレメトスタットのヒト血漿蛋白結合率は、他の動物種における結合率と比較して高い傾向が認められた。バレメトスタットの AAG への結合は、HSA と比較して高く、バレメトスタットは主に AAG に結合することが示唆された。［^{14}C］バレメトスタット（0.3～5 µg/mL）の血球移行率は、マウス、ラット、イヌ、及びヒトで 12.3%～50.7%であった。

肝細胞を用いた代謝比較試験では、ラット及びイヌにおいてバレメトスタットの代謝が認められ、検出された主な代謝物は酸化体及び *N*-脱メチル化体であった。また、［^{14}C］バレメトスタットはヒト凍結肝細胞中ではほとんど代謝されなかったものの、主な代謝反応は酸化であった。

［^{14}C］バレメトスタットをイヌに 3 mg/kg の用量で単回経口投与後に得られた血漿、尿、糞、及び胆汁中代謝を分析した。血漿、尿、糞、及び胆汁中の主要成分はバレメトスタットであった。血漿、尿、糞、及び胆汁中で認められた主な代謝物は酸化体及び *N*-脱メチル化体であった。酸化体である CALZ-1809a は尿、糞、及び胆汁試料中で、*N*-脱メチル体である CALZ-1810a は血漿、糞、及び胆汁中で検出された。

また、胆汁中では他の酸化体である CALZ-1808a 及び CALZ-1811a が低濃度で検出され、血漿では CALZ-1808a がわずかに検出された。なお、CALZ-1809a 及び CALZ-1810a はヒト血漿中でも検出された（2.7.2）。

［^{14}C］バレメトスタットをイヌに単回経口投与後、168 時間後までに投与した放射能の 6.0%が尿中に、91.0%が糞中に排泄された。［^{14}C］バレメトスタットを単回静脈内投与後、投与 168 時間後までに投与した放射能の 10.0%が尿中に、89.9%が糞中に排泄された。胆管カニューレを挿入したイヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与後、投与 24 時間後までに投与した放射能の 45.8%が胆汁中に排泄された。以上から、［^{14}C］バレメトスタットの主排泄経路は胆汁を介した糞中排泄であることが示された。

目次

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 5
3. 薬物動態試験： 吸収：単回投与 12
3.1 ラットにバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与したときのトキシコキネティクス 12
3.2 雄性ラットにバレメトスタットトシル酸塩を単回静脈内投与したときの薬物動態 13
3.3 イヌにバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与したときのトキシコキネティクス 14
3.4 雄性イヌにバレメトスタットトシル酸塩を単回静脈内投与したときの薬物動態 15
3.5 絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与及び単回静脈内投与したときの血液中及び血漿中放射能の薬物動態 16
4. 薬物動態試験： 吸収：反復投与 17
5. 薬物動態試験： 分布 18
5.1 アルビノラットを用いた定量的全身オートラジオルミノグラフィー 18
5.2 有色ラットを用いた定量的全身オートラジオルミノグラフィー 20
6. 薬物動態試験： 蛋白結合 21
7. 薬物動態試験： 妊娠又は授乳動物における試験 22
8. 薬物動態試験： その他の分布試験 23
8.1 In vitro 血球分布 23
9. 薬物動態試験： 代謝：In Vivo 24
9.1 絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したときの血漿、尿、糞、及び胆汁中の代謝物の構造解析 24
10. 薬物動態試験： 代謝：In Vitro 25
10.1 ラット、イヌ、及びヒトの凍結肝細胞における in vitro 代謝物プロファイル 25
11. 薬物動態試験： 推定代謝経路 27
12. 薬物動態試験： 薬物代謝酵素の誘導／阻害 28
13. 薬物動態試験： 排泄 29
13.1 雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与及び単回静脈内投与したときの尿中及び糞中への放射能排泄 29
14. 薬物動態試験： 排泄：胆汁中 30
14.1 胆管カニューレを挿入した雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与後の胆汁中への放射能排泄 30
15. 薬物動態試験： 薬物相互作用 31
16. 薬物動態試験： その他 32

1. 薬物動態試験： 一覧表

Overview			**Test Article: Valemetostat Tosylate, Valemetostat, [^{14}C]Valemetostat**		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Absorption					
Toxicokinetics	Rat (Crl:CD(SD))	Oral (single dose)	[redacted], (Italy)	4.2.3.1-1	4.2.3.1
Pharmacokinetics	Rat (Crl:CD(SD))	Intravenous (single dosing)	[redacted]., [redacted].	4.2.2.2-1	4.2.2.2
Toxicokinetics	Dog (beagle)	Oral (single dose)	[redacted], (Italy)	4.2.3.1-2	4.2.3.1
Pharmacokinetics	Dog (beagle)	Intravenous (single dosing)	[redacted]., [redacted].	4.2.2.2-2	4.2.2.2
Pharmacokinetics	Dog (beagle)	Oral (single dose)	[redacted]., [redacted].	4.2.2.5-1	4.2.2.5
Pharmacokinetics	Dog (beagle)	Intravenous (single dosing)	[redacted]., [redacted].	4.2.2.5-2	4.2.2.5

Overview			**Test Article: Valemetostat Tosylate, Valemetostat, [^{14}C]Valemetostat**		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Distribution					
Quantitative whole-body autoradiography in albino rats	Rat (Crl:CD(SD))	Oral (single dose)	[redacted]	4.2.2.3-1	4.2.2.3
Quantitative whole-body autoradiography in pigmented rats	Rat (Long-Evans)	Oral (single dose)	[redacted]	4.2.2.3-2	4.2.2.3
Plasma protein binding in mouse, rat, dog, and human	In vitro	Not applicable	[redacted]	4.2.2.3-3	4.2.2.3
Distribution to blood cells in mouse, rat, dog, and human	In vitro	Not applicable	[redacted]	4.2.2.3-4	4.2.2.3
Metabolism					
Metabolite profiling in rat, dog, and human cryopreserved hepatocytes	In vitro	Not applicable	[redacted] (Italy)	4.2.2.4-1	4.2.2.4
Structure elucidation of metabolites in bile and plasma in bile duct-cannulated dogs	Dog (beagle)	Oral (single dose)	[redacted]	4.2.2.4-2	4.2.2.4

Overview			**Test Article: Valemetostat Tosylate, Valemetostat, [^{14}C]Valemetostat**		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Structure elucidation of metabolites in dogs	Dog (beagle)	Oral (single dose)	[redacted]	4.2.2.5-1	4.2.2.5
Excretion					
Excretion of radioactivity in urine and feces in dogs	Dog (beagle)	Oral (single dose)	[redacted]	4.2.2.5-1	4.2.2.5
Excretion of radioactivity in urine and feces in dogs	Dog (beagle)	Intravenous (single dosing)	[redacted]	4.2.2.5-2	4.2.2.5
Biliary excretion of radioactivity in bile in bile duct-cannulated dogs	Dog (beagle)	Oral (single dose)	[redacted]	4.2.2.4-2	4.2.2.4
Pharmacokinetic Drug Interactions					
Described in Module 2.7.2.					
Other					
Not applicable.					

2. 分析方法及びバリデーション試験

Animal species	**Rat**	**Dog**
Analyte	Valemetostat	
Sample matrix	Plasma	
Pretreatment	Protein precipitation by acetonitrile	
Analytical method	LC-MC/MS	
IS	CALZ-1806a	
Calibration model	Linear weighted $1/x^2$	
LLQ	10 ng/mL	
Validated range	10 to 10,000 ng/mL	
Within-run precision	≤14.6%	≤15.5%
Between-run precision	≤9.1%	≤4.8%
Accuracy	88.5% to 107.7%	80.3% to 102.8%
Selectivity	No significant interference with the analyte or internal standard.	
Carry over	<45.1% LLQ <5% Carry over IS	<38.7% LLQ <5% Carry over IS
Stability in plasma	At least 24 h at room temperature At least 34 d at −20°C	
Stability in whole blood	At least 4 h at 37°C	
Freeze-thaw stability	At least 3 cycles from −20°C to room temperature	
Processed sample stability	At least 119 h at room temperature	
Plasma dilution	10-fold in plasma	
Maximum run size	192 injections	
Attachment Number	4.2.2.1-1	4.2.2.1-2

IS, internal standard; LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLQ, Lower limit of quantification.

Animal species	Rat	Dog
Analyte	Valemetostat	
Sample matrix	Plasma	
Pretreatment	Protein precipitation by acetonitrile	
Analytical method	LC-MC/MS	
IS	CALZ-1812a	
Calibration model	Linear weighted $1/x^2$	
LLOQ	1 ng/mL	
Validated range	1 to 1,000 ng/mL	1 to 2000 ng/mL
Within-run accuracy (%)	LLQC, 106.0; LQC, 97.3; MQC, 96.1; HQC, 95.1	LLQC, 101.0; LQC, 98.3; MQC, 94.9; HQC, 92.5
Within-run precision (%)	LLQC, 4.7; LQC, 4.5; MQC, 3.5; HQC, 0.8	LLQC, 3.0; LQC, 1.0; MQC, 1.3; HQC, 1.4
Between-run accuracy (%)	LLQC, 105.0; LQC, 96.7; MQC, 96.0, HQC, 94.8	LLQC, 101.0; LQC, 100.3; MQC, 95.5, HQC, 93.8
Between-run precision (%)	LLQC, 4.8; LQC, 3.1, MQC, 2.3, HQC, 1.2	LLQC, 5.0; LQC, 2.3, MQC, 1.7, HQC, 1.3
Matrix effect precision (%)	Lower, 2.6; Higher, 0.5	Lower, 1.8; Higher, 0.5
Selectivity	≤20% of the LLOQ for analyte, ≤5% for IS	
Carry over	Not influenced	
Dilution integrity	High concentration sample, 4000 ng/mL; Dilution factor, 10; Accuracy, 96.5%; Precision, 1.3%	High concentration sample, 4000 ng/mL; Dilution factor, 10; Accuracy, 92.8%; Precision, 1.9%
Short-term stability	4 h at room temperature	
Long-term stability	30 d at −70°C or below	
Freeze-thaw stability	5 cycles at −70°C or below/room temperature	
Processed sample stability	51 h set at 5°C	48 h set at 5°C
Recovery (%)	LQC, 75.9; HQC, 77.0; IS, 78.4	LQC, 75.7; HQC, 74.3; IS, 76.9
Recovery precision (%)	LQC, 2.8; HQC, 0.5; IS, 0.8	LQC, 0.9; HQC, 0.8; IS, 2.1
Attachment Number	4.2.2.1-3	4.2.2.1-4

Quality control sample concentration is as follows: 1, 3, 100, and 800 ng/mL for LLQC, LQC, MQC, and HQC for rat; 1, 3, 100, and 1600 ng/mL for LLQC, LQC, MQC, and HQC for dog.
HQC high quality control, IS, internal standard; LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLOQ, Lower limit of quantification; LLQC, lower limit quality control; LQC, low quality control; MQC, medium quality control.

Analyte		Valemetostat					
Analytical method		LC-MS/MS					
IS		CALZ-1812a					
Animal species		Mouse	Rat	Dog	Human		
Sample matrix		Plasma				4% HSA	0.1% AAG
Sample volume		10 µL					
LLOQ		200 ng/mL					
Validated range		200 to 20,000 ng/mL					
QC sample concentration		LLQC, 200 ng/mL; LQC, 600 ng/mL; MQC, 3000 ng/mL; HQC, 16,000 ng/mL					
Selectivity		3 males, ≤20% of LLOQ for analyte, ≤5% for IS			NA	≤20% of LLOQ for analyte, ≤5% for IS	
LLOQ accuracy (%)		97.0	90.5	103.0	106.5	101.5	94.5
LLOQ precision (%)		2.6	2.8	3.9	2.3	1.5	2.1
Within-run accuracy (%)	**LQC**	97.0	93.3	95.8	97.0	100.5	91.7
	MQC	94.3	95.7	95.3	97.0	99.7	90.7
	HQC	96.3	96.3	100.0	103.1	101.9	94.4
Within-run precision (%)	**LQC**	0.5	1.8	1.9	2.9	1.5	2.4
	MQC	1.4	0.7	3.8	2.7	1.3	1.8
	HQC	0.6	1.3	3.1	1.8	1.2	1.3

Animal species		Mouse	Rat	Dog	Human		PBS
Sample matrix		Plasma supernatant			4% HAS supernatant	0.1% AAG supernatant	NA
Sample volume		20 µL					
LLOQ		1 ng/mL					
Validated range		NA					1 to 10,000 ng/mL
QC sample concentration		LLQC, 1 ng/mL; LQC, 3 ng/mL; MQC, 150 ng/mL; HQC, 8000 ng/mL					
Selectivity		3 male pools[a] or 3 males, ≤20% of LLOQ for analyte, ≤5% for IS			≤20% of LLOQ for analyte, ≤5% for IS		NA

LLOQ accuracy (%)		NA						96.9
LLOQ precision (%)		NA						4.4
Within-run accuracy (%)	**LQC**	99.0	101.7	96.7	103.3	94.3	95.7	87.7
	MQC	102.7	99.3	92.7	104.0	91.3	96.0	95.3
	HQC	95.1	94.3	93.9	98.3	93.4	96.1	93.9
Within-run precision (%)	**LQC**	1.0	1.6	5.9	5.5	4.2	5.9	2.7
	MQC	1.3	0.7	1.4	1.3	0.7	0.7	1.4
	HQC	1.4	1.9	1.3	1.8	1.3	1.8	1.1
Attachment Number		4.2.2.1-5						

AAG, alpha1-acid glycoprotein; HQC high quality control, HSA, human serum albumin; IS, internal standard; LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLOQ, Lower limit of quantification; LLQC, lower limit quality control; LQC, low quality control; MQC, medium quality control; NA, not applicable; PBS, phosphate buffered saline; QC, quality control.
[a] for mouse plasma supernatant.

Analyte		CALZ-1809a		
Analytical method		LC-MS/MS		
IS		T238-9562a		
Animal species		Human		
Sample matrix		PBS/plasma (9:1, v/v)	PBS/4% HSA (9:1, v/v)	PBS/0.1% AAG (9:1, v/v)
Sample volume		20 µL	20 µL	40 µL
LLOQ		Plasma, 4% HSA, 0.1% AAG: 2.7 ng/mL PBS: 0.3 ng/mL		
Validated range		Plasma, 4% HSA, 0.1% AAG: 2.7 to 2700 ng/mL ($1/x^2$) PBS: 0.3 to 300 ng/mL ($1/x^2$)		
QC sample concentration		Plasma, 4% HSA, 0.1% AAG: LLQC: 2.7 ng/mL, LQC: 8.1 ng/mL, MQC: 135 ng/mL, HQC: 2160 ng/mL PBS: LLQC: 0.3 ng/mL, LQC: 0.9 ng/mL, MQC: 15 ng/mL, HQC: 240 ng/mL		
Selectivity		3 males ≤ 20% of the LLOQ for analyte and ≤ 5% for IS	1 lot ≤ 20% of the LLOQ for analyte and ≤ 5% for IS	
LLOQ accuracy (%)		99.3 (Plasma) 99.0 (PBS)	93.0 (4% HSA) 93.0 (PBS)	87.8 (0.1% AAG) 87.7 (PBS)
LLOQ precision (%)		0.7 (Plasma) 0.7 (PBS)	3.6 (4% HSA) 3.6 (PBS)	8.4 (0.1% AAG) 8.4 (PBS)
Within-run accuracy (%)	**LQC**	96.4 (Plasma) 96.3 (PBS)	91.5 (4% HSA) 91.4 (PBS)	90.1 (0.1% AAG) 90.1 (PBS)
	MQC	105.2 (Plasma) 105.3 (PBS)	98.5 (4% HSA) 98.7 (PBS)	100.7 (0.1% AAG) 100.7 (PBS)
	HQC	106.5 (Plasma) 106.3 (PBS)	102.3 (4% HSA) 102.1 (PBS)	106.5 (0.1% AAG) 106.7 (PBS)
Within-run precision (%)	**LQC**	2.3 (Plasma) 2.3 (PBS)	2.7 (4% HSA) 2.8 (PBS)	3.8 (0.1% AAG) 3.8 (PBS)
	MQC	2.8 (Plasma) 2.5 (PBS)	2.3 (4% HSA) 2.0 (PBS)	1.5 (0.1% AAG) 1.3 (PBS)

	HQC	2.6 (Plasma) 2.7 (PBS)	1.4 (4% HSA) 1.2 (PBS)	1.7 (0.1% AAG) 1.6 (PBS)
Dilution integrity	**High concentration sample**	Plasma, 4% HSA, 0.1% AAG: 18,000 ng/mL PBS: 2000 ng/mL		
	Dilution factor	10		
	Accuracy	102.2 (Plasma) 102.5 (PBS)	97.2 (4% HSA) 97.0 (PBS)	93.3 (0.1% AAG) 93.0 (PBS)
	Precision	2.2 (Plasma) 2.0 (PBS)	1.7 (4% HSA) 2.1 (PBS)	0.6 (0.1% AAG) 0.5 (PBS)
Animal species		Human		
Sample matrix		Plasma supernatant /plasma (9:1, v/v)	4% HSA supernatant /4% HSA (9:1, v/v)	0.1% AAG supernatant /0.1% AAG (9:1, v/v)
Sample volume		20 µL	20 µL	40 µL
LLOQ		Plasma, 4% HSA, 0.1% AAG: 2.7 ng/mL Plasma supernatant, 4% HSA supernatant, 0.1% AAG supernatant: 0.3 ng/mL		
QC sample concentration		Plasma, 4% HSA, 0.1% AAG: LLQC: 2.7 ng/mL, LQC: 8.1 ng/mL, MQC: 135 ng/mL, HQC: 2160 ng/mL Plasma supernatant, 4% HSA supernatant, 0.1% AAG supernatant: LLQC: 0.3 ng/mL, LQC: 0.9 ng/mL, MQC: 15 ng/mL, HQC: 240 ng/mL		
Selectivity		3 males ≤ 20% of the LLOQ for analyte and ≤ 5% for IS	1 lot ≤ 20% of the LLOQ for analyte and ≤ 5% for IS	
LLOQ accuracy (%)		95.6 (Plasma) 95.7 (Plasma supernatant)	98.5 (4% HSA) 98.3 (4% HSA supernatant)	87.8 (0.1% AAG) 88.0 (0.1% AAG supernatant)
LLOQ precision (%)		0.8 (Plasma) 0.7 (Plasma supernatant)	4.5 (4% HSA) 4.7 (4% HSA supernatant)	3.4 (0.1% AAG) 3.0 (0.1% AAG supernatant)
Within-run accuracy (%)	**LQC**	95.7 (Plasma) 95.6 (Plasma supernatant)	92.3 (4% HSA) 92.3 (4% HSA supernatant)	94.4 (0.1% AAG) 94.4 (0.1% AAG supernatant)
	MQC	103.0 (Plasma) 103.3 (Plasma supernatant)	98.5 (4% HSA) 98.0 (4% HSA supernatant)	100.0 (0.1% AAG) 100.0 (0.1% AAG supernatant)

	HQC	104.6 (Plasma) 104.6 (Plasma supernatant)	101.9 (4% HSA) 101.7 (4% HSA supernatant)	105.1 (0.1% AAG) 105.0 (0.1% AAG supernatant)
Within-run precision (%)	**LQC**	2.3 (Plasma) 2.4 (Plasma supernatant)	1.3 (4% HSA) 1.3 (4% HSA supernatant)	2.2 (0.1% AAG) 2.1 (0.1% AAG supernatant)
	MQC	2.9 (Plasma) 2.6 (Plasma supernatant)	1.5 (4% HSA) 2.0 (4% HSA supernatant)	1.5 (0.1% AAG) 1.3 (0.1% AAG supernatant)
	HQC	0.4 (Plasma) 0.4 (Plasma supernatant)	0.9 (4% HSA) 0.4 (4% HSA supernatant)	0.4 (0.1% AAG) 0.4 (0.1% AAG supernatant)
Attachment Number		4.2.2.1-6		

AAG, alpha1-acid glycoprotein; HQC high quality control, HSA, human serum albumin; IS, internal standard; LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLOQ, Lower limit of quantification; LLQC, lower limit quality control; LQC, low quality control; MQC, medium quality control; NA, not applicable; PBS, phosphate buffered saline; QC, quality control.

3. 薬物動態試験： 吸収：単回投与

3.1 ラットにバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与したときのトキシコキネティクス

				Test article: Valemetostat tosylate		
			Location in CTD: 4.2.3.1	**Attachment No. 4.2.3.1-1**		
Day 1 PK						
Species	Rat/Crl:CD(SD)					
Sex/number of animals	Male/n = 3 for each group			Female/n = 3 for each group		
Feeding condition	Fed					
Vehicle/formulation	80% v/v PEG200 and 20% v/v sterile water for injection					
Method of administration	Single oral					
Dose (mg/kg)	20, 60, 200					
Sample	Plasma					
Analyte	Valemetostat					
Assay	LC-MS/MS					
PK parameters (mean)	20 mg/kg	60 mg/kg	200 mg/kg	20 mg/kg	60 mg/kg	200 mg/kg
AUC_t [a] (ng·h/mL)	252	2940	13,800	452	4180	23,400
Cmax (ng/mL)	62.1	385	1770	90.2	736	2940
Tmax (h)	2.00	8.00	8.00	4.00	2.00	8.00
Additional Information: a: AUC_t = area under the plasma concentration-time curve (AUC) from the start of dosing (0) to the last quantifiable time point (t), which was 24 hours for rats at 200 mg/kg, 12 hours for rats at 60 mg/kg (with the exception of one female, with the last quantifiable time point of 24 hours), and, for rats at 20 mg/kg, was 8 hours (2 males, one female) or 12 hours (one male, 2 females).						

AUCt, area under the plasma concentration-time curve up to time t; Cmax, maximum plasma concentration; LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry; PK, pharmacokinetics; Tmax, time to reach maximum plasma concentration.

3.2 雄性ラットにバレメトスタットトシル酸塩を単回静脈内投与したときの薬物動態

	Test article: Valemetostat tosylate
Location in CTD: 4.2.2.2	**Attachment No. 4.2.2.2-1**
Species	Rat/Crl:CD(SD)
Sex/number of animals	Male/n = 3
Feeding condition	Fasted
Vehicle/formulation	Distilled water/hydrochloric acid
Method of administration	Single intravenous
Dose (mg/kg)	1
Sample	Plasma
Sampling Time	5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 24 h
Analyte	Valemetostat
Assay	LC-MS/MS
PK parameters (mean ± standard deviation)	
C0 (ng/mL)	287 ± 16
t1/2 (h)	2.67 ± 0.50
AUC24h (ng·h/mL)	242 ± 23
AUCinf (ng·h/mL)	218 ± 19
CL (mL/min/kg)	76.9 ± 6.4
Vss (L/kg)	14.1 ± 1.6

AUCinf, area under the plasma concentration-time curve up to infinity; AUC24h, area under the plasma concentration-time curve up to 24h; CL, total body clearance; C0, initial plasma concentration; LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry; PK, pharmacokinetics; t1/2, terminal elimination half-life; Vss, volume of distribution at steady state.

3.3 イヌにバレメトスタットトシル酸塩を単回経口投与したときのトキシコキネティクス

				Test article: Valemetostat tosylate		
			Location in CTD: 4.2.3.1	**Attachment No. 4.2.3.1-2**		
Day 1 PK						
Species	Dog/beagle					
Sex/number of animals	Male/n = 5 for each group			Female/n = 5 for each group		
Feeding condition	Fed					
Vehicle/formulation	80% PEG200 and 20% sterile water for injection					
Method of administration	Single oral					
Dose (mg/kg)	15, 30, 60 mg/kg					
Sample	Plasma					
Analyte	Valemetostat					
Assay	LC-MS/MS					
PK parameters (mean)	15 mg/kg	30 mg/kg	60 mg/kg	15 mg/kg	30 mg/kg	60 mg/kg
AUC_t [a] (ng·h/mL)	10,200	30,400	39,800	7850	28,600	41,700
Cmax (ng/mL)	2460	5800	8360	2030	5360	9240
Tmax (h)	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	1.00
Additional Information: a: AUC_t = area under the plasma concentration-time curve (AUC) from the start of dosing (0) to the last quantifiable time point (t), which was 24 hours, with the exception of 1 male at 60 mg/kg/day, and 2 males and 2 females at 15 mg/kg/day, with the last quantifiable time point of 12 hours.						

AUCt, area under the plasma concentration-time curve up to time t; Cmax, maximum plasma concentration; PK, pharmacokinetics; Tmax, time to reach maximum plasma concentration.

3.4 雄性イヌにバレメトスタットトシル酸塩を単回静脈内投与したときの薬物動態

	Test article: Valemetostat tosylate
Location in CTD: 4.2.2.2	**Attachment No. 4.2.2.2-2**
Species	Dog/beagle
Sex/number of animals	Male/n = 3
Feeding condition	Fasted
Vehicle/formulation	Distilled water/hydrochloric acid
Method of administration	Single intravenous
Dose (mg/kg)	1
Sample	Plasma
Sampling Time	5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 24 h
Analyte	Valemetostat
Assay	LC-MS/MS
PK parameters (mean ± standard deviation)	
C0 (ng/mL)	1460 ± 610
t1/2 (h)	3.59 ± 1.50
AUC24h (ng·h/mL)	952 ± 211
AUCinf (ng·h/mL)	937 ± 222
CL (mL/min/kg)	18.4 ± 3.9
Vss (L/kg)	2.91 ± 1.33

AUCinf, area under the plasma concentration-time curve up to infinity; AUC24h, area under the plasma concentration-time curve up to 24h; CL, total body clearance; C0, initial plasma concentration; LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry; PK, pharmacokinetics; t1/2, terminal elimination half-life; Vss, volume of distribution at steady state.

3.5 絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与及び単回静脈内投与したときの血液中及び血漿中放射能の薬物動態

			Test article: Valemetostat tosylate	
		Location in CTD: 4.2.2.5	**Attachment No. 4.2.2.5-1, 4.2.2.5-2**	
Species	Dog/beagle			
Sex/number of animals	Male/n = 3 for each group			
Feeding condition	Fasted			
Vehicle/formulation	Water for injection			
Method of administration	Single oral and intravenous			
Dose (mg/kg)	3			
Radioactivity administered	1.075 MBq/kg			
Sample	Blood and plasma			
Sampling time	5 (only for intravenous), 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 48 h			
Detection	^{14}C, radioactivity			
Analytical method	Liquid scintillation counting			
PK Parameters (mean ± standard deviation)	Oral		Intravenous	
	Blood	Plasma	Blood	Plasma
Cmax (ng eq./mL)	444 ± 207	607 ± 345	NA	NA
Tmax (h)	1.0 ± 0.9	1.0 ± 0.9	NA	NA
AUClast (ng eq.·h/mL)	1250 ± 360	1530 ± 460	2260 ± 580	2760 ± 720
AUCinf (ng eq.·h/mL)	1580[a]	1760 ± 460	2450 ± 540	3010 ± 740
t1/2 (h)	3.3 ± 1.1[b]	2.9 ± 0.4[b]	2.5 ± 0.4[c]	4.1 ± 1.6[d]

Radioactivity concentrations are expressed as equivalent of valemetostat.
AUCinf, area under the plasma concentration-time curve up to infinity; AUClast, area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time; NA, not applicable; PK, pharmacokinetics; t1/2, terminal elimination half-life.
[a] n = 2.
[b] Data from 2 or 4 to 8 h were used for calculation.
[c] Data from 2 to 8 h were used for calculation.
[d] Data from 2 or 4 to 8 h, or 6 to 24 h were used for calculation.

4. 薬物動態試験： 吸収：反復投与

2.6.7 に記載した。

5. 薬物動態試験： 分布

5.1 アルビノラットを用いた定量的全身オートラジオルミノグラフィー

					Test article: [^{14}C]Valemetostat	
					Attachment No. 4.2.2.3-1	
Species	Rat/Crl:CD(SD), albino					
Sex/number of animals	Male/n = 1 for each time point					
Feeding condition	Fasted					
Route of administration	Single oral					
Vehicle/formulation	0.5% Methylcellulose					
Dose (mg/kg)	3					
Detection	^{14}C, radioactivity					
Analytical method	Autoradioluminography					
Radioactivity administered	4.12 Mbq/kg					
Sampling time	1, 4, 7, 24, 72, 168 h					
Radioactivity concentration (ng eq. of valemetostat/g tissue)						
Tissue	1 h	4 h	7 h	24 h	72 h	168 h
Adrenal gland	82.2	1260	1170	75.5	NS	NS
Blood	BLQ	35.3	33.4	BLQ	NS	NS
Bone	120	37.5	94.0	NS	NS	NS
Bone marrow	54.3	403	322	NS	NS	NS
Brown fat	109	1440	906	23.5	NS	NS
Cerebellum	NS	BLQ	BLQ	NS	NS	NS
Cerebrum	NS	BLQ	BLQ	NS	NS	NS
Epididymis	NS	203	195	212	NS	NS
Eyeball	NS	81.5	101	BLQ	NS	NS
Fat	NS	72.7	79.9	NS	NS	NS
Gastric contents	AUQ	8730	23.5	1950	NS	NS
Harderian gland	NS	747	815	361	NS	NS
Heart	28.3	282	127	NS	NS	NS
Kidney	99.1	723	693	42.5	NS	NS
Large intestinal contents	NS	85.9	AUQ	5210	35.9	27.9
Large intestine	41.6	1120	11300	242	NS	NS
Liver	213	520	174	NS	NS	NS

Lung	28.3	370	266	NS	NS	NS
Mandibular gland	113	2440	1100	235	26.3	27.9
Pancreas	80.2	1630	583	NS	NS	NS
Pituitary gland	NS	1810	1190	1060	NS	NS
Prostate gland	25.4	549	679	NS	NS	NS
Skeletal muscle	BLQ	317	139	BLQ	NS	NS
Skin	NS	315	294	70.8	NS	NS
Small intestinal contents	1260	2640	7710	644	NS	NS
Small intestine	509	520	747	113	NS	NS
Spleen	54.3	754	432	33.0	NS	NS
Stomach	28.3	315	748	37.8	NS	NS
Testis	NS	46.3	49.3	44.8	BLQ	23.6
Thymus	BLQ	214	229	39.9	NS	NS
Thyroid gland	73.9	1290	623	86.9	NS	NS
Urinary bladder	39.3	313	474	BLQ	NS	NS
Urine in bladder	571	995	2030	169	NS	NS

Note: Lower limit of quantification = 19.0 ng eq. of valemetostat/g tissue. Upper limit of quantification = 37,400 ng eq. of valemetostat/g tissue.
AUQ, above the upper limit of quantification; BLQ, below the lower limit of quantification; NS, not specified.

5.2 有色ラットを用いた定量的全身オートラジオルミノグラフィー

				Test article: [^{14}C]Valemetostat	
			Location in CTD: 4.2.2.3	**Attachment No. 4.2.2.3-2**	
Species	Rat/Long-Evans, pigmented				
Sex/number of animals	Male/n = 1 for each time point				
Feeding condition	Fasted				
Route of administration	Oral				
Vehicle/formulation	0.5% Methylcellulose				
Dose (mg/kg)	3				
Detection	^{14}C, radioactivity				
Analytical method	Autoradioluminography				
Radioactivity administered	4.12 Mbq/kg				
Sampling time	1, 4, 24, 72, 168 h				
Radioactivity concentration (ng eq. of valemetostat/g tissue)					
Tissue	1 h	4 h	24 h	72 h	168 h
Adrenal gland	30.4	1680	132	NS	NS
Blood	21.9	44.5	NS	NS	NS
Cerebrum	NS	NS	NS	NS	NS
Eyeball[a]	NS	32.8	63.8	62.6	21.3
Heart	32.9	497	NS	NS	NS
Kidney	52.2	949	37.8	NS	NS
Liver	169	1120	BLQ	NS	NS
Lung	BLQ	769	NS	NS	NS
Skeletal muscle	BLQ	338	BLQ	NS	NS
Skin (pigmented)	NS	259	BLQ	20.0	NS
Skin (white)	NS	337	NS	BLQ	NS
Spleen	57.0	1120	23.6	NS	NS
Testis	BLQ	65.6	49.6	39.4	28.4
Uveal tract	NS	1850	2750	2570	1770

Note: Lower limit of quantification = 19.0 ng eq. of valemetostat/g tissue. Upper limit of quantification = 37,400 ng eq. of valemetostat/g tissue.
BLQ, below the lower limit of quantification; NS, not specified.
[a] Except for uveal tract.

6. 薬物動態試験： 蛋白結合

			Test article: Valemetostat tosylate	
			Location in CTD: 4.2.2.3	**Attachment No.: 4.2.2.3-3**
Test system	In vitro			
Substrate concentration (µg/mL)	0.6, 3, 10 in plasma, and 0.6, 1, 3, 5, 10 in HSA, AAG			
Sample	Plasma (mouse, rat, dog, human), pool, or 4% HSA, 0.1% AAG			
Method	Ultracentrifugation			
Assay	LC-MS/MS			
	Plasma protein binding ratio (%)			
Substrate concentration (µg/mL)	Mouse	Rat	Dog	Human
0.6	82.6 ± 0.3	59.7 ± 3.1	74.4 ± 5.6	96.6 ± 1.5
3	78.2 ± 0.4	58.1 ± 1.7	67.2 ± 6.5	94.2 ± 3.3
10	72.8 ± 0.9	58.5 ± 1.7	58.7 ± 4.6	78.0 ± 8.1
Substrate concentration (µg/mL)	4% HSA		0.1% AAG	
0.6	37.9 ± 1.6		92.3 ± 0.1	
1	38.7 ± 2.3		91.2 ± 0.4	
3	35.0 ± 0.2		84.8 ± 0.5	
5	36.0 ± 1.0		76.7 ± 0.7	
10	36.4 ± 2.1		56.0 ± 2.7	

Results are represented as the mean ± standard deviation (n = 3).
AAG, alpha1-acid glycoprotein; HSA, human serum albumin; LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

7. 薬物動態試験： 妊娠又は授乳動物における試験

本申請で該当する試験は実施していない。

8. 薬物動態試験： その他の分布試験

8.1 In vitro 血球分布

			Test article: [^{14}C]Valemetostat	
		Location in CTD: 4.2.2.3	**Attachment No.: 4.2.2.3-4**	
Test system	In vitro			
Substrate concentration (µg/mL)	0.3, 1.5, 5 as valemetostat			
Sample	Blood (mice, rats, dogs, humans)			
Method	Centrifugation			
Detection	^{14}C, radioactivity			
Analytical method	Liquid scintillation counting			
	Mouse	Rat	Dog	Human
Substrate concentration (µg/mL)	Distribution to blood cells (%)			
0.3	36.4 ± 2.0	50.4 ± 1.0	33.6 ± 4.7	12.3 ± 2.5
1.5	37.9 ± 1.4	50.4 ± 1.4	36.6 ± 3.9	16.0 ± 3.0
5	41.1 ± 0.9	50.7 ± 0.7	40.5 ± 3.3	30.8 ± 2.4
Substrate concentration (µg/mL)	Blood/plasma ratio			
0.3	0.88 ± 0.03	1.23 ± 0.02	0.78 ± 0.06	0.58 ± 0.03
1.5	0.90 ± 0.02	1.22 ± 0.03	0.81 ± 0.05	0.61 ± 0.04
5	0.95 ± 0.02	1.22 ± 0.02	0.86 ± 0.04	0.74 ± 0.05

Results are represented as the mean ± standard deviation (n = 3).

9. 薬物動態試験： 代謝：In Vivo

9.1 絶食下の雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与したときの血漿、尿、糞、及び胆汁中の代謝物の構造解析

				Test article: [^{14}C]Valemetostat		
			Location in CTD: 4.2.2.4, 4.2.2.5	**Attachment No: 4.2.2.4-2, 4.2.2.5-1**		
Species	Dog/beagle					
Sex/number of animals	Male/n = 3					
Feeding condition	Fasted					
Vehicle/formulation	Water for injection					
Method of administration	Single oral					
Dose (mg/kg)	3					
Sample	Plasma, bile, urine, feces					
Radionuclide/Specific Activity	^{14}C, 1.075 or 6.45 MBq/kg					
Analytical Method	Liquid scintillation counting					
Metabolite	% in analysis sample[a]			Concentration (ng eq. of valemetostat/mL)		
	Plasma					
	0.5 h	2 h		0.5 h	2 h	
Valemetostat	50.1	39.4		308	119	
CALZ-1808a	ND	1.7		NA	5.15	
CALZ-1809a	ND	ND		NA	NA	
CALZ-1810a	1.8	1.3		11.1	3.94	
CALZ-1811a	ND	ND		NA	NA	
Metabolite	% in analysis sample[a]			% of dose		
	Urine[b]	Feces[b]	Bile[c]	Urine[b]	Feces[b]	Bile[c]
Valemetostat	63.1	30.1	42.0	3.5	24.8	15.9
CALZ-1808a	2.3	ND	ND	0.1	NA	NA
CALZ-1809a	1.5	22.6	1.2	0.1	18.6	0.5
CALZ-1810a	ND	11.4	15.9	NA	9.4	6.0
CALZ-1811a	ND	ND	1.4	NA	NA	0.5

Results are represented as the mean (n = 3).
ND, not detected; NA, not applicable.
[a] Composition of valemetostat and its metabolites on the radiochromatogram. [b] Composition of valemetostat and its metabolites in urine and feces up to 24 h postdose. [c] Composition of valemetostat and its metabolites in bile up to 8 h postdose.

10. 薬物動態試験： 代謝：In Vitro

10.1 ラット、イヌ、及びヒトの凍結肝細胞における in vitro 代謝物プロファイル

							Test article: [^{14}C]Valemetostat		
							Location in CTD: 4.2.2.4	**Attachment No. 4.2.2.4-1**	
Method: The metabolism of [^{14}C]valemetostat was investigated in male Sprague Dawley rat, male beagle dog and mixed gender human cryopreserved pooled hepatocytes, which were incubated in triplicate with 10 µM [^{14}C]valemetostat for 240 min. Positive controls of testosterone and 7-hydroxycoumarin were used to confirm Phase 1 and Phase 2 metabolism in the hepatocytes. The remaining [^{14}C]valemetostat, and the production of metabolites, were determined and expressed as a percentage of total radioactivity. Quantification of test item-related parent and metabolites was carried out on any radio-peak with a peak area ≥800 cpm (limit of quantification) corresponding to approximately 1%, or greater, of the injected radioactivity. Metabolite assignment was performed by radio-LC-MS.									
Tabulated results: Summary of Metabolites After Incubation of [^{14}C]DS-3201a in Rat, Dog and Human Cryopreserved Hepatocytes									
Peak ID (Proposed Biotransformation)	% Radioactivity (% Metabolism) [a]								
	Rat			Dog			Human		
	Time (min)								
	0	120	240	0	120	240	0	120	240
[^{14}C]DS-3201a (P)	99.6	87.2	78.7	98.9	96.6	93.3	99.7	97.8	93.5
HM1 (Oxidation)	ND	1.3 (10.4)	2.0 (9.5)	ND	ND	ND	ND	1.1 (53.6)	1.8 (29.4)
HM2 (Oxidation) / HM3 (*N*-demethylation/oxidation)	ND	BQL [c]	1.3 [c] (6.4)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
HM4 (Oxidation)	ND	4.0 (32.2)	6.2 (29.4)	ND	BQL	BQL	ND	BQL	1.6 (24.8)
HM6 (Oxidation) / HM7 (Oxidation)	ND	1.7 [c] (14.0)	3.1 [c] (14.6)	ND	0.9 [c] (37.2)	1.5 [c] (26.9)	ND	ND	BQL / ND
HM9 (*N*-demethylation)	ND	2.2 (17.9)	3.9 (18.4)	ND	BQL	1.3 (22.8)	ND	ND	BQL
% Parent Turnover [b]	NA	12.5	21.0	NA	2.4	5.6	NA	2.0	6.3
Quantification Limit	1.5 (NA)	0.8 (6.5)	0.9 (4.2)	1.4 (NA)	0.8 (32.6)	0.8 (13.4)	1.4 (NA)	0.9 (44.0)	0.6 (9.1)

	Test article: [^{14}C]Valemetostat
[a] % of total metabolism = % of metabolite (as total run area) / % of parent turnover * 100. [b] % of parent turnover = % of parent at time (0) - % of unchanged parent at time (t) reported as % total run area. [c] Co-eluting radio-metabolites. ND = Not Detected by radio-LC/MS. NA = Not Applicable. BQL= Below Quantification Limit: quantification limit was set to 800 cpm as peak area and reported as % of total run area and % of total metabolism. HM8 (oxidation) was detected only by LC-MS/MS in rat and dog	
Additional Information: The extent of metabolism of [^{14}C]valemetostat represented 6.3%, 5.6%, and 21.0% of the total radioactivity in human, dog and rat, respectively, over the 240 min incubation period. The main biotransformations observed in human and preclinical species were oxidation and *N*-demethylation. In human, oxidation was the major route of metabolism leading to HM1 and HM4, accounting for 29.4% and 24.8% of total metabolism, respectively, and representing the only quantifiable radio-metabolites in this species. Oxidation and *N*-demethylation were the most relevant routes observed in preclinical species. In rat, oxidation led to HM4 and to co-eluting HM6/HM7, accounting for 29.4% and 14.6% of total metabolism, respectively and also to minor metabolites HM1 and co-eluting HM2/HM3 which represented 9.5% and 6.4% of total metabolism, respectively. *N*-demethylation (leading to HM9) was another notable route, representing 18.4% of total metabolism. In dog, *N*-demethylation (HM9) and oxidation (co-eluting HM6/HM7) accounted for 22.8% and 26.9% of total metabolism at 240 min, respectively. HM5, a non-radiolabeled *N*-dealkylated derivative co-eluting with HM4, was observed in all species.	

11. 薬物動態試験： 推定代謝経路

本申請で該当する試験は実施していない。

12. 薬物動態試験： 薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.7.2 に記載した。

13. 薬物動態試験： 排泄

13.1 雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与及び単回静脈内投与したときの尿中及び糞中への放射能排泄

				Test article: [^{14}C]Valemetostat		
				Location in CTD: 4.2.2.5	**Attachment No.: 4.2.2.5-1, 4.2.2.5-2**	
Species	Dog/beagle					
Sex/number of animals	Male/3					
Feeding condition	Fasted					
Vehicle/formulation	Water for injection					
Method of administration	Single oral, intravenous					
Dose (mg/kg)	3					
Sample	Urine and feces					
Sampling time (d)	1, 2, 3, 4, 5, 7					
Radioactivity administered	1.075 MBq/kg					
Detection	^{14}C, radioactivity					
Analytical method	Liquid scintillation counting					
	Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)					
	Oral			Intravenous		
Sampling Time (d)	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total
0 − 1	5.5 ± 0.9	82.3 ± 3.6	87.8 ± 3.0	9.3 ± 0.3	65.2 ± 13.9	74.4 ± 13.7
0 − 2	5.8 ± 1.0	89.4 ± 2.2	95.2 ± 2.6	9.7 ± 0.4	88.1 ± 1.8	97.7 ± 1.8
0 − 3	5.9 ± 1.0	90.7 ± 0.7	96.6 ± 1.6	9.9 ± 0.5	89.5 ± 0.9	99.3 ± 0.8
0 − 4	5.9 ± 1.0	90.8 ± 0.7	96.7 ± 1.5	9.9 ± 0.5	89.7 ± 0.8	99.6 ± 0.8
0 − 5	5.9 ± 1.0	90.9 ± 0.7	96.8 ± 1.5	10.0 ± 0.5	89.8 ± 0.8	99.8 ± 0.8
0 − 7	6.0 ± 1.0	91.0 ± 0.6	97.0 ± 1.6	10.0 ± 0.5	89.9 ± 0.8	99.8 ± 0.8
Total Recovery (168 h)[a]			97.0 ± 1.6			99.8 ± 0.8

Results are represented as the mean ± standard deviation (n = 3).
[a] Total recovery included the residual radioactivity in cage washings at 168 h after administration (0.0 ± 0.1% of dose for oral administration and 0.0 ± 0.0% of dose for intravenous administration).

14. 薬物動態試験： 排泄：胆汁中

14.1 胆管カニューレを挿入した雄性イヌに［^{14}C］バレメトスタットを単回経口投与後の胆汁中への放射能排泄

		Test article: [^{14}C]Valemetostat
	Location in CTD: 4.2.2.4	**Attachment No.: 4.2.2.4-2**
Species	Dog/beagle	
Sex/number of animals	Male/n = 3	
Feeding condition	Fasted	
Vehicle/formulation	Water for injection	
Method of administration	Single oral	
Dose (mg/kg)	3	
Sample	Bile	
Radioactivity administered	6.45 MBq/kg	
Detection	^{14}C, radioactivity	
Analytical method	Liquid scintillation counting	
Sampling time (h)	8, 24	
	Cumulative excretion of radioactivity (% of dose)	
Sampling time (h)	Bile	
0 – 8	37.8 ± 12.2	
0 – 24	45.8 ± 10.8	

Results are represented as the mean ± standard deviation (n = 3).

15. 薬物動態試験： 薬物相互作用

2.7.2 に記載した。

16. 薬物動態試験： その他

本申請で該当する試験は実施していない。