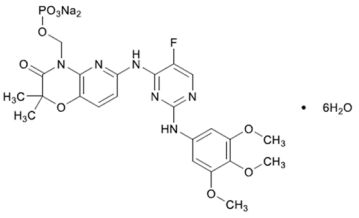
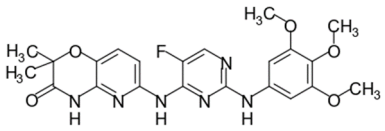
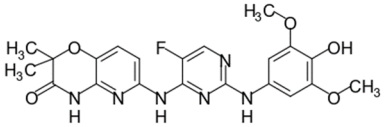
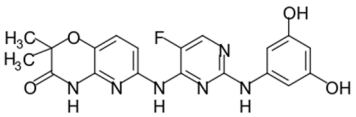
目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 5
2.6.4.1 まとめ 5
2.6.4.1.1 吸収 5
2.6.4.1.2 分布 5
2.6.4.1.3 代謝 6
2.6.4.1.4 排泄 7
2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用 7
2.6.4.2 分析法 9
2.6.4.2.1 ホスタマチニブ及び R406 の血漿中総濃度の測定 9
2.6.4.2.2 QWBA を用いた組織内濃度の測定 9
2.6.4.2.3 代謝試験における解析 9
2.6.4.3 吸収 11
2.6.4.3.1 *In vitro* における吸収評価 11
2.6.4.3.2 *In vivo* における吸収、速度論的パラメータ、生物学的同等性及びバイオアベイラビリティ 11
2.6.4.3.2.1 単回投与 12
2.6.4.3.2.2 反復投与 14
2.6.4.4 分布 17
2.6.4.4.1 蛋白結合率及び血球移行性 17
2.6.4.4.2 組織分布 17
2.6.4.4.3 胎盤通過性 18
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） 19
2.6.4.5.1 代謝経路 19
2.6.4.5.2 生体試料中の代謝物（血漿） 20
2.6.4.5.2.1 マウス 21
2.6.4.5.2.2 ラット 21
2.6.4.5.2.3 ウサギ 21
2.6.4.5.2.4 サル 22
2.6.4.5.2.5 ヒト 22
2.6.4.5.3 生体試料中代謝物（尿、糞及び胆汁） 22
2.6.4.5.3.1 マウス 24
2.6.4.5.3.2 ラット 24
2.6.4.5.3.3 ウサギ 24
2.6.4.5.3.4 サル 25
2.6.4.5.3.5 ヒト 25
2.6.4.5.4 *In vitro* 代謝 26
2.6.4.6 排泄 28

2.6.4.6.1 排泄経路と排泄率 28
2.6.4.6.2 胆汁排泄 28
2.6.4.6.3 乳汁排泄 29
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 30
2.6.4.7.1 代謝酵素阻害 30
2.6.4.7.1.1 CYP 阻害（可逆的） 30
2.6.4.7.1.2 CYP 阻害（時間依存的） 30
2.6.4.7.1.3 UGT 阻害 31
2.6.4.7.1.4 CYP 誘導 31
2.6.4.7.2 トランスポーター 33
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 34
2.6.4.9 考察及び結論 35
2.6.4.10 図表 37
2.6.4.11 参考文献 38

化合物一覧

略号・一般名	化学名	構造式	由来
R788 ホスタマチニブナトリウム水和物 R935788	Disodium (6-{[5-fluoro-2-(3,4,5-trimethoxyanilino)pyrimidin-4-yl]amino}-2,2-dimethyl-3-oxo-2,3-dihydro-4*H*-pyrido[3,2-*b*][1,4]oxazin-4-yl)methyl phosphate hexahydrate		原薬
R406 R940406	—		活性本体
R529 R949529	—		代謝物 R406 のパラ-O-脱メチル体
[redacted]			
R567 R949567	—		代謝物 （R406 の 3,5-ベンゼンジオール体）
ホスタマチニブカルシウム塩	—	—	R788 遊離酸のカルシウム塩

略号一覧

略号・一般名	化学名	構造式
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
$AUC_{0\text{-}24}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours	0～24 時間の血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0 to infinity	0～無限大時間の血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0 up to last quantifiable time point t	0～定量可能な最終時点（t）までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳がん耐性蛋白質
BDC	Bile duct cannulated	胆管カニューレ
bid	bis in die	1 日 2 回投与
Caco-2 細胞	Human Caucasian colon adenocarcinoma cells	ヒト結腸癌由来細胞株
CCK8	Cholecystokinin octapeptide	コレシストキニンオクタペプチド
CHO	Chinese Hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣細胞株
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CMC	Carboxymethylcellulose	カルボキシメチルセルロース
CSA	Cyclosporine A	シクロスポリン A
CYP	Cytochrome P450	シトクローム P450

略号・一般名	化学名	構造式
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
FDA	Food and Drug Administration	アメリカ食品医薬品局
GLP	Good laboratory practice	—
HEK293	Human embryonic kidney cell line 293	ヒト胎児腎細胞株 293
HPLC, LC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	Concentration giving 50% of maximum inhibitory activity	50%阻害濃度
Ki	Inhibition constant	阻害定数
K_I	Concentration of the inhibitor that yields a 50% rate of the maximum 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}	Maximum inactivation rate constant	最大不活性化速度定数
LOQ	Limits of quantification	定量限界
LSC	Liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数法
MATE	Multidrug and toxin extrusion	多剤及び毒素排出
MDR-MDCK	Multidrug-resistance Madin-Darby canine kidney	多剤排出トランスポーター発現イヌ腎臓尿細管上皮細胞株
MS	Mass spectrometry	質量分析法
MS/MS	Tandem mass spectrometry	タンデム質量分析法
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NMR	Nuclear magnetic resonance spectroscopy	核磁気共鳴分光法
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 cation transporter	有機カチオントランスポーター
PD	Pharmacodynamic	薬力学
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
qd	*quaque die* (once daily)	1 日 1 回投与
QWBA	Quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RAD	Radioactivity detection	放射能検出
$t_{1/2}$	Terminal elimination half-life	終末相の消失半減期
T_{max}	Time to reach maximum concentration or maximum response	最高濃度又は最大反応到達時間
TPGS	Tocopheryl polyethylene glycol succinate	トコフェリルポリエチレングリコールコハク酸
UDPGA	Uridine diphosphoglucuronic acid	ウリジンジホスホグルクロン酸
UGT	Uridine 5'-diphosphate-glucuronosyl transferase	UDP-グルクロン酸転移酵素
V_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態の分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

本項では、臨床開発を支援するために実施したホスタマチニブの薬物動態（吸収、分布、代謝、排泄及び薬物動態学的薬物相互作用）に関する非臨床試験成績を記載した。ホスタマチニブは、脾臓チロシンキナーゼ（Syk）阻害薬である R406 のメチレンリン酸プロドラッグである。

主に薬理試験及び毒性試験で用いた動物種の同一系統を用いて薬物動態試験を実施した。また、主にホスタマチニブ及び R406 について *in vitro* 試験を実施した。*In vivo* 試験で用いた R788 及びホスタマチニブカルシウム塩の懸濁投与液については、主要な毒性試験で用いた投与液と同様又は同一の媒体を用いて調製した。また、初期の *in vivo* 試験においては、R406 ベシル酸塩を有機溶媒に溶解して投与した。

必要に応じて、GLP 適用下で試験を実施し、すべての試験は Rigel、[redacted]又はキッセイ薬品工業により実施又は医薬品開発業務受託機関に委託した。R788 の非臨床薬物動態特性を評価するために実施した試験を薬物動態試験一覧（2.6.5.1）に示した。また、非臨床における反復投与時の曝露量については毒性試験の概要表（2.6.7.3）に示した。

2.6.4.1.1 吸収

In vivo 薬物動態試験において、R788 又はホスタマチニブカルシウム塩を経口投与したとき、ホスタマチニブの全身曝露量及び門脈曝露量はわずかであった。生体内において大部分のホスタマチニブは速やかに R406 に変換され、この変換には小腸の ALP が関与する可能性が示された。ラット又はサルにホスタマチニブカルシウム塩を経口投与したときの R406 の血漿中濃度は、ホスタマチニブ相当量の R406 を経口投与したときと比較して、高値又は同等であり、毒性試験及び薬理試験において十分な曝露が達成されたと考えられた。R788 又はホスタマチニブカルシウム塩を経口投与したときの R406 のバイオアベイラビリティは、39.7%～80.0%であった。サルにホスタマチニブカルシウム塩を経口投与したときの R406 のバイオアベイラビリティは 80.0%と高く、[^{14}C]R788 を経口投与したときに尿中及び胆汁中に回収された放射能は投与量の 73.5%であった。ヒトに R788 を経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティは 54.6%であった。

細胞単層膜を用いた *in vitro* 試験系で R406 の膜透過性を検討した。R406 の頂端側から側底側方向の膜透過係数（$P_{app\ A/B}$）は、MDR-MDCK 細胞及び Caco-2 細胞においてそれぞれ 9.60 及び 2.63～6.09×10^{-6} cm/s であり、良好な膜透過性を示した。

2.6.4.1.2 分布

In vitro 蛋白結合試験において、R406 のマウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトの血漿蛋白結合率はそれぞれ 98.6%、97.9%、99.5%、98.5%及び 98.3%であり、R406 の血漿蛋白質との結合率は高かった。[^{14}C]R406（100～4000 ng/mL）の精製ヒト血清アルブミン及び精製 α_1-酸性糖蛋白質に対する平均結合率は、それぞれ 96.3%及び 75.5%であった。*In vitro* 血球移行性試験において、ヒトの[^{14}C]R406 の血液/血漿中濃度比は 2.6 であり、[^{14}C]R406 は主に赤血球へ分布し、単球への分布はわずかであった。R406 の分布容積は、いずれの動物種においても 0.31～1.16 L/kg であり、R406 の血管外分布が示唆された。ヒトでは R406 の定常状態における分布容積は 256 L であった。

ラット QWBA 試験において、有色及びアルビノラットに[^{14}C]R788 を経口投与（20 mg/kg）したとき、いずれのラットにおいても、放射能はほとんどの組織で投与後 1 時間に最高濃度を示した。また、放射能は投与後 4 時間までに中枢神経系を除いた組織に広く分布し、投与後 24 時間に定量下限濃度未満まで低下した。一方、有色ラットにおいて、投与後 168 時間に眼（ブドウ膜）、肝臓及び小腸内容物に低濃度の放射能が検出された。投与後 168 時間の有色ラットのブドウ膜に放射能が検出されたことから、R406 及び/又は代謝物にはメラニン親和性があると考えられた。

2.6.4.1.3 代謝

精製ウシ ALP とヒト小腸ミクロソームによりホスタマチニブは速やかに R406 に変換された。マウス、ラット、ウサギ及びサルにおいて、R788 又はホスタマチニブカルシウム塩を経口投与したときの血漿中ホスタマチニブ濃度はいずれの動物種においても低値又は検出されなかったことから、肝ミクロソーム中のホスタマチニブの代謝安定性は検討しなかった。

マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトの肝ミクロソーム中で生成した主要な代謝物は、R406 のパラ-O-脱メチル体（R529）であった。この代謝に関与する主要なヒト CYP 分子種は CYP3A4 と同定された。マウス及びラットの肝ミクロソームにおける R406 の代謝及び R529 の生成には性差が認められ、*in vivo* 試験で観察された R406 の曝露量の性差と矛盾しない結果であった。一方、サル肝ミクロソームにおいては、R406 の代謝に性差は認められなかった。また、発現系ヒト UGT ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、主に UGT1A9 により R406 の N-グルクロン酸抱合体が生成された。

マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトに[^{14}C]R406 又は[^{14}C]R788 を経口投与したとき、いずれの血漿中においても R406 が主要な成分であり、血漿中に R406 の総曝露量の 10%を超える代謝物は認められなかった。すべての動物種において、血漿中の主要な代謝物は R529 のグルクロン酸抱合体であった。また、ラット、サル及びヒトの血漿中には、R406 の N-グルクロン酸抱合体、サル及びヒト血漿中には R529 の硫酸抱合体も認められた。

ラット及びサル胆汁中では、R529 のグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体、並びに R406 の N-グルクロン酸抱合体が主要な代謝物であった。サル及びヒト尿中では R406 の N-グルクロン酸抱合体が主要な代謝物であったが、マウス、ラット及びウサギ尿中では R529 のグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体が多く認められた。

サル及びヒト糞中の主要な代謝物は R406 の 3,5-ベンゼンジオール体（R567）であった。R567 はヒトの血漿及び尿、並びにサルの血漿、胆汁及び尿中には認められず、嫌気性条件下で腸内細菌の作用により R529 から生成される可能性が示唆された。一方、R567 はマウス、ラット及びウサギの糞中では認められず、ラット糞中で認められた主要な代謝物は R529 であった。また、マウス糞中では、2 種類の [redacted] が糞中の主要な代謝物であり、ウサギ糞中では R406 の [redacted] と推定される代謝物（*m/z* 871）が主要な代謝物であった。

以上の結果より、R406 の代謝はすべての動物種で類似しており、ヒト特異的代謝物は検出されなかった。すべての動物種において、R406 の主要な代謝経路は CYP によるパラ-O-脱メチル化であり、ラット、サル及びヒトにおいては N-グルクロン酸抱合も認められた。

2.6.4.1.4 排泄

マウス、ラット、ウサギ及びサルにおける R406 の CL は、それぞれ 73.5、16.9、1.99 及び 13.4 mL/min/kg であり、$t_{1/2}$ は、それぞれ 0.58、1.51、3.41 及び 3.09 時間であった。ヒトマスバランス試験において、R406 の CL/F は 22.6 L/h であり、$t_{1/2}$ は 12.8 時間であった。

ラットでは[^{14}C]R406 を用いて、マウス、ウサギ、サル及びヒトにおいては[^{14}C]R788 を用いて経口又は静脈内投与後の排泄経路を検討した。いずれの動物種及び投与経路においても放射能の糞中排泄が主要な排泄経路であった（投与量の 78.5%～84.4%）。尿中排泄率はヒトで最も高く（投与量の 19.3%）、その他の動物種では投与量の 3.1%～10.3%であった。胆管にカニューレを施したラット及びサルに経口投与したときの胆汁中排泄率は投与量のそれぞれ 46.7%及び 68.9%であった。ヒトマスバランス試験における放射能の総回収率は 192 時間までに 99.3%であり、ほとんどの放射能（97.9%）は投与後 144 時間までに回収された。すべての動物種における放射能の回収率は 89.3%以上であった。

以上の結果より、生体内で生成された R406 はほとんど代謝され、いずれの動物種においても代謝物は主に胆汁中に排泄され、わずかに尿中へも排泄されることが示された。R406 は尿中又は胆汁中にほとんど排泄されなかった。

2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用

R406 は主に CYP3A4 により代謝されることから、臨床薬物相互作用試験により、R406 の薬物動態に及ぼす CYP3A 阻害剤（ケトコナゾール及びベラパミル）の影響を検討した。強い CYP3A 阻害剤であるケトコナゾールとの併用投与により R406 の $AUC_{0-\infty}$及び C_{max} がそれぞれ 102%及び 37%上昇した。また、中等度の CYP3A 阻害剤であるベラパミルとの併用投与により、R406 の $AUC_{0-\infty}$及び C_{max} がそれぞれ 39%及び 6%上昇した。

ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、R406 は CYP3A に対して中等度の可逆的阻害作用を示した（Ki 値：12～13 μmol/L）。さらに、R406 が CYP3A に対する時間依存的阻害作用も有することが示された（K_I：1.0～2.3 μmol/L、k_{inact}：0.022～0.024 min^{-1}）。臨床薬物相互作用試験において、R788 との併用投与により、CYP3A 基質であるミダゾラムの AUC_{0-24} 及び C_{max} はそれぞれ 23%及び 9%上昇した。また、R788 とシンバスタチンの併用投与により、シンバスタチン酸の $AUC_{0-\infty}$及び C_{max} がそれぞれ 66%及び 83%上昇し、シンバスタチンの $AUC_{0-\infty}$及び C_{max} が 64%及び 113%上昇した。

ヒト肝細胞において、R406（3 及び 10 μmol/L）は、CYP2C8 活性に対し誘導作用を示し、10 μmol/L における誘導作用は陽性対照薬であるリファンピシンの 74.7%であった。しかしながら、臨床薬物相互作用試験において、R788 の併用投与により CYP2C8 基質であるピオグリタゾンの薬物動態に認められた影響はわずかであった（$AUC_{0-\infty}$は 18%上昇、C_{max} は 17%減少）。

ヒト肝ミクロソーム又は肝細胞を用いた *in vitro* 試験において、その他の CYP 分子種に対する R406 の影響を検討した結果、R406 による CYP2C8 及び CYP3A 以外の CYP の阻害又は誘導に起因した薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。また、ヒトで生成した R406 の N-グルクロン酸抱合体は、いずれの主要なヒト CYP 分子種に対しても阻害作用を示さなかった。

ヒト肝ミクロソーム及び発現系ヒト UGT1A1 ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、R406 は UGT1A1 の強い阻害薬であり、IC_{50} 値はそれぞれ 0.4 及び 0.5 μmol/L であった。しかし

ながら、臨床試験において、少数の被験者において非抱合型ビリルビン（UGT1A1 の内因性基質）の血漿中濃度に軽微な上昇が観察されたのみであったことから、R406 の UGT1A1 阻害に起因した薬物相互作用が生じる可能性は低いことが示唆された。

Caco-2 細胞単層膜を用いた検討において、R406 は P-gp の基質であるが、P-gp を介した[^{3}H]ジゴキシン輸送に対し阻害作用を示さなかった。一方、ホスタマチニブは P-gp を介した[^{3}H]ジゴキシン輸送に対し阻害作用を示し、IC_{50} 値は 3.2 μmol/L であった。臨床薬物相互作用試験において、R788 と P-gp 基質であるジゴキシンの併用投与により、ジゴキシンの AUC_{ss} 及び $C_{max,ss}$ はそれぞれ 37%及び 70%上昇した。

BCRP 発現膜ベシクルを用いた *in vitro* 試験により、ホスタマチニブ及び R406 は BCRP の基質ではないことが示された。しかしながら、ホスタマチニブ及び R406 は BCRP を介した[^{3}H]エストロン-3-サルフェートの輸送に対して強い阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 0.050 及び 0.031 μmol/L であった。臨床薬物相互作用試験において、R788 と BCRP 基質であるロスバスタチンの併用投与により、ロスバスタチンの $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} はそれぞれ 96%及び 88%上昇した。

トランスポーターを発現させた培養細胞又は卵母細胞を用いた *in vitro* 試験において、R406 は OCT2 の基質ではなく、OCT2 を介した[^{14}C]メトホルミン輸送に対して阻害作用を示さなかった。また、R406 は OAT1 及び OAT3 の基質ではなく、阻害作用を示さなかった。R406 は OATP1B1 の基質ではないが、OATP1B1 及び MRP2 に対して弱い阻害作用を示した（いずれも IC_{50} 値>40 μmol/L）。また、R406 は OATP1B3 の基質ではなく、阻害作用を示さなかった（1 μmol/L で 22%阻害）。R406 は MATE1 及び MATE2-K を介した[^{14}C]メトホルミン輸送に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 2.29 及び 0.195 μmol/L であった。MATE1 阻害については、R 値が国内薬物相互作用ガイドラインのカットオフ基準を下回った。MATE2-K 阻害については、R 値がカットオフ基準を超えたが、臨床試験における MATE2-K 基質との併用投与時の安全性情報から、MATE2-K 阻害による安全性上の懸念は認められなかった。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 ホスタマチニブ及び R406 の血漿中総濃度の測定

バリデーション試験を実施した逆相液体クロマトグラフィータンデム質量分析法（LC-MS/MS）を用いて、マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿中のホスタマチニブ及び R406 濃度を測定した。R406 及びホスタマチニブの内標準物質として安定同位体で標識した R406（R940406-d_9）、R926109 又はイルベサルタンを使用した。分析法が複数存在するが、試験で使用した分析法は試験報告書に明記した。

GLP 適用下で実施した毒性試験のトキシコキネティクス分析のための血漿中濃度分析法において、ホスタマチニブの定量下限濃度はラット、ウサギ及びサル血漿でいずれも 1.0 ng/mL であった。また、R406 の定量下限濃度はマウス、ラット、ウサギ及びサル血漿でいずれも 1.0 ng/mL であり、幼若ウサギ血漿では 18.8 ng/mL（0.0400 µmol/L）であった。血漿中濃度分析法は適切にバリデートされ、管理されており、これらの分析法は EMA 及び FDA のガイドラインの要件を満たしていた。ホスタマチニブは、ヒト全血又は血漿中において、室温で 2 時間保管後でも R406 に変換しないことから、R406 の測定値は、試料採取時点の生体内の血漿（又は血液）中濃度を示していると考えられた。マウス、ラット、ウサギ及びサル血漿中において、ホスタマチニブ及び R406 は室温で少なくとも 4 時間安定であった。

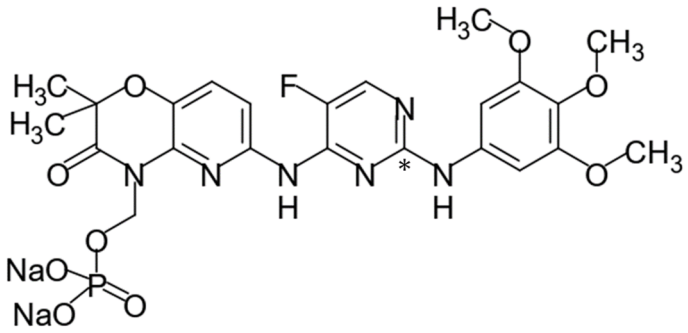
毒性試験で使用した動物種について、血漿中（–70°C）で少なくとも 48 日間のホスタマチニブ及び R406 の安定性が確認された。

2.6.4.2.2 QWBA を用いた組織内濃度の測定

ラットの QWBA 試験では、全身切片中の組織中に存在する放射能を蛍光体イメージング解析により測定した。定量限界は使用した標識体の比放射能に依存し、[^{14}C]R788 を経口投与したときの定量範囲の上限及び下限はそれぞれ 922.914 及び 0.107 µg equiv./g であった。

2.6.4.2.3 代謝試験における解析

分布、代謝及び排泄試験には、[^{14}C]R406（放射化学的純度 98%以上、比放射能 122 µCi/mg）及び[^{14}C]R788（放射化学的純度 98.0%以上、比放射能 85.3 µCi/mg）を用いた。[^{14}C]R788 の放射性炭素（^{14}C）による標識位置を図 2.6.4.2.3-1 に示す。また、[^{14}C]R406 は[^{14}C]R788 と同じ位置を ^{14}C により標識したものを使用した。



*: ^{14}C 標識位置

図 2.6.4.2.3-1　　[^{14}C]R788 の構造式

代謝物プロファイリング及び構造解析のための試験を表 2.6.4.2.3-1 に示す。

表 2.6.4.2.3-1　　代謝物プロファイリング及び構造解析試験一覧

Location Vol./Report	Species	Analytical Methods	Purpose for Analysis
4.2.2.4.1/N-935788-0025 4.2.2.4.2/N0940406-0020 4.2.2.4.4/N-935788-0024 4.2.2.6.2/N-940406-0016	*in vitro,* mouse, rat, monkey, human	LC-MS LC-MS/MS	Metabolic profiling Metabolite structural elucidation
4.2.2.4.7/N-935788-0018 4.2.2.4.10/R935788[redacted]001	mouse	LSC LC-MS LC-MS/MS LC-RAD-MS	Total radioactivity measurements Metabolic profiling Structural elucidation
4.2.2.4.9/N-940406-0019 4.2.2.4.10/R935788[redacted]001	rat	LSC LC-RAD-MS	Total radioactivity measurement Metabolic profiling Structural elucidation
4.2.2.4.10/R935788[redacted]001	rabbit	LSC LC-RAD-MS	Metabolic profiling
4.2.2.4.11/N-935788-0023 4.2.2.5.4/N-935788-0037 4.2.2.4.5/N-935788-0038	monkey	LSC LC-RAD LC-MS LC/MS/MS	Total radioactivity measurements Metabolic profiling Structural elucidation
4.2.2.4.5/N-935788-0038 4.2.2.4.13/N-935788-0015 4.2.2.4-14/N-935788-0036 5.3.3.1.4/C788-014	human	LSC LC-RAD LC-MS LC-MS/MS NMR	Total radioactivity measurement Metabolic profiling Structural elucidation

LC: HPLC, LSC: Liquid scintillation counting, MS: Mass spectrometry, MS/MS: Tandem mass spectrometry, NMR: Nuclear magnetic resonance spectroscopy, RAD: Radioactivity detection

2.6.4.3 吸収

R788 又は R406 の吸収に関する非臨床薬物動態試験の一覧を 2.6.5.1 に示した。

2.6.4.3.1 *In vitro* における吸収評価

添付資料 4.2.2.2.1、4.2.2.2.2

ALP によるホスタマチニブの加水分解に関する検討（2.6.4.5.4）及びラットに R788 を経口投与したときに門脈から採取した血漿中ホスタマチニブ濃度が定量下限未満（< 2 ng/mL）であったこと（2.6.4.3.2.1.2）より、ホスタマチニブが小腸で R406 に変換され、膜透過性の高い R406 が吸収されると考えられた。

細胞単層膜を用いて R406 の膜透過性を検討した。MDR-MDCK 細胞を用いた検討において、P-gp 阻害薬である CSA 存在及び非存在下における R406（10 µmol/L）の双方向の膜透過係数を測定した。R406 の見かけの膜透過係数は双方向で高く（8.09～9.60×10^{-6} cm/sec）、排出比は 0.8 であった。CSA の添加は R406 の排出比に影響を及ぼさず（排出比：1.0）、MDR-MDCK 細胞を用いた検討から、R406 の膜透過において P-gp を介した排出はほとんどないことが示唆された。

Caco-2 細胞単層膜を用いた検討において、頂端側から側底側方向の R406 の見かけの膜透過係数は、0.1、1.0 及び 3.0 µmol/L でそれぞれ 5.02、6.09 及び 2.63×10^{-6} cm/sec であり、中等度から高い膜透過性を有し、排出比はそれぞれ 7.2、5.0 及び 4.1 であった。P-gp 阻害薬であるキニジン及びケトコナゾール存在下では R406（1.0 µmol/L）の排出比（3.9）がそれぞれ 2.3 及び 1.6 に低下し、R406 は P-gp の基質であると考えられた。一方、R406 は P-gp を介したジゴキシン輸送に対し阻害作用を示さなかった。

R406 が低水溶性であるため、P-gp に対する R406 の Michaelis-Menten 定数（Km 値）を正確に算出することができなかった。また、ホスタマチニブの P-gp 基質性については評価していないが、ホスタマチニブは P-gp を介したジゴキシン輸送に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値は 3.2 µmol/L であった。

以上の結果より、R406 は細胞単層膜を用いた *in vitro* 試験において中等度から高い膜透過性を有すると考えられた。また、R406 は Caco-2 細胞を用いた試験では P-gp の基質であると考えられたが、MDR-MDCK 細胞を用いた試験では基質ではなかった。これらの試験において異なる結果が認められた理由は明らかではないが、Caco-2 細胞を用いた試験では 0.1～3.0 µmol/L までの R406 濃度で評価し、R406 濃度の増加に伴う排出比の減少が認められ、MDR-MDCK 細胞を用いた試験ではそれより高い 10 µmol/L で評価したため、これらの試験で用いた R406 濃度に起因した可能性が考えられる。

2.6.4.3.2 *In vivo* における吸収、速度論的パラメータ、生物学的同等性及びバイオアベイラビリティ

R788 又はホスタマチニブカルシウム塩をマウス、ラット、ウサギ及びサルに経口投与したとき、ホスタマチニブはサル血漿中において散発的かつ低濃度で検出されたが、マウス、ラット及びウサギ血漿中には検出されなかった。また、すべての動物種において経口投与後、速やかに血漿中に R406 が検出されたことから、ホスタマチニブは生体内で速やかに R406 に変換されると考えられた。胆管にカニューレを施したサルに[^{14}C]R788 を経口投与したとき、放射能

の 73.5%が尿中及び胆汁中に回収され、投与放射能の消化管からの吸収は良好であると考えられた。また、マウス、ラット、ウサギ及びサルにおいて、投与した R788 又はホスタマチニブカルシウム塩の 39.7%～80.0%が R406 として血液中に到達することが示された。

2.6.4.3.2.1 単回投与

マウス、ラット、ウサギ及びサルにホスタマチニブカルシウム塩又は R406 を経口投与、若しくは R406 を静脈内投与したときの R406 の薬物動態を検討し、R406 の薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.1-1 に示した。

表 2.6.4.3.2.1-1　マウス、ラット、ウサギ及びサルに R788、ホスタマチニブカルシウム塩又は R406 を単回経口投与、若しくは R406 を単回静脈内投与したときの R406 の薬物動態パラメータ

Route of Administration	PK Parameters of R406	Species			
		Mouse [a]	Rat [b]	Rabbit [b]	Monkey [b]
oral: fostamatinib [c, h]	Dose (mg/kg) [f]	10	5	6.25	15
	T_{max} (h)	0.25	0.69	2.0	1.75
	C_{max} (ng/mL)	2090	1090	2580	2960
	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	1360	2920	20800	15400
	% R406 available in systemic circulation	60.1	57.0 [g]	39.7	80.0 [g]
oral: R406 [d, h]	Dose (mg/kg) [f]	—	5	—	15
	T_{max} (h)	—	1.13	—	2.08
	C_{max} (ng/mL)	—	502	—	2270
	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	—	2120	—	17100
	% R406 available in systemic circulation	—	41.5	—	~88 [h]
iv: R406 [e]	Dose (mg/kg) [f]	1	1	1	1
	CL (mL/min/kg)	73.5	16.9	1.99	13.4
	V_{ss} (L/kg)	0.96	1.10	0.32	1.16
	$t_{½}$ (h)	0.58	1.51	3.41	3.09

[a] R788 was dosed.
[b] Fostamatinib Ca salt was dosed.
[c] Fostamatinib in 0.1% or 0.25% CMC suspension was used (Reports No.: [redacted]0205, [redacted]0003, P-935788-0047, and P-935788-0046 for female mice, male rats, female rabbits and mixed gender monkeys, respectively).
[d] R406 besylate in TPGS solutions were used (Reports No.: [redacted]0223 and P-935788-0046 for male rats and mixed gender monkeys, respectively).
[e] R406 in 100% PEG400 solution was dosed intravenously (Reports No.: [redacted]0205, [redacted]0223, P-935788-0047, and N-940406-0017 for female mice, male rats, female rabbits, and female monkeys, respectively).
[f] Dose expressed as R406 free base equivalent.
[g] % available values were calculated based on cross-study comparisons.
[h] Data reported here for monkeys are averaged male and female values.

2.6.4.3.2.1.1 マウス

添付資料 4.2.2.2.3、4.2.2.2.4

雌マウスに R788 の CMC 懸濁液を経口投与（10 及び 50 mg/kg）したとき、血漿中にホスタマチニブは認められず、R406 のみ検出された。雌雄マウスに R788 の CMC 懸濁液を経口投与（250、450、600 及び 750 mg/kg）したとき、投与後速やかに R406 が血漿中に検出され、投与後 24 時間まで血漿中に R406 が認められた。R406 の曝露量（$AUC_{0-\infty}$及び C_{max}）は、雌雄ともに 600 mg/kg まで R788 の用量比に比例して増加した。一方、600 mg/kg を超える用量では、雌雄ともに R788 の用量比に比例した $AUC_{0-\infty}$及び C_{max} のさらなる増加は認められなかった。250 及び 450 mg/kg では、雄マウスの R406 の曝露量は雌マウスよりも高かったが、600 及び 750 mg/kg では雌雄で同程度であった。雌マウスに R788 を経口投与（10 mg/kg）したときの

R406 のバイオアベイラビリティは 60.1%であった。

2.6.4.3.2.1.2 ラット

添付資料 4.2.2.2.5、4.2.2.2.6、4.2.2.2.8、4.2.2.2.9

雄ラットにホスタマチニブカルシウム塩の CMC 懸濁液を経口投与（5 mg/kg）したとき、R406 の TPGS 溶液を経口投与（5 mg/kg）したときと比較して R406 の曝露量が高くなり、$AUC_{0-\infty}$及び C_{max} はそれぞれ 52%及び 34%高かった。これらの結果から、生体内におけるホスタマチニブの R406 への速やかな変換が示唆された。雄ラットにホスタマチニブカルシウム塩を経口投与（5 及び 50 mg/kg）したとき、用量比を上回る R406 曝露量の増加が認められた。また、ホスタマチニブカルシウム塩を経口投与後にホスタマチニブの全身曝露はほとんど認められなかった。門脈又は頸静脈にカニューレを挿入したラットに R788 を経口投与（4 mg/kg）し、ホスタマチニブ及び R406 の血漿中濃度推移を検討した結果、門脈及び頸静脈血漿中にホスタマチニブは認められず、ホスタマチニブは経口投与後 1 時間以内に消化管内で速やかに R406 へ変換されると考えられた。雄ラットにホスタマチニブカルシウム塩を経口投与（5 mg/kg）したときの R406 のバイオアベイラビリティは 57.0%であった。

2.6.4.3.2.1.3 ウサギ

添付資料 4.2.2.2.11

雌ウサギにホスタマチニブカルシウム塩の CMC 懸濁液を経口投与（6.25 及び 40 mg/kg）したとき、血漿中 R406 濃度は速やかに上昇した。R406 の曝露量は投与量の増加に伴い増加した。C_{max} は投与量に比例して増加したが、$AUC_{0-\infty}$は用量比を上回る増加を示した。経口投与後の血漿中にホスタマチニブが検出されなかったことから、血漿中の R406 は吸収前にホスタマチニブから変換された R406 が吸収されたものであると考えられた。雌ウサギにホスタマチニブカルシウム塩を経口投与（6.25 mg/kg）したときの R406 のバイオアベイラビリティは 39.7%であった。

2.6.4.3.2.1.4 サル

添付資料 4.2.2.2.12、4.2.2.2.13

雌雄サルに R406 の TPGS 溶液を経口投与（15 mg/kg）したときの R406 の曝露量は雌雄で同程度であったが、ホスタマチニブカルシウム塩を経口投与（15 mg/kg）したときの雌サルの R406 の曝露量は雄サルよりも高値であった。毒性試験のトキシコキネティクス結果では、すべての用量の R788 投与群において投与 1 日目の R406 曝露量が雌雄サルで同様であったことから、ホスタマチニブカルシウム塩を経口投与後の曝露量の差異は性差ではない可能性が考えられた。また、このような曝露量の差異は、試験に用いたサルの数が限られていたこと、並びに雄サルで曝露量のバラつきが大きかったことに起因すると考えられた。ホスタマチニブカルシウム塩を経口投与したときの血漿中ホスタマチニブ濃度は低く、かつ散発的に検出されたことから、血漿中の R406 は吸収前にホスタマチニブから変換された R406 が吸収されたものであると考えられた。サルにホスタマチニブカルシウム塩を経口投与したときの R406 のバイオアベイラビリティは 80.0%（雌雄の平均値）であった。

2.6.4.3.2.2 反復投与

R788 を反復投与したときの薬物動態について、毒性試験のトキシコキネティクス結果を用いて考察した。いずれの用量においても、ホスタマチニブの血漿中濃度がほとんどの時点で定量下限濃度未満であったことから、ホスタマチニブの R406 への速やかな変換が示唆された。

2.6.4.3.2.2.1 マウス

添付資料 4.2.3.2.2

マウスに R788 を 1 日 2 回 13 週間反復経口投与（5、15、50 及び 150 mg/kg）したときの R406 の薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.2.1-1 に示した。マウスに R788 を反復経口投与したとき、R406 の曝露量には用量依存的な増加が認められた。初回投与後、R406 濃度は速やかに C_{max} に到達し、T_{max} は 1 及び 2 時間であった。投与 1 日目及び 91 日目の 150 mg/kg 群の C_{max} は 8.6～12.7 µg/mL であった。50 mg/kg までの用量では、用量比を上回る曝露量の増加が認められたが、150 mg/kg では用量の増加に比例して曝露量が増加した。投与 91 日目における曝露量の蓄積比は、雄マウスで 1.1～2.6、雌マウスで 1.1～1.5 であった。マウスでは $AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} に性差が認められ、雄マウスでは 50 mg/kg までの用量の群において投与 1 日目及び 91 日目の C_{max} が高く、雌マウスでは 150 mg/kg 群において両試験日の C_{max} が高かった。また、雄マウスでは両試験日においてすべての $AUC_{0\text{-}24}$ が高かった。投与 1 日目の雄の $AUC_{0\text{-}24}$ は雌の 1.2～7.3 倍であり、投与 91 日目の雄の $AUC_{0\text{-}24}$ は雌の 1.0～13.0 倍であった。この性差は、雌マウスの肝ミクロソームが雄マウスの 5.4 倍の速度で R406 を代謝したことから、R406 の肝代謝の性差に起因すると考えられた。

表 2.6.4.3.2.2.1-1 マウスに R788 を 1 日 2 回 13 週間反復経口投与したときの R406 の薬物動態パラメータ

Dose	C_{max} (ng/mL)		T_{max} (h) [a]		$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Day 1						
5 mg/kg *bid*	318	44	1	1	1296	303
15 mg/kg *bid*	1050	188	1	1	7274	990
50 mg/kg *bid*	6930	4147	1	1	45036	34244
150 mg/kg *bid*	10990	14008	1	1	135395	117508
Day 91						
5 mg/kg *bid*	537	48	1	1	1747	434
15 mg/kg *bid*	2326	220	1	1	18769	1441
50 mg/kg *bid*	6460	2960	1	1	56063	36944
150 mg/kg *bid*	8587	12664	2	1	152592	148524

Report No. G-935788-0010

[a] T_{max} expressed as time of occurrence from first dose.

2.6.4.3.2.2.2 ラット

添付資料 4.2.3.2.6

ラットに R788 を 1 日 2 回 26 週間反復経口投与（2.5、8.5 及び 30 mg/kg）したときの R406 の薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.2.2-1 に示した。ラットに R788 を反復経口投与したとき、R406 濃度は速やかに C_{max} に到達し（1 回目又は 2 回目の投与から 2 時間以内）、その後 R406 濃度は速やかに低下した。雌雄ラットにおいて、いずれも投与量の増加に伴う R406 の $AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} の増加が認められた。$AUC_{0\text{-}24}$ では用量比を上回る増加が認められた。雌ラットの R406 の曝露量は雄ラットの約 2 倍であった。この性差は、雌ラットの肝ミクロソームが雄ラットよ

りも 3.9 倍遅い速度で R406 を代謝することから、雌ラットの R406 代謝速度が遅いことに起因すると考えられた。投与 182 日目における曝露量の蓄積率は、雄ラットでは 1.3～1.9、雌ラットでは 1.0～2.3 であった。

表 2.6.4.3.2.2.2-1 ラットに R788 を 1 日 2 回 26 週間反復経口投与したときの R406 の薬物動態パラメータ

Dose	C_{max} (ng/mL)		T_{max} (h)		AUC_{0-24} (ng•h/mL)	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Day 1						
2.5 mg/kg *bid*	202	332	8.0 [a]	8.0 [a]	1382	2185
8.5 mg/kg *bid*	1130	1940	8.0 [a]	8.0 [a]	8155	14582
30 mg/kg *bid*	6640	9130	8.0 [a]	8.0 [a]	49366	113685
Day 182						
2.5 mg/kg *bid*	291	540	8.0 [a]	8.0 [a]	2648	4959
8.5 mg/kg *bid*	1410	2900	8.0 [a]	8.0 [a]	11738	28956
15 mg/kg *bid* [b]	—	6160	—	8.0 [a]	—	55676
20 mg/kg *bid* [b]	4270	—	8.0 [a]	—	41832	—

Report No. G-935788-0003

[a] 8 hour is 2 hour after the second daily dose was administered.

[b] High dose males and females had their dose level decreased before Day 28 from 30 mg/kg *bid* to 20 and 15 mg/kg *bid*, respectively.

2.6.4.3.2.2.3 ウサギ

添付資料 4.2.3.5.2.4

妊娠ウサギに R788 を 1 日 2 回、妊娠 7 日目から 19 日目まで 13 日間反復経口投与（5、11 及び 25 mg/kg）したときの R406 の薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.2.3-1 に示した。妊娠ウサギに R788 を反復経口投与したとき、投与 13 日目に R406 の AUC_{0-24} 及び C_{max} に用量依存的な増加が認められ、25 mg/kg 投与群において、R406 の AUC_{0-24} 及び C_{max} はそれぞれ 248369 ng•h/mL 及び 26901 ng/mL であった。曝露量はほぼ投与量の増加に比例して増加し、投与 13 日目における曝露量の蓄積率は 1.0～1.6 であった。

表 2.6.4.3.2.2.3-1 ウサギに R788 を 1 日 2 回、妊娠 7 日目から 19 日目まで 13 日間反復経口投与したときの R406 の薬物動態パラメータ

Dose	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	AUC_{0-24} (ng•h/mL)
Day 7			
5 mg/kg *bid*	3985	6.5	36613
11 mg/kg *bid*	8825	3.3	92919
25 mg/kg *bid*	19121	3.0	161095
Day 19			
5 mg/kg *bid*	4336	6.3	38228
11 mg/kg *bid*	9663	7.3	111105
25 mg/kg *bid*	26901	5.0	248369

Report No. G-935788-0006

2.6.4.3.2.2.4 サル

添付資料 4.2.3.2.8

サルに R788 を 1 日 2 回 39 週間反復経口投与（2.5、8.5 及び 30 mg/kg）したときの R406 の薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.2.2.4-1 に示した。サルに R788 を反復経口投与したとき、R406 は速やかに（2 時間以内）C_{max} に到達し、その後、R406 濃度は速やかに低下した。雌雄サルにおいて、いずれも R406 の AUC_{0-24} 及び C_{max} の用量依存的な増加が認められた。AUC_{0-24} は、182 日目までは用量比を上回る増加が認められたが、273 日目には両性において用量の増加にほぼ比例した増加が認められた。高用量群の雌雄サルでは、273 日目の AUC_{0-24} 及び C_{max} が 182 日目よりも低かった。1 日目では R406 の曝露量に明らかな性差は認められなかったが、182 日目及び 273 日目では、雌サルの C_{max} 及び AUC_{0-24} が雄サルよりもわずかに高かった。サルにおいて 1 日 2 回 273 日間反復投与による R406 の蓄積性は認められなかった。

表 2.6.4.3.2.2.4-1 サルに R788 を 1 日 2 回 39 週間反復経口投与したときの R406 の薬物動態パラメータ

Dose	C_{max} (ng/mL)		T_{max} (h) [a]		AUC_{0-24} (ng•h/mL)	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Day 1						
2.5 mg/kg *bid*	331	407	1.7	1.1	1902	2095
8.5 mg/kg *bid*	2026	2044	2.0	1.9	12328	14586
30 mg/kg *bid*	4410	5209	2.1	1.7	36819	42471
Day 182						
2.5 mg/kg *bid*	296	481	1.3	1.0	1632	2378
8.5 mg/kg *bid*	1709	2350	1.8	1.3	11602	11977
17 mg/kg *bid* [c]	2792	3825	2.0	1.5	23389	30953
Day 273						
2.5 mg/kg *bid*	318	432	1.3	1.3	1770	2378
8.5 mg/kg *bid*	1422	1613	1.3	1.0	9853	10251
17 mg/kg *bid* [b]	1549	2049	2.0	1.8	11472	16547

Report No. G-935788-0005

[a] T_{max} expressed as time of occurrence from most recent dose, whether first or second doses.

[b] High dose males and females had their dose level decreased after 13 Weeks of treatment.

2.6.4.4 分布

ホスタマチニブ又は R406 の分布に関する非臨床薬物動態試験の概略を 2.6.5.1 に示した。また、*in vivo* 試験結果から、マウス、ラット、ウサギ及びサルにおける R406 の分布容積は 0.32～1.16 L/kg であった（表 2.6.4.3.2.1-1）。

2.6.4.4.1 蛋白結合率及び血球移行性

添付資料 4.2.2.3.1、4.2.2.3.2、4.2.2.3.3

R406 の *in vitro* 血漿蛋白結合率は、R406 を用いて平衡透析法により検討した。マウス、ラット、ウサギ及びサル血漿において、R406 の血漿蛋白結合率は高く、ヒト血漿蛋白結合率と同程度であった（表 2.6.4.4.1-1）。

表 2.6.4.4.1-1　　R406 の血漿蛋白結合率

R406 Concentration	Mouse	Rat	Rabbit	Monkey		Human
				Male	Female	
100 ng/mL	99.2	98.1	99.5	98.5	98.6	98.4
1000 ng/mL	99.0	98.1	99.6	98.3	98.5	98.2
4000 ng/mL	—	—	99.6	—	—	98.3
10000 ng/mL	—	97.6	99.6	98.3	98.3	—
20000 ng/mL	97.7	—	—	—	—	—
40000 ng/mL	—	—	99.4	—	—	—
Mean	98.6	97.9	99.5	98.4	98.5	98.3

Report No.: N-935788-0020

精製ヒト血清アルブミン及び精製 α_1-酸性糖蛋白質における[^{14}C]R406 の蛋白結合率を平衡透析法により検討した。[^{14}C]R406（100～4000 ng/mL）の精製ヒト血清アルブミン及び精製 α_1-酸性糖蛋白質に対する結合率はそれぞれ 96.3%及び 75.5%であった。

ヒト血液を用いた *in vitro* 試験により血球移行率を検討した。[^{14}C]R406 はヒト赤血球に分布し、血液/血漿中濃度比は低濃度（50 及び 500 ng/mL）において 2.6 であったが、最高濃度（2000 ng/mL）において血液/血漿中濃度比は 1.9 であり、血球移行性に飽和が認められた。[^{14}C]R406 の赤血球及び単球への分布が認められたが、主に赤血球に分布し、単球への分布はわずかであった。さらに R406 の血球への分布は可逆的であり（*in vitro*）、血球とヒト血漿とのインキュベーションを繰り返すことで赤血球及び単球に分布した放射能の 99.9%が回収された。

2.6.4.4.2 組織分布

添付資料 4.2.2.3.4

雄のアルビノラット及び有色ラットに[^{14}C]R788 を経口投与（20 mg/kg）し、QWBA により放射能の組織分布を検討した。アルビノラット及び有色ラットにおいて、投与放射能は投与後 4 時間までに中枢神経系を除いた組織に広く分布した。ほとんどの組織において、投与後 1 時間に最高放射能濃度が認められ、その後、組織中放射能濃度は時間とともに低下し、投与後 24 時間までにほとんどの組織中濃度は定量下限濃度未満であった。組織中放射能濃度はアルビノラットの方が高い傾向であったが、有色ラットの方が試験に用いた例数が多く（アルビノラット：有色ラット= 3：6)、より多くの時点のデータが得られたため、有色ラットの結果について考察した。有色ラットにおいて、小腸（53.8 µg equiv./g）、肝臓（11.5 µg equiv./g）、盲腸（9.12 µg equiv./g）、白色脂肪（7.59 µg equiv./g）、眼（ブドウ膜）（7.38 µg equiv./g)、腎皮質

（6.42 µg equiv./g）及び膀胱（5.93 µg equiv./g）に 5 µg equiv./g 超の最高放射能濃度が認められた。有色ラットにおいて、消化管内容物（32.1～3410 µg equiv./g）、胆汁（157 µg equiv./g）及び膀胱内容物（106 µg equiv./g）に高濃度の放射能が認められ、胆汁排泄及び腎排泄が消失経路であることが示唆された。血液中放射能濃度が最も高かったのは投与後 1 時間（2.79 µg equiv./g）であり、投与後 8 時間には 0.240 µg equiv./g に低下し、投与後 24 時間までには BQL となった。中枢神経系組織中の濃度は、投与後 1 時間を除き BQL（< 0.107 µg equiv./g）であった。投与後 168 時間では、眼（ブドウ膜）（0.570 µg equiv./g)、肝臓（0.246 µg equiv./g）及び小腸内容物（0.159 µg equiv./g）のみに測定可能な放射能が認められ、小腸内容物の放射能は排泄物の摂取に由来するものと考えられた。投与後 168 時間のブドウ膜に放射能が検出されたことから、R406 及び/又は代謝物にはメラニン親和性があると考えられた。

2.6.4.4.3 胎盤通過性

添付資料 4.2.3.5.2.3、4.2.3.5.2.4

R406 の胎盤通過性はラット及びウサギの生殖発生毒性試験において検討し、いずれの動物種においても、母動物から胎児への R406 の移行が認められた。ラットに R788 を 1 日 2 回（5、12.5 及び 25 mg/kg/日）、妊娠 6 日目～17 日目まで 12 日間反復経口投与後、さらに妊娠 21 日目に追加投与したとき、最高用量群（25 mg/kg/日）の投与後 1 時間の母動物及び胎児の血漿中 R406 濃度はそれぞれ 1610 及び 206 ng/mL であった。全投与群における母動物/胎児血漿中濃度比は 4.9～10.5 であった。ウサギの生殖発生毒性試験の最高用量（25 mg/kg/日）において、ウサギに R788 を 1 日 2 回（10、22 及び 50 mg/kg/日）、妊娠 7 日目から 19 日目まで 13 日間反復経口投与後、さらに妊娠 29 日目に追加投与したとき、最高用量群（50 mg/kg/日）の投与後 1 時間の母動物及び胎児の血漿中 R406 濃度はそれぞれ 3703 及び 1070 ng/mL であった。いずれの投与群においても母動物の血漿中 R406 濃度は胎児と同等、若しくは胎児よりも高く、母動物/胎児血漿中濃度比は 0.9～14.8 であった。

2.6.4.5 代謝（動物種間の比較）

R788 又は R406 の代謝に関する非臨床薬物動態試験の概略を 2.6.5.1 に示した。

2.6.4.5.1 代謝経路

添付資料 4.2.2.4.9、4.2.2.4.10、4.2.2.4.15、4.2.2.5.4、5.3.3.1.4

動物及びヒトにおいて確認された R788 の代謝物の化学構造を図 2.6.4.5.1-1 に示した。

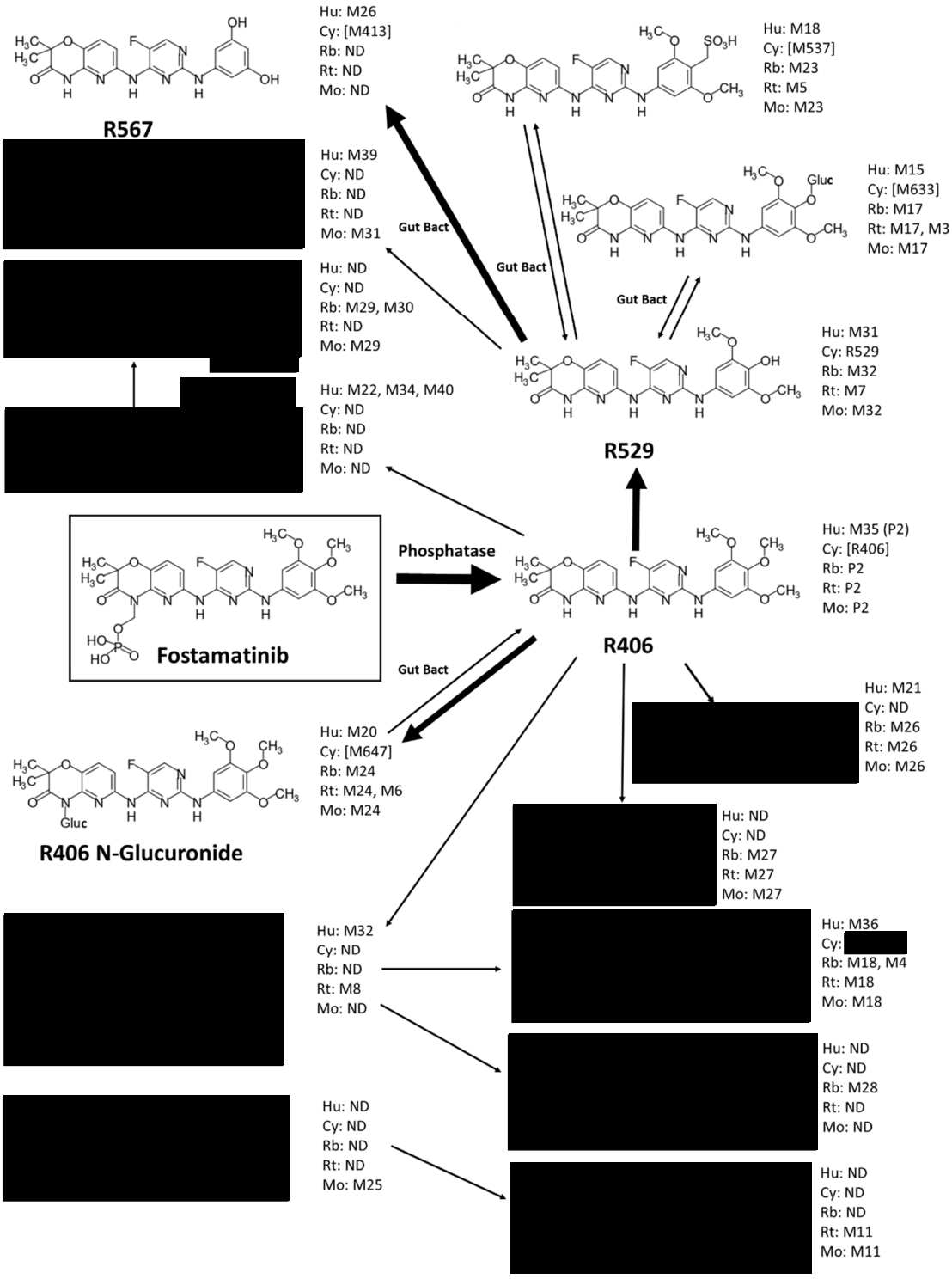


図 2.6.4.5.1-1　　ホスタマチニブの推定代謝経路

Hu: human, Cy: cynomolgus monkey, Rb: rabbit, Rt: rat, Mo: mouse

マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおいて、ホスタマチニブから変換された R406 は酸化反応及び抱合反応により大部分が代謝された。放射性標識体を用いた試験において、血漿、胆汁、尿及び糞中に少なくとも 30 種類の代謝物が検出されたが、R406 の主要な代謝経路はパラ-O-脱メチル化（ヒトでは主に CYP3A4 が関与）及び N-グルクロン酸抱合化（ヒトでは主に UGT1A9 が関与）であった。

マウスにおいて、尿中の主要な代謝物は R406 のパラ-O-脱メチル体（R529）のグルクロン酸抱合体（Mo M17）及び R406 の [redacted]（Mo M11）であり、糞中の主要な代謝物は R406 の [redacted]（Mo M26）であった。ラットにおいて、尿及び糞中の主要な代謝物はそれぞれ R529 のグルクロン酸抱合体（Rt M3）及び R529（Rt M7）であった。ウサギにおいて、尿及び糞中の主要な代謝物はそれぞれ R529 のグルクロン酸抱合体（Rb M17）及び R406 の [redacted] と推定される代謝物（*m/z* 871、Rb M29 及び M30）であった。サルにおいて、胆汁及び尿中の主要な代謝物は R529 のグルクロン酸抱合体（Cy [M633]）及び硫酸抱合体（Cy [M537]）であった。一方、糞中の主要な代謝物は 3,5 ベンゼンジオール体（R567、Cy [M413]）であった [1)]。ヒトの尿中には主に R406 の N-グルクロン酸抱合体（Hu M20）が存在し、糞中には主に R406（Hu M35）、及び R567（Hu M26）が存在した [2)]。R406 の N-グルクロン酸抱合体は、R406 の N-ジメチル-3-オキソ-5-ピリド[1,4]オキサジン環がグルクロン酸抱合されていると考えられた。さらに 2 種類の R406 の N-グルクロン酸抱合体が存在するが、それらの抱合部位は特定できなかった。

2.6.4.5.2 生体試料中の代謝物（血漿）

ホスタマチニブは、小腸の ALP により速やかにほぼ完全にメチルリン酸基が加水分解を受けるため、R406 以外の代謝物には変換されなかった。マウス、ラット、ウサギ及びサルにおいて、R406 は血漿中の主要な代謝物であった。血漿中の R406 の N-グルクロン酸抱合体、R529 の硫酸抱合体及び R529 のグルクロン酸抱合体を定量し、総曝露量に対する各代謝物の曝露量比を表 2.6.4.5.2-1 に示した。血漿中には、その他の微量な代謝物が低濃度（総放射能の 5%未満）で検出された。

表 2.6.4.5.2-1　マウス、ラット、ウサギ及びヒトにおける未変化体及び主要な代謝物の曝露量比

Plasma Exposure	Parent Drug or Metabolite				
	R788	R406	Glucuronide of R529	Sulfate of R529	N-Glucuronide of R406
Mouse					
% of AUC R406+Metabolites (single dose)	ND	63.4	6.2	ND	ND
Rat					
% of AUC R406+Metabolites (single dose)	ND	73.4	4.7	ND	5.0
% of AUC R406+Metabolites (repeat dose)	ND	76.3	3.1	ND	3.5

Plasma Exposure	Parent Drug or Metabolite				
	R788	R406	Glucuronide of R529	Sulfate of R529	N-Glucuronide of R406
Rabbit					
% of AUC R406+Metabolites (single dose)	ND	83.1	1.9	ND	ND[a]
Human					
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	ND	7476.5	30.2	216.0	44.7
% of AUC R406+Metabolites (single dose)	ND	96.3	0.4	2.8	0.6

Report No. [redacted]203111 (human) and R935788[redacted]001 (mouse, rat and rabbit)
[a] Detected by MS analysis only (no HPLC-RAD peak).
Plasma samples were pooled for up to 6 hours.
ND: Not detected

2.6.4.5.2.1 マウス

添付資料 4.2.2.4.10

マウスに[^{14}C]R788 を単回経口投与（10 mg/kg）したとき、R406 は血漿中の主要な代謝物であり、R406 から生成した主要な代謝物は R529 のグルクロン酸抱合体（Mo M17）であった。マウス血漿中には、これらの他に R406 の[redacted]（Mo M11、総曝露量の 3.9%）、R406 の[redacted]（Mo M26、総曝露量の 2.4%）及び 2 つの未知代謝物（総曝露量の 2.3%）が認められた。また、R529 の硫酸抱合体（Mo M23）及び R406 の N-グルクロン酸抱合体（Mo M24）はマウス血漿中に検出されなかった。

2.6.4.5.2.2 ラット

添付資料 4.2.2.4.8、4.2.2.4.10

ラットに R788 を単回経口投与（60 mg/kg）したとき、LC-MS/MS により血漿中に R529 の他に 2 つのグルクロン酸抱合された代謝物（R529 のグルクロン酸抱合体（Rt M17）及び R406 の N-グルクロン酸抱合体（Rt M24））が検出された。[^{14}C]R788 を 1 日 2 回 5 日間反復経口投与（5 mg/kg）したときの未変化体及び代謝物の血漿曝露量を LC-RAD-MS により定量した結果、これらの代謝物は、単回投与（1 日目）及び反復投与（5 日目）後のいずれの血漿中にも認められた。ラットに[^{14}C]R788 を単回投与したときの血漿中の主要な代謝物は、R529 のグルクロン酸抱合体及び R406 の N-グルクロン酸抱合体であった。さらに、ラット血漿中にはこれら代謝物とは異なる[redacted]（Rt M18、総曝露量の 1.8%）及び R406 の N-グルクロン酸抱合体（Rt M19、総曝露量の 1.8%）、並びに R406 の[redacted]（Rt M27、総曝露量の 2.7%）が認められた。反復投与後の代謝物の曝露量比は、単回投与後と同様であった。

2.6.4.5.2.3 ウサギ

添付資料 4.2.2.4.10

雌ウサギに[^{14}C]R788 を単回経口投与（5 mg/kg）したとき、血漿中の定量可能な代謝物として R406 に加えて、R529 のグルクロン酸抱合体（Rb M17）及び[redacted]（Rb M28、総曝露量の 6.7%）が存在した。

2.6.4.5.2.4 サル

添付資料 4.2.2.4.11、4.2.2.5.4

サルにR406を1日2回14日間反復投与（15 mg/kg）又は[^{14}C]R788を単回経口投与（12 mg/kg）したとき、血漿中には主にR406が存在した。これらの試験では、R406及び代謝物の曝露量は定量していないが、複数時点におけるLC-MS/MS分析及びラジオクロマトグラムの検討により、代謝物の血漿中濃度はR406よりも低いことが明らかになった。また、血漿中の主要な代謝物はR529のグルクロン酸抱合体（Cy M633）であった。その次に多く存在する代謝物はR529の硫酸抱合体（Cy M537）及びR406のN-グルクロン酸抱合体（Cy M647）であった。

2.6.4.5.2.5 ヒト

添付資料 4.2.2.4.15

ヒトに[^{14}C]R788を単回経口投与（150 mg）したとき、血漿中には主にR406が存在した。それぞれの代謝物の曝露量は、R406の総曝露量の3%未満であった。血漿中の代謝物として、R406のN-グルクロン酸抱合体（M20）、R529のグルクロン酸抱合体（M15）及びR529の硫酸抱合体（M18）が同定され、明らかに消失の遅い代謝物は認められなかった。また、血漿中にはヒト特異的代謝物は認められなかった。

2.6.4.5.3 生体試料中代謝物（尿、糞及び胆汁）

放射性標識体を投与したマウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトのマスバランス試験の試料を用いて血漿及び排泄物中の代謝物プロファイルを検討し、排泄試験及び代謝物プロファイル試験の結果から、各試料中に排泄された代謝物量を推定した（表 2.6.4.5.3-1）。なお、ラットマスバランス試験では[^{14}C]R406を静脈内又は経口投与し、その他のすべての動物種では、[^{14}C]R788を経口投与した。いずれの動物種からも血漿、尿及び糞を採取し、ラット及びサルでは胆汁も採取した。

表 2.6.4.5.3-1　　排泄された代謝物の投与量に対する割合

	Glucuronide of R529	Sulfate of R529	R529	R406 N-Glucuronide	Fostamatinib	R406	R567	Other
Bile								
Rat (po)	30.8	10.7 [a]	ND	10.7 [a]	ND	ND	ND	5.1
Rat (iv)	53.7	18.5 [a]	ND	18.5 [a]	ND	ND	ND	11.7
Urine								
Mouse (po)	1.5-2.0 [b]	0.5-0.7 [b]	ND	ND	ND	ND	ND	4.2-4.6 [b]
Rat (po)	1.1	0.5 [a]	ND	0.5 [a]	ND	ND	ND	3.2
Rat (iv)	2.2	1.1 [a]	ND	1.1 [a]	ND	0.3	ND	5.6
Rabbit (po)	2.0	0.6	ND	ND	ND	ND	ND	2.4
Human (po)	0.2	0.5	ND	13.9	0.8	0.2	ND	3.7
Feces								
Mouse (po)	ND	3.2-5.3 [b]	2.0-2.5	ND	5.2-5.3 [b]	2.1-3.8 [b]	ND	67.4-67.8 [b]
Rat (po)	ND	ND	48.5	6.7	ND	22.6	ND	5.9
Rat (iv)	ND	ND	39.3	17.3	ND	9.4	ND	12.6
Rabbit (po)	ND	ND	ND	ND	5.5	ND	ND	75.0
Human (po)	ND	ND	2.1	ND	ND	11.6	12.6	53.7

Report No. C788-014 (human) N-R940406-0019 (rat) and R935788[redacted]001 (mouse and rabbit)

[a] The sulfate of R529 and the N-glucuronide of R406 were unresolved

[b] Range for male and female mice

ND: Not detected

2.6.4.5.3.1 マウス

添付資料 4.2.2.4.10

マウスに[^{14}C]R788 を単回経口投与（10 mg/kg）したとき、尿中には多数の代謝物が認められた。定性的に尿中代謝物パターンは雌雄マウスで同様であった。主要な尿中代謝物は、R406 の[redacted]（Mo M11、雄及び雌マウスでそれぞれ投与量の 1.5%及び 2.2%）及び R529 のグルクロン酸抱合体（Mo M17、それぞれ投与量の 1.5%及び 2.0%）であった。その次に多い代謝物は R529 の硫酸抱合体であった（Mo M23、それぞれ投与量の 0.5%及び 0.7%）。マウス尿中にはいくつかの微量代謝物（投与量の 1%未満）が認められたが、ホスタマチニブ及び R406 は認められなかった。マウス糞中の主要な代謝物は、R406 の[redacted]（Mo M26、雄及び雌マウスでそれぞれ投与量の 31.9%及び 21.8%）であった。この代謝物はヒト糞中（M21）にも認められたが、ヒトにおいては投与量の 2.0%であった。また、マウス糞中には R406 の[redacted]（Mo M27、それぞれ投与量の 7.4%及び 18.7%）も観察された。これらの代謝物の生成過程は不明である。マウス糞中には R529 の硫酸抱合体（Mo M23、それぞれ投与量の 5.3%及び 3.2%）、未変化体（ホスタマチニブ、それぞれ投与量の 5.3%及び 5.2%）及び R406（それぞれ投与量の 2.1%及び 3.8%）も認められた。

2.6.4.5.3.2 ラット

添付資料 4.2.2.4.9、4.2.2.4.10

ラットに[^{14}C]R406 を単回経口（15 mg/kg）及び静脈内投与（1 mg/kg）したときの尿中及び胆汁中代謝物プロファイルは同様であった。尿中及び胆汁中の主な代謝物は、R529 のグルクロン酸抱合体（Rt M3）、R529 の硫酸抱合体（Rt M5）及び R406 のグルクロン酸抱合体（Rt M6）の順に存在量が多く、経口投与後ではそれぞれ投与量の 1.1%及び 30.8%、0.5%及び 10.7%、並びに 0.5%及び 10.7%であった。胆汁中には未変化体（R406）及び R529（Rt M7）は認められなかったが、尿中には少量の R406（静脈内投与時に投与量の 0.3%）が認められた。経口投与及び静脈内投与のいずれのラットにおいても、糞中放射能の大部分は R529（それぞれ投与量の 48.5%及び 39.3%）であった。R529 の抱合体が糞中に認められなかったことから、糞中の R529 は、胆汁排泄された R529 の抱合体の加水分解により生成されたものであると考えられた。また、糞中には R406（それぞれ投与量の 22.6%及び 9.4%）及び R406 のグルクロン酸抱合体（それぞれ投与量の 6.7%及び 17.3%）も認められた。R406 が R529 の次に多く存在したが、これは未吸収の R406 である可能性が考えられた。

2.6.4.5.3.3 ウサギ

添付資料 4.2.2.4.10

ウサギに[^{14}C]R788 を単回経口投与（5 mg/kg）したとき、尿中の主要な代謝物は、R529 のグルクロン酸抱合体（Rb M17、投与量の 2.0%）及び硫酸抱合体（Rb M23、投与量の 0.6%）であった。また、[redacted]（Rb M18、投与量の 0.3%）及び[redacted]（Rb M28、投与量の 0.5%）も、多数の未知代謝物とともに尿中に認められた。未変化体（ホスタマチニブ）及び R406 は、ウサギ尿中に認められなかった。ウサギ糞中には 7 つの代謝物が認められ、主要な 2 成分（Rb M29 及び M30、それぞれ投与量の 41.2%及び 5.5%）は、R406 の[redacted]

[redacted]（*m/z* 871）と同定された。多数の未知代謝物とともに R406 の[redacted]（Rb M26、投与量の 15.1%）及び未変化体（ホスタマチニブ、投与量の 5.5%）も認められた。

2.6.4.5.3.4 サル

添付資料 4.2.2.4.5、4.2.2.5.4

サルに[^{14}C]R788 を単回経口投与（12 mg/kg）したとき、胆汁中に投与放射能の 68.9%が回収された。胆汁中の主要な代謝物は R529 のグルクロン酸抱合体（Cy M633）であり、R529 の硫酸抱合体（Cy M537）が 2 番目に多い代謝物であった。R406 の N-グルクロン酸抱合体（Cy M647）と[redacted]（Cy M633b）も胆汁中に認められた。胆汁中にホスタマチニブ及び R406 は認められなかった。糞中の主要な代謝物は R567（Cy M413）及び R406 であった。なお、R406 は未吸収のホスタマチニブの加水分解又は胆汁を介して排泄された R406 の N-グルクロン酸抱合体の加水分解により生成したと考えられた。また、R529 は腸内細菌により R567 に変換されると考えられた（2.6.4.5.4）。サルの尿中放射能の大部分は R529 のグルクロン酸抱合体、R529 の硫酸抱合体及び R406 の N-グルクロン酸抱合体であったが、放射能の尿中排泄率は投与量の 4%未満であり、尿中に R567 は認められなかった。サルでは各代謝物の定量的な結果が得られず、投与量に対する排泄率（%）を算出できなかったため、表 2.6.4.5.3-1 に含めなかった。

2.6.4.5.3.5 ヒト

添付資料 4.2.2.4.5、4.2.2.4.13、4.2.2.4.14

ヒトに[^{14}C]R788 を単回経口投与（150 mg）したときの尿中及び糞中の代謝物プロファイルを検討した。尿中の主要代謝物は R406 の N-グルクロン酸抱合体（M20）であった。ヒト尿から単離し、NMR による構造解析の結果、この N-グルクロン酸抱合体は、R406 の N-ジメチル-3-オキソ-5-ピリド[1,4]オキサジン環がグルクロン酸抱合されたものであることが示唆された。また、R529 のグルクロン酸抱合体（M15、投与量の 0.2%）及び R529 の硫酸抱合体（M18、投与量の 0.5%）も尿中に認められた。尿中に少量の未変化体（ホスタマチニブ）が認められた（投与量の 0.8%）が、LC-MS/MS による血漿中濃度分析においてホスタマチニブがほとんど検出されていないことから、これは分析時のコンタミネーションの可能性が考えられた。ヒト糞中には、主要な 2 つの成分が認められ、R406 及び R567（M26）であると同定された。R567 をヒト糞から単離し、NMR 分析及び合成標準物質と比較することで構造を同定した。ヒト糞中には R529 の抱合体は認められなかったが、少量の R529（M31）が検出された（投与量の 2.1%）。ヒト糞中の代謝物パターンはサルと類似しており、R406 のパラ-O-脱メチル化とそれに続く抱合反応がヒトにおける R406 代謝の主要経路であることが示唆された。

以上の結果より、R406 はすべての動物種において、酸化反応及び抱合反応によりその大部分が代謝された。また、マウスではより多くの第 1 相代謝物、ウサギでは複雑な多重抱合体が生成され、ヒトの代謝物は少なくとも 1 種の動物種により生成されること明らかとなった。また、検討したすべての動物種のうち、サルにおけるホスタマチニブの代謝パターンが、ヒトの代謝パターンと最も類似していた。

2.6.4.5.4 *In vitro* 代謝

添付資料 4.2.2.4.1、4.2.2.4.2、4.2.2.4.3、4.2.2.4.5、4.2.2.4.6、4.2.2.4.13、4.2.2.4.14、4.2.2.5.4、4.2.2.6.2

精製 ALP（ウシ小腸由来、42 units/mL）又はヒト小腸ミクロソーム（0.5 mg/mL）を用いたホスタマチニブの加水分解について *in vitro* 試験で検討した。酵素非存在下、37°C で 30 分間のインキュベーションではホスタマチニブの加水分解は認められなかった。精製 ALP 存在下では、ホスタマチニブは速やか（15 秒未満）かつ完全に R406 に加水分解された。ヒト小腸ミクロソームでは、ホスタマチニブは 15 分以内に完全に代謝され、加水分解により R406 が生成した。

R406 は、マウス、ラット、サル及びヒト由来の肝ミクロソームにおいて、NADPH 存在下で代謝され、R529 が生成された。また、ヒト肝ミクロソーム及び典型的 CYP 阻害薬を用いた検討、並びに発現系ヒト CYP ミクロソームを用いた検討の結果より、R406 のパラ-O-脱メチル化に関与するヒト CYP 分子種は CYP3A4 であると考えられた。ヒト肝ミクロソームにおける R406（1 µmol/L）の代謝に及ぼす典型的 CYP 阻害薬の影響について表 2.6.4.5.4-1 に示した。CYP3A 阻害薬のみが R406 の代謝に顕著な阻害作用を示した。発現系ヒト CYP ミクロソームを用いた検討において、CYP3A4 及び CYP2C9 のみで R406 の代謝が認められた（それぞれ 102 及び 18 pmol/mg protein）。検討したその他の CYP 分子種（CYP1A2、CYP2D6*1、CYP2C19 及び CYP2E1）ではいずれも R406 の代謝は認められなかった。ヒト肝臓における CYP3A4 の存在量が CY2C9 よりも多いこと、CYP3A4 の R406 に対する代謝活性が高いこと、並びにヒト肝ミクロソームにおいて CYP3A 阻害薬が R406 代謝に顕著な影響を及ぼしたことから、R406 の酸化代謝に関与する主要な CYP 分子種は CYP3A4 であると同定された [3)]。また、発現系ヒト CYP ミクロソームを用いた検討において、CYP3A5 による R406 の代謝が認められたが、代謝速度が CYP3A4 より極めて低いため、生体内における R406 の代謝に対する CYP3A5 の寄与率は低いと考えられた。

表 2.6.4.5.4-1　　ヒト肝ミクロソームにおける R406 の代謝に及ぼす典型的 CYP 阻害薬の影響

Inhibitor	Concentration (µmol/L)	Turnover R406 Relative to Control (%)
Furafylline (CYP1A2)	10	112
Sulfaphenazole (CYP2C9)	10	122
3-N-benzylnirvanol (CYP2C19)	5	92
Quinidine (CYP2D6)	10	100
Ketoconazole (CYP3A)	1	20
Troleandomycin (CYP3A)	100	41

Report No.: N-940406-0016

ヒト肝ミクロソーム及び発現系ヒト UGT ミクロソーム存在下で R406 は N-グルクロン酸抱合化を受けることが明らかになった。グルクロン酸抱合に必要な補酵素である UDPGA を添加したヒト肝ミクロソームにおいて、3 種（そのうち 1 種が主要な代謝物）の R406 の N-グルクロン酸抱合体が生成された。ヒト肝ミクロソームで生成された R406 のグルクロン酸抱合体の HPLC の溶出プロファイルをヒト尿試料と比較したところ、肝ミクロソームで生成された主要な R406 の N-グルクロン酸抱合体は尿中に存在する主要な R406 の N-グルクロン酸抱合体であることが示された。また、この R406 の N-グルクロン酸抱合体は UGT1A9 により生成すること

が示された。肝ミクロソームで認められたその他のグルクロン酸抱合体は UGT1A3 及び UGT1A4 により生成することが示された。興味深いことに、尿中では UGT1A9 により生成された N-グルクロン酸抱合体が R406 の主要な代謝物であったが、血漿中で多く認められた N-グルクロン酸抱合体は UGT1A3 及び UGT1A4 により生成されるものであった。

R406 の 3 つのメトキシ基すべての O-脱メチル化及びパラ-脱ヒドロキシル化により生成する R567 は、ヒト及びサル糞中の主要な代謝物であることが示された。この代謝物は糞中のみで観察されたため、その生成には腸内細菌が関与している可能性が考えられた。そこで、ホスタマチニブ、R406 及び R529 を嫌気性条件下でヒト及びサルの腸内細菌とインキュベーションしたところ、R529 とのインキュベーションのみ R567 が生成された。さらに、サル胆汁試料を嫌気性条件下で腸内細菌とインキュベーションすると、R529 及びその抱合体は完全に R567 に変換された。

マウス及びラットの肝ミクロソームにおいて、R406 のパラ-O-脱メチル化の代謝速度に性差が認められた。雌マウスの肝ミクロソームでは、R406 の代謝速度が雄マウスの 5.4 倍速かった。対照的に、雌ラットの肝ミクロソームでは R406 の代謝速度が雄ラットの 3.9 倍遅かった。これらの結果は、マウス及びラットの *in vivo* 試験で観察された曝露量の性差と矛盾しない結果であり、げっ歯類を用いた毒性試験では、雌雄で異なる用量が投与された。サルでは R406 の代謝に性差は認められなかった。ヒトにおいて、女性由来の肝ミクロソームでは、R406 の代謝速度が男性の 2 倍速かったが、曝露量に性差は認められていない（2.7.2.2.2.1.6）。

2.6.4.6 排泄

ホスタマチニブ又は R406 の排泄に関する非臨床薬物動態試験の概略を 2.6.5.1 に示した。

2.6.4.6.1 排泄経路と排泄率

添付資料 4.2.2.5.1、4.2.2.5.2、4.2.2.5.3、4.2.2.5.4

ラットに[^{14}C]R406 を、マウス、ウサギ、サル及びヒトに[^{14}C]R788 を単回経口又は静脈内投与したときの放射能の排泄率を表 2.6.4.6.1-1 に示した。いずれの動物種においても、尿中排泄率（最大 19.3%）よりも糞中排泄率（約 80%以上）の方が明らかに高く、糞中排泄が主要な排泄経路であった。ラット及びサルの胆汁排泄試験の結果（2.6.4.6.2）、経口投与後の胆汁排泄率がそれぞれ 46.7%及び 68.9%であり、投与量の大部分を占めていたため、糞中の放射能は未吸収の薬物及び消化管分泌よりも胆汁排泄の割合が大きいと考えられた。雌雄を検討したマウスにおいて、排泄経路に性差は認められなかった。また、すべての動物種において尿及び糞中排泄による放射能の回収率が 89.3%以上であり、体内に残留した放射能はわずかであった（マウス、ラット及びウサギで投与量の 1%未満）。[^{14}C]R788 及び[^{14}C]R406 のピリミジン環中の標識位置が安定であると予想されたため、いずれの試験においても、呼気は採取しなかった。

表 2.6.4.6.1-1　[^{14}C]R788 又は[^{14}C]R406 を単回投与したときの放射能の累積排泄率

Species /Test article	Dose	Route	Time (h)	Radioactivity % of Dose (Mean)			
				Urine	Bile	Feces	Total [a]
Mouse/[^{14}C]R788							
Male	10 mg/kg	po	120	8.3	NA	82.9	92.0
Female	10 mg/kg	po	120	10.3	NA	82.4	93.7
Rat/[^{14}C]R406							
Male	15 mg/kg	po	168	4.9	NA	83.7	89.8
Male BDC	15 mg/kg	po	48	6.0	46.7	37.0	90.3
Male	1 mg/kg	iv	168	9.2	NA	78.5	90.5
Male BDC	1 mg/kg	iv	48	4.0	83.9	4.3	92.3
Rabbit/[^{14}C]R788							
Female[b]	5 mg/kg	po	120	6.9	NA	84.4	92.5
Monkey/[^{14}C]R788							
Male	12 mg/kg	po	168	3.1	NA	81.7	89.3
Male BDC	12 mg/kg	po	48	4.6	68.9	17.7	93.1
Human/[^{14}C]R788							
Male	150 mg	po	192	19.3	NA	80.0	99.3

Report No.: [redacted]203144 (mouse), N-940406-0019, N-940406-0015 (rat), [redacted]203139 (rabbit), N-935788-0037 (monkey), C-788-014 (human)
[a] Includes carcass, gastrointestinal tract, and cage wash for all animals
BDC: Bile duct cannulated
NA: Not applicable

2.6.4.6.2 胆汁排泄

添付資料 4.2.2.5.2、4.2.2.5.4

胆管にカニューレを施したラット及びサルにおいて、主要な排泄経路は胆汁中排泄であった。ラットに[^{14}C]R406 を静脈内投与後 48 時間までに投与放射能の 83.9%が胆汁中に排泄された。また、ラットに[^{14}C]R406 を経口投与したとき、投与放射能の 46.7%が胆汁中に排泄された。サルに[^{14}C]R788 を経口投与したとき、投与放射能の 68.9%が胆汁中に排泄され、投与量の大部分は投与後 8 時間までに排泄された。ラット及びサルの各採取間隔における胆汁排泄率を表 2.6.4.6.2-1 に示した。

表 2.6.4.6.2-1　　[^{14}C]R788 又は[^{14}C]R406 を単回投与したときの放射能の胆汁中排泄率

Species/Route	Dose Recovered in Bile (%)					
Rat	0-2 h	2-6 h	6-12 h	12-24 h	24-48 h	Total
iv	40.2±4.7	38.8±7.7	3.8±1.5	0.6±0.1	0.5±0.5	83.9±5.2
oral	0.3±0.3	25.6±3.5	12.6±2.7	7.3±4.0	0.8±0.6	46.7±7.0
Monkey	0-4 h	4-8 h	8-24 h	24-48 h	Total	
oral	21.7±14.6	27.5±13.2	13.5±1.6	6.2±3.2	68.9±3.5	

Report No. N-940406-0015 (rat) and N-935788-0037 (monkey)

2.6.4.6.3 乳汁排泄

添付資料 4.2.3.5.3.1

雌ラットに R788 を 1 日 2 回（2.5、12.5 及び 25 mg/kg/日）、着床から授乳を介して離乳まで経口投与したときの授乳 14 日目の 2 回目の投与後 2 時間の母動物の血漿及び乳汁中 R406 濃度を LC-MS/MS 法により分析した。乳汁中 R406 濃度は母動物の血漿中よりも高濃度であり、R406 の乳汁/血漿中濃度比は 5.5～9.9 であった。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

R788 又は R406 の薬物相互作用に関する非臨床薬物動態試験の概略を 2.6.5.1 に示した。

2.6.4.7.1 代謝酵素阻害

2.6.4.7.1.1 CYP 阻害（可逆的）

添付資料 4.2.2.6.1、4.2.2.6.2、4.2.2.6.3、4.2.2.6.4、4.2.2.6.5、4.2.2.6.6

ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、ホスタマチニブは CYP3A に対して可逆的阻害作用を示さなかった。R406 は CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A に対して強い可逆的阻害作用を示さず、Ki 値は 10 μmol/L 超（CYP3A に対する Ki 値：12～13 μmol/L）であった。また、R406 はパクリタキセルを基質とした CYP2C8 活性に中等度の可逆的阻害作用を示し、IC_{50} 値は 31 μmol/L であった（表 2.6.4.7.1.1-1）。一方、R406 は CYP2A6、CYP2B6 及び CYP2E1 に対して可逆的阻害作用を示さなかった。

表 2.6.4.7.1.1-1　CYP に対する R406 の Ki 値又は IC_{50} 値

Enzyme	CYP1A2	CYP2A6	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9
Substrate	Phenacetin	Coumarin	Buproprion	Paclitaxel	Diclofenac
Inhibitory effect	59 μmol/L (K_i)	no effect	no effect	31 μmol/L (IC_{50})	21 μmol/L (K_i)

Enzyme	CYP2C19	CYP2D6	CYP2E1	CYP3A	CYP3A
Substrate	S-Mephenytoin	Dextromethorphan	Chlorzoxazone	Midazolam	Testosterone
Inhibitory effect	67 μmol/L (K_i)	89 μmol/L (K_i)	no effect	13 μmol/L (K_i)	12 μmol/L (K_i)

Report No. N-R940406-0016, [redacted]203034
Ki values are from N-940406-0016; no effect and IC_{50} value from [redacted]203034

R406 の N-グルクロン酸抱合体は、ヒト尿中の主要な代謝物である。そのため、この代謝物を合成し、ヒト CYP に対する阻害作用を検討した。R406 の N-グルクロン酸抱合体は、CYP2C8 に対する 12.6%の阻害作用及び若干の時間依存性阻害作用を示したが、CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A（テストステロン及びミダゾラム）に対して顕著な可逆的及び時間依存的阻害作用を示さなかった。

2.6.4.7.1.2 CYP 阻害（時間依存的）

ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、R406 は NADPH 存在下でのヒト肝ミクロソームとのプレインキュベーションにより CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP2E1 の代謝に対し 20%未満の阻害作用が認められたが、NADPH 非存在下と同程度であり、R406 はこれら CYP に対して時間依存的阻害作用を示さないと考えられた。一方、R406 は CYP3A によるテストステロン及びミダゾラム代謝のいずれに対しても時間依存的及び濃度依存的阻害作用を示した。また、テストステロン及びミダゾラム代謝に対する、K_I 値はそれぞれ 2.3 及び 1.0 μmol/L、k_{inact} 値は 0.024 及び 0.022 min^{-1} であった。R406 の CYP3A 阻害作用の影響を検討するため、R788 とミダゾラムを併用投与した臨床薬物相互作用試験を実施した（2.7.2.2.2.4.6）。R788（100 mg 1 日 2 回）の併用投与によりミダゾラムの AUC_{0-24} 及び C_{max} はそれぞれ 23%及び 9%上昇し、ミダゾラムの曝露量の変動はわずかであった。また、R788（100 mg 1 日 2 回）の 5 日間の反復投与によりシンバスタチン酸の $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} はそれぞれ 66%及び 83%上昇し、シンバスタチンの AUC_{0-t} 及び C_{max} がそれぞれ 64%及び 113%上昇した（2.7.2.2.2.4.11）。

2.6.4.7.1.3 UGT 阻害

ヒト肝ミクロソーム及び発現系ヒト UGT1A1 ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、R406 はビリルビンのグルクロン酸抱合に関与する UGT1A1 に対し強い阻害作用を示し、ヒト肝ミクロソームを用いた検討において IC_{50} 値は 0.4 μmol/L であった。また、R788 の薬理プロファイル評価（2.6.2）においても、R406 は UGT1A1 に対し阻害作用を示し、IC_{50} 値は 143 nmol/L であった。臨床試験において、R788 を投与した一部の患者で血漿中非抱合型ビリルビン濃度の軽微な上昇が認められたが、この原因は UGT1A1 を介したビリルビンのグルクロン酸抱合に対する R406 の影響である可能性が考えられた。

2.6.4.7.1.4 CYP 誘導

添付資料 4.2.2.6.7

ヒト肝細胞を用いて R406 の CYP 誘導能を評価し、その結果を表 2.6.4.7.1.4-1 に示した。R406（1～10 μmol/L）を肝細胞とインキュベーションしたところ、R406 は CYP2C9 及び CYP3A 活性に影響を及ぼさなかったが、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP2C19 活性を増加させた。R406 の CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP2C19 に対する誘導倍率は、10 μmol/L において陽性対照物質のそれぞれ 7%、17%、75%及び 28%であり、CYP2C8 のみが陽性対照の 40%を超える誘導を示した。CYP2C8 の誘導倍率の陽性対照比は、3 及び 10 μmol/L においてそれぞれ 53%及び 75%であり、いずれの R406 濃度においても 40%のカットオフ値を超えた。

ピオグリタゾンの薬物動態に及ぼす CYP2C8 誘導の影響を検討するために臨床薬物相互作用試験を実施した（2.7.2.2.2.4.9）。R788（100 mg 1 日 2 回）との併用により、ピオグリタゾンの $AUC_{0-\infty}$は 18%上昇、C_{max} は 17%減少し、ピオグリタゾンの曝露量に認められた変化はわずかであった。

表 2.6.4.7.1.4-1　R406 による CYP 誘導（control 比）

Treatment	Concentration	Fold Increase in Microsomal Activity[a]					
		Phenacetin O-dealkylation (CYP1A2)	Bupropion hydroxylation (CYP2B6)	Amodiaquine N-delakylation (CYP2C8)	Diclofenac 4'-hydroxylation (CYP2C9)	S-Mephenytoin 4'-hydroxylation (CYP2C19)	Testosterone 6β-hydroxylation (CYP3A)
DMSO	0.1% v/v	1.00±0.43	1.00±0.34	1.00±0.57	1.00±0.27	1.00±0.95	1.00±0.37
R406	1 µmol/L	1.58±0.77	1.51±0.60	1.80±0.95	1.09±0.06	1.35±0.25	1.08±0.29
R406	3 µmol/L	2.43±1.72	1.93±1.01	3.55±2.80	1.22±0.26	2.04±0.27	0.89±0.44
R406	10 µmol/L	2.12±1.06	2.12±0.61	4.33±3.24	1.19±0.08	2.37±0.36	0.90±0.26
Omeprazole	100 µmol/L	18.8±2.4	3.72±2.01	2.78±0.74	1.06±0.11	0.86±0.31	0.96±0.39
Phenobarbital	750 µmol/L	2.73±0.97	7.70±2.64	5.35±1.23	1.45±0.07	2.78±1.46	3.69±0.37
Rifampin	10 µmol/L	2.04±0.96	4.97±2.29	5.00±2.48	1.78±0.38	6.36±1.53	4.27±1.51

Report No. G-935788-0012

[a] Values are the mean ± standard deviation of three determinations (3 lots of human hepatocyte preparations).

2.6.4.7.2 トランスポーター

添付資料 4.2.2.2.1。4.2.2.2.2、4.2.2.6.8、4.2.2.6.9、4.2.2.6.10、4.2.2.6.11、4.2.2.6.12、4.2.2.6.13、4.2.2.6.14

R406 の膜透過性に関する *in vitro* 試験結果については、2.6.4.3.1 に示した。R406（0.1、1 及び 3 μmol/L）は P-gp の基質であるが、Caco-2 細胞における P-gp を介した[^{3}H]ジゴキシン輸送に対して阻害作用を示さなかった（溶解限界濃度である 10 μmol/L まで）。一方、ホスタマチニブは P-gp を介した[^{3}H]ジゴキシン輸送に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値は 3.2 μmol/L であった。この P-gp 阻害作用の影響について、R788 とジゴキシンを併用投与した臨床薬物相互作用試験を実施した（2.7.2.2.2.4.10）[4)]。推定臨床用量の R788（100 mg 1 日 2 回）により、ジゴキシンの AUC_{ss} 及び $C_{max, ss}$ はそれぞれ 37%及び 70%上昇した。

BCRP 発現膜ベシクルを用いた *in vitro* 試験により、ホスタマチニブ及び R406（いずれも 1 μmol/L）は BCRP の基質ではないことが確認された。しかしながら、ホスタマチニブ及び R406 は BCRP を介した[^{3}H]エストロン-3-サルフェート輸送に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 0.050 及び 0.031 μmol/L であった。生体内における BCRP 阻害作用の影響を検討するため、R788 とロスバスタチンを併用投与した臨床薬物相互作用試験を実施した（2.7.2.2.2.4.11）。R788（100 mg 1 日 2 回）の併用によりロスバスタチンの $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} がそれぞれ 96%及び 88%上昇した[5)]。

OATP1B1 を発現させた CHO 細胞及び MRP2 発現膜ベシクルを用いた *in vitro* 試験において、R406 は OATP1B1 及び MRP2 に対して弱い阻害作用を示し、IC_{50} 値はいずれも 40 μmol/L 超であった。この試験では親和性のあまり高くないプローブ基質であるエストロン-3-サルフェートを用いて R406 の OATP1B1 阻害作用を評価した。そのため、OATP1B1 を発現させた HEK293 細胞を使用し、親和性の高い基質であるエストラジオール-17β-グルクロニドを用いて再度 OATP1B1 阻害試験を実施した。R406 は溶解限度濃度である 10 μmol/L において 27%の阻害を示した。

OCT2 を発現させた HEK293 細胞を用いた *in vitro* 試験において、R406（1 μmol/L）は OCT2 の基質ではなく、OCT2 を介した[^{14}C]メトホルミン輸送に対して阻害作用を示さなかった（11 μmol/L）。OAT1 又は OAT3 を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を用いた *in vitro* 試験において、R406（0.1、1.0 及び 3.0 μmol/L）は OAT1 及び OAT3 の基質ではなく、[^{3}H]メトトレキサート輸送に対して阻害作用を示さなかった（それぞれ 0.10～30 及び 0.11～32 μmol/L）。

OATP1B3 を発現させた HEK293 細胞を用いた *in vitro* 試験において、R406（1 μmol/L）は、OATP1B3 の基質ではなく、OATP1B3 を介した CCK8 輸送に対して阻害作用を示さなかった（1 μmol/L の R406 で 22%阻害）。この試験において、R406 の溶解度が限られていたため、高濃度の R406 を用いることはできなかった。

OATP1B1 を発現させた HEK293 細胞を用いた *in vitro* 試験において、R406（0.3 及び 1 μmol/L）は、OATP1B1 の基質ではなかった。また、MATE1 又は MATE2-K を発現させた HEK293 細胞を用いた試験において、R406 は MATE1 及び MATE2-K を介した[^{14}C]メトホルミン輸送に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 2.29 及び 0.195 μmol/L であった。

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

In vivo 薬物動態試験成績から、R788 又はホスタマチニブカルシウム塩を経口投与後のホスタマチニブの全身曝露又は門脈曝露は無視できる程度であることが示唆された。小腸内においてホスタマチニブの大部分が速やかに R406 に変換され、この変換には小腸の ALP が関与していると推定された。R788 又はホスタマチニブカルシウム塩を経口投与したとき、血漿中 R406 濃度は相当量の R406 を投与したときに得られた値と同等若しくは高濃度に達し、*in vivo* 毒性試験及び薬理試験では十分な R406 の曝露量が達成されていると考えられた。全般的に R406 のクリアランスは肝血流量より小さく、半減期は短かった（0.58～3.41 時間）。マウスは最も R406 のクリアランスが高く、半減期が短かった。また、いずれの動物種においても R788 の 1 日 2 回投与による R406 の蓄積は認められず、R406 の薬物動態には反復投与による変化は生じないと考えられた。マウス（低用量）、ラット及びサルにおいて、R406 の曝露量は用量の増加比を上回る増加が認められた。ラット及びマウスにおいて R406 の薬物動態に性差が認められ、雄マウス及び雌ラットは、それぞれ雌マウス及び雄ラットよりも R406 濃度が高かった。一方、サルにおいて、性差は認められなかった。

マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおいて、R406 の血漿蛋白結合率はいずれも 98%以上であり、R406 の血漿蛋白結合は高く、種差は認められなかった。また、R406 の主要な結合蛋白質はアルブミンであると考えられた。R406 の赤血球への分布が認められたが、この分布は可逆的であると考えられた。マウス、ラット、ウサギ及びサルにおける R406 の分布容積から R406 の血管外分布が示唆された。ラット QWBA 試験において、投与後 168 時間の有色ラットのブドウ膜に放射能が検出されたことから、R406 及び/又は代謝物にはメラニン親和性があると考えられた。

R406 はその大部分が代謝され、胆汁又は尿中にほとんど認められなかった。すべての動物種において R406 の主要な代謝経路は、パラ-O-脱メチル化及びその後のグルクロン酸抱合又は硫酸抱合であると考えられた。これらのグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体は主に胆汁中に排泄され、ヒト以外では R406 及び代謝物の尿中排泄はわずかであった。これらの代謝物は消化管内で脱抱合化され、ラットにおいては R529 が糞中の主要な代謝物であった。ヒト及びサルにおいて、R529 が腸内細菌により R567 に変換された。マウス糞中では、R406 の[redacted]が主要な代謝物であった。また、ウサギ糞中では、R406 の[redacted]と推定される代謝物（*m/z* 871）が主要であった。ラット、サル及びヒトにおいて、N-グルクロン酸抱合も R406 の代謝に寄与し、R406 の N-グルクロン酸抱合体はヒト尿中で認められた主要な代謝物であった。

R788 のヒトマスバランス試験の結果から、血漿中の代謝物組成はヒトと動物で同様であることが明らかになった。ヒト血漿中で同定された主要な代謝物（いずれも R406 の総曝露量の 3%未満）はいずれも第 2 相代謝の生成物（R529 のグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体、並びに R406 の N-グルクロン酸抱合体）であり、これらの代謝物には薬理活性はないと考えられた。これらの代謝物の消失が R406 よりも顕著に緩やかではないことから、反復投与時により蓄積することはないと推測された。

いずれの動物種においても放射能の糞中排泄が主要な排泄経路であった。胆管にカニューレを施したラット及びサルにおいて胆汁中排泄率は投与量の約 47%以上であり、生体内で R406

はほとんど代謝され、いずれの動物種においても代謝物は主に胆汁中に排泄されることが示された。

ヒト肝ミクロソーム及び発現系ヒト CYP ミクロソームを用いた *in vitro* 試験により、R406 の酸化代謝に関与する主要な CYP 分子種は CYP3A4 であると同定された。臨床薬物相互作用試験により R406 の薬物動態に及ぼす CYP3A 阻害剤（ケトコナゾール及びベラパミル）の影響を検討した（2.7.2.2.2.4.1、2.7.2.2.2.4.2）。強い CYP3A 阻害剤であるケトコナゾールとの併用投与により、R406 の $AUC_{0-\infty}$及び C_{max} はそれぞれ 102%及び 37%上昇した。中等度の CYP3A 阻害剤であるベラパミルとの併用投与では、R406 の $AUC_{0-\infty}$及び C_{max} はそれぞれ 39%及び 6%上昇した。ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験により、R406 の CYP3A に対する中等度の可逆的及び時間依存的阻害作用が認められた。臨床薬物相互作用試験において、R788 の併用により CYP3A 基質であるミダゾラム及びシンバスタチンの曝露量が最大で 2 倍程度に上昇した。また、ヒト肝細胞において、R406 は CYP2C8 に対する誘導作用を示したが、臨床薬物相互作用試験において、CYP2C8 基質であるピオグリタゾンの薬物動態に認められた影響はわずかであった。*In vitro* 試験において、R406 は他の CYP 分子種に阻害作用を示さなかった。また、ホスタマチニブは CYP3A に阻害作用を示さず、R406 の N-グルクロン酸抱合体はいずれの CYP に対しても阻害作用を示さなかった。R406 は UGT1A1 に対し強い阻害作用を示したが、臨床試験において少数の患者で非抱合型ビリルビン（内因性基質）の血漿中濃度に軽微な上昇が認められたのみであった。

In vitro 試験においてホスタマチニブ及び R406 は BCRP に対し強い阻害作用を示し、ホスタマチニブは P-gp に対しても阻害作用を示した。臨床薬物相互作用試験において、R788 の併用投与により BCRP 基質であるロスバスタチンと P-gp 基質であるジゴキシンの薬物動態にわずかな変化（2 倍未満）が認められた。R406 は MATE1 及び MATE2-K に対し強い阻害作用を示し、「「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」について」（平成 30 年 7 月 23 日付け 薬生薬審発 0723 第 4 号）に基づき、典型基質であるメトホルミン輸送の阻害に対する R 値を算出した結果、MATE2-K 阻害のみカットオフ基準を超える結果が得られた。しかしながら、臨床試験における MATE2-K 基質との併用投与時の安全性情報から、MATE2-K 阻害による安全性上の懸念は認められなかった（2.7.2.3.5.2.2.6）。

以上のように、ホスタマチニブの薬物動態及び代謝を複数の動物種で詳細に検討した。また、*in vitro* 試験で薬物代謝酵素やトランスポーターに及ぼす影響についても詳細に検討しており、臨床において薬物動態に影響を及ぼす可能性が認められた場合、臨床薬物相互作用試験を実施した。これらを総合すると、ホスタマチニブの潜在的なリスクを評価するための薬物動態試験結果を得られたものと考えられ、これらの試験結果はヒトに対する重大なリスク発生の可能性を示すものではなかった。

2.6.4.10 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.4.11 参考文献

1) Sweeny DJ., Li W., Grossbard E. et al. Contribution of gut bacteria to the metabolism of the spleen tyrosine kinase (Syk) inhibitor R406 in cynomolgus monkey. Xenobiotica.2010;40:415–23.

2) Sweeny DJ., Li W., Clough J. et al. Metabolism of fostamatinib, the oral methylene phosphate prodrug of the spleen tyrosine kinase inhibitor R406 in humans: contribution of hepatic and gut bacterial processes to the overall biotransformation. Drug Metab Dispos.2010;38:1166–76.

3) Martin P., Gillen M., Millson D. et al. Effects of CYP3A4 inhibitors ketoconazole and verapamil and the CYP3A4 inducer rifampicin on the pharmacokinetic parameters of fostamatinib: results from *in vitro* and phase I clinical studies. Drugs R D.2016;16:81–92.

4) Martin P., Gillen M., Millson D. et al. Effects of fostamatinib on the pharmacokinetics of digoxin (a P-glycoprotein substrate): results from *in vitro* and phase I clinical studies. Clin Ther.2015;37:2811–22.

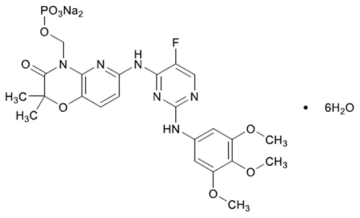
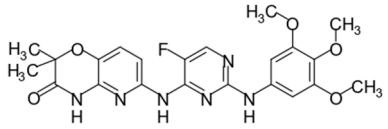
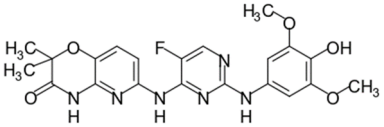
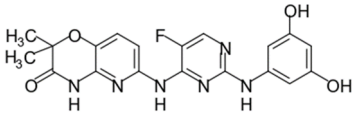
5) Martin P., Gillen M., Ritter J. et al. Effects of fostamatinib on the pharmacokinetics of oral contraceptive, warfarin, and the statins rosuvastatin and simvastatin: results from phase I clinical studies. Drugs R D.2016;16:93–107.

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 5
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 5
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 9
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 10
2.6.5.3.1 種差：単回経口投与（R406） 10
2.6.5.3.2 種差：単回経口投与（Fostamatinib） 11
2.6.5.3.3 マウス：単回経口投与（Fostamatinib） 12
2.6.5.3.4 マウス：単回経口投与（Fostamatinib） 13
2.6.5.3.5 ラット：単回経口投与（R406） 15
2.6.5.3.6 ラット：単回経口投与（Fostamatinib） 16
2.6.5.3.7 ラット：単回経口投与（R406 又は fostamatinib） 17
2.6.5.3.8 ラット：単回経口投与（R406） 18
2.6.5.3.9 ラット：単回経口投与（R406 又は fostamatinib） 19
2.6.5.3.10 ウサギ：単回経口投与（Fastamatinib） 20
2.6.5.3.11 サル：単回経口投与（R406） 21
2.6.5.3.12 サル：単回経口投与（R406 又は Fostamatinib） 22
2.6.5.3.13 種差：単回静脈内投与（R406） 23
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 24
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 25
2.6.5.5.1 ラット組織分布 25
2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合 27
2.6.5.6.1 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿蛋白結合率（*in vitro*） 27
2.6.5.6.2 ヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖蛋白質への結合 28
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 29
2.6.5.7.1 ラット: 胎盤・胎児への移行 29
2.6.5.7.2 ウサギ: 胎盤・胎児への移行 30
2.6.5.7.3 ラット: 乳汁排泄 31
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 32
2.6.5.8.1 血球移行 32
2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 33
2.6.5.9.1 *In vivo* 代謝のまとめ 33
2.6.5.9.2 ヒト血漿中代謝物 35
2.6.5.9.3 マウス、ラット及びウサギ血漿中代謝物 36
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 37

2.6.5.10.1 代謝種差 37
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 38
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 39
2.6.5.12.1 CYP 阻害（1） 39
2.6.5.12.2 CYP 阻害（2） 40
2.6.5.12.3 CYP 阻害（3） 41
2.6.5.12.4 CYP 阻害（4） 42
2.6.5.12.5 CYP 誘導 43
2.6.5.12.6 UGT1A1 阻害 44
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 45
2.6.5.13.1 単回投与：絶食 45
2.6.5.13.2 単回投与：非絶食 46
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 47
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 48
2.6.5.15.1 P-gp 基質性/阻害評価 48
2.6.5.15.2 P-gp 基質性評価 49
2.6.5.15.3 BCRP 基質性/阻害評価 50
2.6.5.15.4 MRP2 及び OATP1B1 阻害評価 51
2.6.5.15.5 OATP1B3 基質性/阻害評価 52
2.6.5.15.6 OAT1 及び OAT3 基質性/阻害評価 53
2.6.5.15.7 R406 の OCT2 基質性/阻害評価 54
2.6.5.15.8 R406 の OATP1B1 基質性評価並びに MATE1 及び MATE2-K 阻害評価 55
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 57

化合物一覧

略号・一般名	化学名	構造式	由来
R788 ホスタマチニブナトリウム水和物 R935788	Disodium (6-{[5-fluoro-2-(3,4,5-trimethoxyanilino)pyrimidin-4-yl]amino}-2,2-dimethyl-3-oxo-2,3-dihydro-4*H*-pyrido[3,2-*b*][1,4]oxazin-4-yl)methyl phosphate hexahydrate		原薬
R406 R940406	—		活性本体
R529 R949529	—		代謝物 R406 のパラ-O-脱メチル体
[redacted]			
R567 R949567	—		代謝物 （R406 の 3,5-ベンゼンジオール体）
ホスタマチニブカルシウム塩	—	—	R788 遊離酸のカルシウム塩

略号一覧

略号	略していない表現	内容
$AUC_{0\text{-}24}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours	0～24 時間の血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0 to infinity	0～無限大時間の血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0 up to last quantifiable time point t	0 から定量可能な最終時点（t）までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳がん耐性蛋白質
BDC	Bile duct cannulated	胆管カニューレ
BQL	Below the lower limit of quantification level	定量下限未満
bid	bis in die	1 日 2 回投与
Caco-2 細胞	Human Caucasian colon adenocarcinoma cells	ヒト結腸癌由来細胞株
CCK8	Cholecystokinin octapeptide	コレシストキニンオクタペプチド
CHO	Chinese Hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣細胞株
CL	Clearance	クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CMC	Carboxymethylcellulose	カルボキシメチルセルロース
CSA	Cyclosporine A	シクロスポリン A
CYP	Cytochrome P450	シトクローム P450

略号	略していない表現	内容
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
FDA	Food and Drug Administration	アメリカ食品医薬品局
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
HEK293	Human embryonic kidney cell line 293	ヒト胎児腎細胞株 293
HPLC, LC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	Concentration giving 50% of maximum inhibitory activity	50%阻害濃度
Ki	Inhibition constant	阻害定数
K_I	Concentration of the inhibitor that yields a 50% rate of the maximum 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}	Maximum inactivation rate constant	最大不活性化速度定数
LOQ	Limits of quantification	定量限界
LSC	Liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数法
MATE	Multidrug and toxin extrusion	多剤及び毒素排出
MDR-MDCK	Multidrug-resistance Madin-Darby canine kidney	多剤排出トランスポーター発現イヌ腎臓尿細管上皮細胞株
MS	Mass spectrometry	質量分析法
MS/MS	Tandem mass spectrometry	タンデム質量分析法
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NMR	Nuclear magnetic resonance spectroscopy	核磁気共鳴分光法
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 cation transporter	有機カチオントランスポーター
PD	Pharmacodynamic	薬力学
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
qd	quaque die	1 日 1 回投与
QWBA	Quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RAD	Radioactivity detection	放射能検出
SD	Standard deviation	標準偏差
SE	Standard error	標準誤差
$t_{1/2}$	Terminal elimination half-life	終末相の消失半減期
T_{max}	Time to reach maximum concentration or maximum response	最高濃度又は最大反応到達時間
TPGS	Tocopheryl polyethylene glycol succinate	トコフェリルポリエチレングリコールコハク酸
UGT	Uridine 5'-diphosphate-glucuronosyl transferase	UDP-グルクロン酸転移酵素
UDPGA	Uridine diphosphoglucuronic acid	ウリジンジホスホグルクロン酸
V_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態の分布容積

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Article	Testing Facility	Location Vol. Report Number
Absorption					
In vitro absorption of R406 (P-gp transport)	MDR-MDCK cells	*in vitro*	R406	[redacted], US	4.2.2.2.1 N-940406-0014
In vitro R406 inhibitor or substrate of P-gp, R788 inhibitor of P-gp	Caco-2	*in vitro*	R406 besylate [^{3}H]R406 R788	[redacted] US	4.2.2.2.2 [redacted]203037
Oral PK of R788 in mice	CD-1 mice/male and female	oral	R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.2.3 [redacted]0352
Iv and oral PK of R406 and R788 in mice	CD-1 mice/female	iv and oral	R406 besylate R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.2.4 [redacted]0205
Absorption and first-pass metabolism of R788 in rats	Sprague-Dawley rats/male	iv and oral	R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.2.5 [redacted]0212
Iv and oral PK of R406 in rats	Sprague-Dawley rats/male	iv and oral	R406 besylate	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.2.6 [redacted]0223
Effect of white grape juice dilution on oral PK of R406 in rats	Sprague-Dawley rats/male	oral	R406 besylate	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.2.7 [redacted]0260
Comparison of oral PK of R788 and R406 in rats	Sprague-Dawley rats/male	oral	R406 besylate Fostamatinib Ca salt	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.2.8 [redacted]0003
Comparison of oral PK of R788 and R406 in rats and effect of dose escalation	Sprague-Dawley rats/male	oral	R406 besylate Fostamatinib Ca salt	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.2.9 [redacted]0091
Total radioactivity pharmacokinetics following single and repeat oral administration of [^{14}C]R788 to male rat	Han Wistar rat/male	oral	[^{14}C]R788	[redacted] UK	4.2.2.2.10 [redacted]203145
Iv and oral PK of R406 and R788 in rabbits	New Zealand White rabbits/female	iv and oral	R406 besylate Fostamatinib Ca salt	[redacted], US	4.2.2.2.11 P-935788-0047
Iv and oral PK of R406 in monkeys	Cynomolgus monkeys/ female	iv and oral	R406 besylate	[redacted], Canada	4.2.2.2.12 N-940406-0017
Comparison of oral PK of R788 and R406 in monkeys	Cynomolgus monkeys/male and female	oral	R406 besylate Fostamatinib Ca salt	[redacted], US	4.2.2.2.13 P-935788-0046

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Article	Testing Facility	Location Vol. Report Number
Distribution					
Protein binding of R406 in plasma (expanded concentration range)	Mouse, rat, rabbit, monkey, human plasma	*in vitro* (equilibrium dialysis)	R406	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.3.1 N-935788-0020
In vitro Plasma/blood cell partitioning	Human red blood cells, serum albumin and α_1-acid glycoprotein	*in vitro* (equilibrium dialysis)	[^{14}C]R406	[redacted], UK	4.2.2.3.2 [redacted]736 ([redacted]002)
In vitro Reversibility of blood partitioning	Human blood cells	*in vitro*	[^{14}C]R406	[redacted], UK	4.2.2.3.3 [redacted]241 ([redacted]004)
Quantitative whole body autoradiography	Rat	oral	[^{14}C]R788	[redacted], US	4.2.2.3.4 G-935788-0011
Metabolism					
In vitro metabolism R406	Mouse liver microsomes	*in vitro*	R406	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.1 N-935788-0025
In vitro metabolism of R406	Liver microsomes from male and female rats, monkeys, and humans	*in vitro*	R406	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.2 N-940406-0020
In vitro metabolism of R788	Purified bovine alkaline phosphatase and human intestinal microsomes	*in vitro*	R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.3 N-935788-0003
In vitro metabolism of R406	Human, rat & monkey liver microsomes	*in vitro*	R406	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.6.2 N-940406-0016
In vitro metabolism of R406	Liver microsomes from humans	*in vitro*	R406	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.4 N-935788-0024
In vitro metabolism of R788, R406, and metabolites	Human and monkey fecal incubations	*in vitro*	R406 R788 R529	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.5 N-935788-0038
In vitro metabolism of R406	cDNA expressed CYP3A4 and CYP3A5	*in vitro*	R406 besylate	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.6 N-935788-0039
Metabolism of R788	Mouse plasma	oral	R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.7 N-935788-0018
Metabolism of [^{14}C]R788	Mouse, rat, rabbit	oral	[^{14}C]R406 [^{14}C]R788	[redacted] UK	4.2.2.4.10 R935788[redacted]001
Metabolism of R788	Rat plasma	oral	R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.8 N-935788-0021
Mass balance and excretion of [^{14}C]R406	Rat bile, urine, and feces	iv and oral	[^{14}C]R406	[redacted] US	4.2.2.5.2 N-940406-0015
Metabolism of [^{14}C]R406	Rat bile, urine, and feces (Samples from N-940406- 0015)	iv and oral	[^{14}C]R406	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.9 N-940406-0019
Metabolism of R406	Monkey plasma	oral	R406 besylate	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.11 N-935788-0023

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Article	Testing Facility	Location Vol. Report Number
Mass balance and metabolism of [^{14}C]R788	Cynomolgus monkey, intact and bile duct cannulated (BDC)	oral	[^{14}C]R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.5.4 N-935788-0037
Metabolism of R788	Human plasma (samples from Study C788-009)	oral	R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.12 N-935788-0022
Metabolism of R788	Human urine profile (samples from Study C788-004)	oral	R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.13 N-935788-0015
Metabolism of [^{14}C]R788	Identification of human feces metabolite (samples from study C788-014)	oral	[^{14}C]R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.4.14 N-935788-0036
Metabolism of [^{14}C]R788	Human plasma profile (sample from C788-014)	oral	[^{14}C]R788	[redacted] US	4.2.2.4.15 [redacted]203111
Excretion					
Excretion of R406 (transporter involvement)	Vesicles isolated from Sf9 ovarian cells over- expressing human MRP2. Chinese hamster ovary (CHO) cells stably expressing OATP1B1	*in vitro*	R406 besylate	[redacted] Hungary	4.2.2.6.9 N-935788-0034
Mass balance and excretion of [^{14}C]R788	Mouse	oral	[^{14}C]R788	[redacted] UK	4.2.2.5.1 [redacted]203144
Single and repeat oral administration of [^{14}C]R788	Total radioactivity pharmacokinetics in rat	oral	[^{14}C]R788	[redacted] UK	4.2.2.2.10 [redacted]203145
Excretion and mass balance of [^{14}C]R406	Rat bile, urine, and feces	iv and oral	[^{14}C]R406	[redacted] US	4.2.2.5.2 N-940406-0015
Excretion and mass balance of [^{14}C]R788	Rabbit	oral	[^{14}C]R788	[redacted] UK	4.2.2.5.3 [redacted]203139
Mass balance and metabolism of [^{14}C]R788	Cynomolgus monkey, intact and bile duct cannulated (BDC)	oral	[^{14}C]R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.5.4 N-935788-0037
Excretion and mass balance of [^{14}C]R788 in humans	Human urine and feces	oral	[^{14}C]R788	[redacted] US	5.3.3.1.4 C788-014
Pharmacokinetic Drug Interactions					
CYP inhibition (R788 effect on CYP3A4)	Human liver microsomes	*in vitro*	R788	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.6.1 N-935788-0011
CYP inhibition (K_i determination for R406 major CYP450 isoforms)	Human liver microsomes	*in vitro*	R406	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.6.2 N-940406-0016
CYP inhibition (mechanism-based inhibition by R406)	Human liver microsomes	*in vitro*	R406	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.6.4 N-935788-0035
CYP inhibition (Competitive and time dependent CYP inhibition by R406)	Human liver microsomes	*in vitro*	R406 besylate	[redacted] UK	4.2.2.6.3 [redacted]203034

Type of Study	Test System	Method of Administration	Test Article	Testing Facility	Location Vol. Report Number
CYP inhibition (R406-glucuronide effect on CYPs)	Human liver microsomes	*in vitro*	R406 N-glucuronide	[redacted], UK	4.2.2.6.5 [redacted]203035
CYP Induction	Human hepatocytes	*in vitro*	R406	[redacted], US	4.2.2.6.7 G-935788-0012
Effect of R406 on *in vitro* glucuronidation of bilirubin	Human liver microsomes and expressed UGT enzymes	*in vitro*	R406	Rigel Pharmaceuticals, Inc. South San Francisco, CA, US	4.2.2.6.6 N-935788-0019
Absorption of R406 (P-gp transport)	MDR-MDCK cells	*in vitro*	R406	[redacted], US	4.2.2.2.1 N-940406-0014
R406 inhibitor or substrate of P-gp, R788 inhibitor of P-gp	Caco-2 cells	*in vitro*	R406 besylate [^{3}H]R406 R788	[redacted] US	4.2.2.2.2 [redacted]203037
R406 and R788 inhibitor or substrate of BCRP	Vesicles	*in vitro*	R406 besylate [^{3}H]R406, R788 [^{3}H]R788	[redacted] US	4.2.2.6.8 [redacted]203039
R406 inhibitor of MRP2 and OATP1B1	Vesicles isolated from Sf9 ovarian cells over- expressing human MRP2. Chinese hamster ovary (CHO) cells stably expressing OATP1B1	*in vitro*	R406	[redacted], Hungary	4.2.2.6.9 N-935788-0034
R406 substrate and inhibitor of OAT1 and OAT3	Oocytes	*in vitro*	R406 besylate [^{3}H]R406	[redacted] US	4.2.2.6.13 [redacted]203040
R406 inhibition of OATP1B1	HEK293 cells	*in vitro*	R406	[redacted] UK	4.2.2.6.10 05102012_OATP1B1_inhib_[redacted]
Human OCT2 inhibition and substrate	HEK293 cells	*in vitro*	R406 [^{3}H]R406	[redacted] Sweden	4.2.2.6.12 [redacted]-07
R406 substrate and inhibitor of OATP1B3	HEK293 cells	*in vitro*	R406	[redacted], Hungary	4.2.2.6.11 N-935788-0040
R406 substrate of OATP1B1 and inhibition of MATE1 and MATE2-K	HEK293 cells	*in vitro*	R406	[redacted], Japan	4.2.2.6.14 [redacted]1708

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

Title	GLP (Y/N)	Report No.	Location Vol.
Validation of a Method for the Determination of R940406 in K_2EDTA CD-1 Mouse Plasma by LC-MS/MS	Y	[redacted]138[redacted] (A-940406-0011	4.2.2.1.1
LC/MS/MS Assay Validation of R940406 in Rat Plasma	Y	[redacted]138-[redacted]	4.2.2.1.2
Partial Validation of R940406 in Rat Plasma by LC/MS/MS	Y	[redacted]138-[redacted] (A-940406-0005)	4.2.2.1.3
LC/MS/MS Assay Validation of R935788 in Rat Plasma	Y	[redacted]138-[redacted] (A-935788-0001)	4.2.2.1.4
LC/MS/MS Assay Partial Validation of R940406 in Fetal Rat Plasma	Y	[redacted]138-[redacted]	4.2.2.1.5
Determination of R935788 in Fetal Rat Plasma by LC/MS/MS	Y	[redacted]138-[redacted]	4.2.2.1.6
Partial Validation of a Method for the Determination of R940406 in Rat Milk by LC-MS/MS	N	[redacted]138N-[redacted]	4.2.2.1.7
LC/MS/MS Assay Validation of R940406 in Rabbit Plasma	Y	[redacted]138-[redacted] (A-940406-0004)	4.2.2.1.8
Partial LC/MS/MS Assay Validation of R935788 in Rabbit Plasma	Y	[redacted]138-[redacted] (A-935788-0003)	4.2.2.1.9
LC/MS/MS Assay Partial Validation of R940406 in Fetal Rabbit Plasma	Y	[redacted]138-[redacted]	4.2.2.1.10
LC/MS/MS Assay Partial Validation of R935788 in Fetal Rabbit Plasma	Y	[redacted]138-[redacted]	4.2.2.1.11
Fostamatinib RIG-C (R940406): Validation of Method BA-688 for the Determination of Fostamatinib RIG-C (R940406) in Rat and Rabbit K_2-EDTA Plasma using Supported-Liquid Extraction followed by Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection	N	[redacted]-01	4.2.2.1.12
LC/MS/MS Assay Validation of R940406 in Monkey Plasma	Y	[redacted]138-[redacted]	4.2.2.1.13
Partial Validation of R940406 in Monkey Plasma by LC/MS/MS	Y	[redacted]138-[redacted] (A-940406-0006)	4.2.2.1.14
Partial Validation of R935788 in Monkey Plasma by LC/MS/MS	Y	[redacted]138-[redacted] (A-935788-0004)	4.2.2.1.15

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3.1 種差：単回経口投与（R406）

		Test Article: R406 besylate
Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley	Monkey/Cynomolgus
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/4	M/3, F/3
Study No.:	[redacted]0223	P-935788-0046
Location Vol.:	4.2.2.2.6	4.2.2.2.13
Feeding Condition:	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	TPGS solution [a]	TPGS solution [a]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	5.0 mg/kg R406 besylate [b]	15 mg/kg R406 besylate [b]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma
Analyte:	R406	R406
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:		
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	2120±433	17100±3590
$t_{1/2}$ (h)	1.88±0.72	3.78±1.45
CL (mL/min/kg)	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA
T_{max} (h)	1.13±0.60	2.08±0.49
C_{max} (ng/mL)	502±97.1	2270±349
F (%) [c]	41.5±8.46	88.0±19.0

Additional Information:
R406 exposure (dose normalized) was higher in monkeys than rats after R406 besylate was dosed in TPGS-based solution.
Data represents the mean ± SD.
[a] R406 besylate in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution).
[b] Dose expressed as R406 free base equivalent.
[c] For the monkey, bioavailability values were determined using the mean R406 data from the iv dosed monkeys in N-940406-0017.
Data represent mean ± SD
NA: Not available

2.6.5.3.2 種差：単回経口投与（Fostamatinib）

			Test Article: R788, fostamatinib Ca salt	
Species/Strain:	Mouse/CD-1	Rat/Sprague-Dawley	Rabbit/New Zealand White	Monkey/Cynomolgus
Gender (M/F)/Number of Animals:	F (n=4 per time points)	M/6	F/3	M/3, F/3
Study No.:	[redacted]0205	[redacted]0003	P-935788-0047	P-935788-0046
Location Vol.:	4.2.2.2.4	4.2.2.2.8	4.2.2.2.11	4.2.2.2.13
Feeding Condition:	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC suspension [a]	0.25% CMC suspension	0.1% CMC suspension [a]	0.1% CMC suspension [a]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	10 mg/kg R788 [b]	5 mg/kg fostamatinib Ca [b]	6.25 mg/kg fostamatinib Ca salt [b]	15 mg/kg fostamatinib Ca salt [b]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	R406, fostamatinib	R406, fostamatinib	R406, fostamatinib	R406, fostamatinib
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters (R406):				
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	1360	2920±704	20800±2860	15400±6520
$t_{1/2}$ (h)	1.14	1.27±0.22	5.75±2.12	3.27±1.85
CL (mL/min/kg)	NA	NA	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA	NA	NA
T_{max} (h)	0.25	0.69±0.34	2.00±0.00	1.75±0.76
C_{max} (ng/mL)	2090	1090±472	2580±191	2960±1060
F (%)	60.1	57.0±13.8 [c]	39.7±5.45	80.0±34.0 [c]

Additional Information:

In rats and monkeys, a suspension of the R788 yielded higher and comparable R406 exposure, respectively, when R406 TPGS-solution was administered. fostamatinib exposure was minimal following oral dosing, suggesting that the R406 exposure obtained is due to pre-systemic conversion from fostamatinib to R406.

Data represents the mean ± SD except for mice.

[a] 0.1% carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in purified water (w/w).

[b] Dose expressed as R406 free base equivalent.

[c] Bioavailability values were determined using the mean R406 iv data for rats ([redacted]0223) and monkeys (N-940406-0017).

NA: Not available

2.6.5.3.3 マウス：単回経口投与（Fostamatinib）

		Test Article: R788 Location Vol.: 4.2.2.2.4
Species/Strain:	Mouse/CD-1	Mouse/CD-1
Gender (M/F)/Number of Animals:	F (n = 4 per time points)	F (n = 4 per time points)
Study No.:	[redacted]0205	[redacted]0205
Feeding Condition:	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC suspension [a]	0.1% CMC suspension [a]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	10 mg/kg R788 [b]	50 mg/kg R788 [b]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma
Analyte:	R406, fostamatinib	R406, fostamatinib
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters (R406):		
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	1360	14200
$t_{1/2}$ (h)	1.14	1.26
CL (mL/min/kg)	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA
T_{max} (h)	0.25	0.25
C_{max} (ng/mL)	2090	14500

Additional Information:
Following oral administration of 10 and 50 mg/kg R788, R406 appeared rapidly in the plasma. Exposure to R406 increased with the increase in R788 dose, resulting in higher than dose proportional increase in the C_{max} and $AUC_{0-\infty}$. Fostamatinib exposure was not detected following oral dosing, suggesting pre systemic conversion of fostamatinib to R406.
[a] 0.1% carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in purified water (w/w).
[b] Dose expressed as R406 free base equivalent.
NA: Not available

2.6.5.3.4 マウス：単回経口投与（Fostamatinib）

			Test Article: R788 Location Vol.: 4.2.2.2.3	
Species/Strain:	Mouse/CD-1	Mouse/CD-1	Mouse/CD-1	Mouse/CD-1
Gender (M/F)/Number of Animals:	M (n = 4 per time points)	F (n = 4 per time points)	M (n = 4 per time points)	F (n = 4 per time points)
Study No.:	[redacted]0352	[redacted]0352	[redacted]0352	[redacted]0352
Feeding Condition:	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC suspension [a]	0.1% CMC suspension [a]	0.1% CMC suspension [a]	0.1% CMC suspension [a]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	250 mg/kg R788 [b]	250 mg/kg R788 [b]	450 mg/kg R788 [b]	450 mg/kgR788 [b]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	R406	R406	R406	R406
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:				
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	130000	85300	191000	149000
$t_{1/2}$ (h)	1.9	0.9	1.8	3.1
CL (mL/min/kg)	NA	NA	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA	NA	NA
T_{max} (h)	1.0	4.0	2.0	4.0
C_{max} (ng/mL)	21100	14300	24500	21900

Additional Information:
R406 appeared rapidly in the plasma. R406 exposure appeared to increase proportionally ($AUC_{0-\infty}$ and C_{max}) to the increase in R788 dose up to 600 mg/kg in both female and male mice. Increasing the dose beyond 600 mg/kg did not result in further increase in the observed $AUC_{0-\infty}$ and C_{max} values in both male and female mice. Male mice showed higher exposure to R406 than female mice at 250 and 450 mg/kg, but exposure was similar between the sexes at 600 and 750 mg/kg.
[a] 0.1% carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in purified water (w/w).
[b] Dose expressed as fostamatinib free acid equivalent.
NA: Not available

2.6.5.3.4 マウス：単回経口投与（Fostamatinib）（続き）

			Test Article: R788	
			Location Vol.: 4.2.2.2.3	
Species/Strain:	Mouse/CD-1	Mouse/CD-1	Mouse/CD-1	Mouse/CD-1
Gender (M/F)/Number of Animals:	M (n = 4 per time points)	F (n = 4 per time points)	M (n = 4 per time points)	F (n = 4 per time points)
Study No.:	[redacted]0352	[redacted]0352	[redacted]0352	[redacted]0352
Feeding Condition:	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC suspension [a]	0.1% CMC suspension [a]	0.1% CMC suspension [a]	0.1% CMC suspension [a]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	600 mg/kg R788 [b]	600 mg/kg R788 [b]	750 mg/kg R788 [b]	750 mg/kg R788 [b]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	R406	R406	R406	R406
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:				
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	304000	286000	320000	330000
$t_{1/2}$ (h)	1.1	1.3	1.6	5.5
CL (mL/min/kg)	NA	NA	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA	NA	NA
T_{max} (h)	4.0	6.0	4.0	2.0
C_{max} (ng/mL)	29600	29100	28900	27400

Additional Information:
R406 appeared rapidly in the plasma. R406 exposure appeared to increase proportionally ($AUC_{0-\infty}$ and C_{max}) to the increase in R788 dose up to 600 mg/kg in both female and male mice. Increasing the dose beyond 600 mg/kg did not result in further increase in the observed $AUC_{0-\infty}$ and C_{max} values in both male and female mice. Male mice showed higher exposure to R406 than female mice at 250 and 450 mg/kg, but exposure was similar between the sexes at 600 and 750 mg/kg.
[a] 0.1% carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in purified water (w/w).
[b] Dose expressed as fostamatinib free acid equivalent.
NA: Not available

2.6.5.3.5 ラット：単回経口投与（R406）

		Test Article: R406 besylate Location Vol.: 4.2.2.2.6
Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley	Rat/Sprague-Dawley
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/4	M/4
Study No.:	[redacted]0223	[redacted]0223
Feeding Condition:	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	TPGS solution [a]	TPGS solution [a]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	5.0 mg/kg R406 besylate [b]	50 mg/kg R406 besylate [b]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma
Analyte:	R406	R406
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:		
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	2120±433	27700±9980
$t_{1/2}$ (h)	1.88±0.72	2.11±0.68
CL (mL/min/kg)	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA
T_{max} (h)	1.13±0.6	1.50±0.58
C_{max} (ng/mL)	502±97.1	6130±1790

Additional Information:
The increase in the dose of R406 from 5 mg/kg to 50 mg/kg appeared to result in a dose proportional increase in exposure.
Data represents the mean ± SD.
[a] R406 besylate in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution).
[b] Dose expressed as R406 free base equivalent.
NA: Not available

2.6.5.3.6 ラット：単回経口投与（Fostamatinib）

		Test Article: R788 Location Vol.: 4.2.2.2.5
Species/Strain:	Rat/Sprague Dawley	Rat/Sprague Dawley
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/3	M/3
Study No.:	[redacted]0212	[redacted]0212
Feeding Condition:	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.25% CMC suspension [a]	0.25% CMC suspension [a]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	4.0 mg/kg R788 [b]	4.0 mg/kg R788 [b]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Blood, Portal vein	Blood, Jugular Vein
Analyte:	R406, fostamatinib	R406, fostamatinib
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters (R406):		
AUC_{0-4} (ng•h/mL)	2580±321	2390±93.9
$t_{1/2}$ (h)	NC	NC
CL (mL/min/kg)	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA
T_{max} (h)	0.25±0.00	0.33±0.14
C_{max} (ng/mL)	2020±467	1270±110

Additional Information:
Following oral dosing, fostamatinib did not reach the portal vein circulation. The conversion of fostamatinib to R406 appears to occur rapidly in the gastrointestinal tract within the first hour of oral dosing.
Data represents the mean ± SD.
[a] 0.25% carboxymethylcellulose sodium in purified water (w/w).
[b] Equivalent to 3.2 mg/kg of R406 free base.
NA: Not vailable
NC: Not calculated

2.6.5.3.7 ラット：単回経口投与（R406 又は fostamatinib）

		Test Article: R406 besylate, fostamatinib Ca salt
		Location Vol.: 4.2.2.2.8
Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley	Rat/Sprague-Dawley
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/6	M/6
Study No.:	[redacted]0003	[redacted]0003
Feeding Condition:	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	TPGS solution [a]	0.25% CMC suspension [b]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	5.0 mg/kg R406 besylate [c]	5.0 mg/kg fostamatinib Ca salt [c]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma
Analyte:	R406	R406, fostamatinib
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:		
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	1920±472	2920±704
$t_{1/2}$ (h)	1.74±0.59	1.27±0.22
CL (mL/min/kg)	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA
T_{max} (h)	0.64±0.29	0.69±0.34
C_{max} (ng/mL)	815±187	1090±472

Additional Information:
Fostamatinib exposure was not detected following oral dosing. Rapid pre-systemic conversion of foatamatinib resulted in R406 exposure following oral R788 dosing. As a simple CMC suspension, R788 yielded higher R406 exposure when compared with that seen following oral dosing of R406 using the TPGS solution.
Data represents the mean ± SD
[a] R406 besylate in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution, diluted 5 times in white grape juice).
[b] 0.25% carboxymethylcellulose sodium in purified water (w/w).
[c] Dose expressed as R406 free base equivalent.
NA: Not available

2.6.5.3.8 ラット：単回経口投与（R406）

		Test Article: R406 besylate Location Vol.: 4.2.2.2.7
Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley	Rat/Sprague-Dawley
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/3	M/3
Study No.:	[redacted]0260	[redacted]0260
Feeding Condition:	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	TPGS solution [a]	TPGS solution [a]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	30 mg/kg R406 besylate [b]	37.5 mg/kg R406 besylate [b]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma
Analyte:	R406	R406
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:		
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	14400±1350	16500±3250
$t_{1/2}$ (h)	1.85±0.43	1.28±0.22
CL (mL/min/kg)	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA
T_{max} (h)	0.92±0.14	0.69±0.34
C_{max} (ng/mL)	4150±293	5270±396

Additional Information:
The increase in the dose of R406 from 30 mg/kg to 37.5 mg/kg appeared to result in a dose proportional increase in exposure. The dilution ratios used in preparing the formulations did not result in changes in the exposure corrected with dose.
Data represents the mean ± SD.
[a] R406 besylate in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution), diluted with white grape juice (1:5 or 1:4).
[b] Dose expressed as R406 free base equivalent.
NA: Not available

2.6.5.3.9 ラット：単回経口投与（R406 又は fostamatinib）

		Test Article: R406 besylate, fostamatinib Ca salt	
		Location Vol.: 4.2.2.2.9	
Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley	Rat/Sprague-Dawley	Rat/Sprague-Dawley
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/4	M/4	M/4
Study No.:	[redacted]0091	[redacted]0091	[redacted]0091
Feeding Condition:	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	TPGS solution [a]	0.1% CMC suspension [b]	0.1% CMC suspension [b]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	5.0 mg/kg R406 besylate [c]	5.0 mg/kg fostamatinib calcium salt [c]	50 mg/kg fostamatinib Ca salt [c]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	R406	R406, fostamatinib	R406, fostamatinib
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:			
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	1450±163	2230±459	42100±11300
$t_{1/2}$ (h)	1.54±0.23	1.54±0.37	1.86±0.51
CL (mL/min/kg)	NA	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA	NA
T_{max} (h)	1.00±0.00	0.69±0.38	3.25±2.22
C_{max} (ng/mL)	440±73.1	736±224	5770±1230

Additional Information:
A suspension of fostamatinib Ca salt yielded higher R406 exposure than R406 besylate solution. Comparing oral fostamatinib Ca salt doses of 5 and 50 mg/kg, the higher dose resulted in a higher than dose-proportional increase in R406 exposure. Fostamatinib exposure was minimal following oral dosing, suggesting that the prodrug undergoes pre-systemic conversion to form R406.
Data represents the mean ± SD.
[a] R406 besylate in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution).
[b] 0.1% carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in purified water (w/w).
[c] Dose expressed as R406 free base equivalent.
NA: Not available

2.6.5.3.10 ウサギ：単回経口投与（Fastamatinib）

		Test Article: Fostamatinib Ca salt Location Vol.: 4.2.2.2.11
Species/Strain:	Rabbit/New Zealand White	Rabbit/New Zealand White
Gender (M/F)/Number of Animals:	F/3	F/3
Study No.:	P-935788-0047	P-935788-0047
Feeding Condition:	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC suspension [a]	0.1% CMC suspension [a]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	6.25 mg/kg fostamatinib Ca salt [b]	40 mg/kg fostamatinib Ca salt [b]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma
Analyte:	R406, fostamatinib	R406, fostamatinib
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters (R406):		
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	20800±2860	220000±34400
$t_{1/2}$ (h)	5.75±2.12	4.59±0.85
CL (mL/min/kg)	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA
T_{max} (h)	2.00±0.00	3.54±2.67
C_{max} (ng/mL)	2580±191	19000±7870

Additional Information:
Following oral administration of 6.25 and 40 mg/kg fostamatinib Ca salt, R406 appeared rapidly in the plasma. Exposure to R406 increased with the increase in fostamatinib Ca salt dose, resulting in higher than dose proportional increase in the $AUC_{0-\infty}$, but dose-proportional increases in C_{max}. fostamatinib exposure was not detected following oral dosing, suggesting that the R406 exposure obtained is due to pre-systemic conversion from fostamatinib to R406.
Data represents the mean ± SD.
[a] 0.1% carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in purified water (w/w).
[b] Dose expressed as R406 free base equivalent.
NA: Not available

2.6.5.3.11 サル：単回経口投与（R406）

		Test Article: R406 besylate Location Vol.: 4.2.2.2.12
Species/Strain:	Monkey/Cynomolgus	Monkey/Cynomolgus
Gender (M/F)/Number of Animals:	F/3	F/3
Study No.:	N-940406-0017	N-940406-0017
Feeding Condition:	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	TPGS solution [a]	TPGS solution [b]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	15 mg/kg R406 basylate (10 mg/mL) [c]	15 mg/kg R406 besylate (2 mg/mL) [c]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma
Analyte:	R406	R406
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:		
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	8390±2920	11700±2570
$t_{1/2}$ (h)	2.85±0.48	2.50±0.16
CL (mL/min/kg)	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA
T_{max} (h)	1.00±0.00	1.50±0.50
C_{max} (ng/mL)	2480±832	3090±730

Additional Information:
Monkeys were dosed using a crossover study design.
R406 is orally absorbed, and the exposure increased when the TPGS-based solution was diluted with white grape juice/HPMC.
Data represents the mean ± SD.
[a] R406 besylate in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution).
[b] R406 besylate in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution) diluted with white grape juice/HPMC.
[c] Dose expressed as R406 free base equivalent.
NA: Not available

2.6.5.3.12 サル：単回経口投与（R406 又は Fostamatinib）

			Test Article: R406 besylate, fostamatinib Ca salt Location Vol. 4.2.2.2.13	
Species/Strain:	Monkey/Cynomolgus	Monkey/Cynomolgus	Monkey/Cynomolgus	Monkey/Cynomolgus
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/3	F/3	M/3	F/3
Study No.:	P-935788-0046	P-935788-0046	P-935788-0046	P-935788-0046
Feeding Condition:	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	TPGS solution [a]	TPGS solution [a]	0.1% CMC suspension [b]	0.1% CMC suspension [b]
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	15 mg/kg R406 besylate [c]	15 mg/kg R406 besylate [c]	15 mg/kg fostamatinib Ca salt [c]	15 mg/kg fostamatinib Ca salt [c]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	R406	R406	R406, fostamatinib	R406, fostamatinib
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:				
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	15100±1550	19000±4250	10300±5180	20500±1450
$t_{1/2}$ (h)	4.66±1.62	2.91±0.57	3.60±2.85	2.94±0.22
CL (mL/min/kg)	NA	NA	NA	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA	NA	NA
T_{max} (h)	1.83±0.29	2.33±0.58	1.50±0.50	2.00±1.00
C_{max} (ng/mL)	2040±281	2510±241	2020±419	3890±115

Additional Information:
A suspension of R788 yielded comparable R406 exposure to R406 besylate solution. Fostamatinib exposure was minimal following oral dosing, suggesting that the R406 exposure obtained is due to pre-systemic conversion from fostamatinib to R406.
Data represents the mean ± SD.
[a] R406 besylate in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution).
[b] 0.1% carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in purified water (w/w).
[c] Dose expressed as R406 free base equivalent.
NA: Not available

2.6.5.3.13 種差：単回静脈内投与（R406）

			Test Article: R406 besylate	
Species/Strain:	Mouse/CD-1	Rat/Sprague-Dawley	Rabbit/New Zealand White	Monkey/Cynomolgus
Gender (M/F)/Number of Animals:	F/4 (per time points)	M/4	F/3	F/3
Study No.:	[redacted]0205	[redacted]0223	P-935788-0047	N-940406-0017
Location Vol.:	4.2.2.2.4	4.2.2.2.6	4.2.2.2.11	4.2.2.2.12
Feeding Condition:	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	100% PEG 400 solution [a]	100% PEG 400 solution [a]	100% PEG 400 solution [a]	100% PEG 400 solution [a]
Method of Administration:	iv	iv	iv	iv
Dose (mg/kg):	1 mg/kg R406 besylate [b]	1 mg/kg R406 besylate [b]	1 mg/kg R406 besylate [b]	1 mg/kg R406 besylate [b]
Sample (eg, whole blood, plasma, serum):	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	R406	R406	R406	R406
Assay:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:				
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	227	1020±225	8390±659	1290±277
$t_{1/2}$ (h)	0.58	1.51±0.52	3.41±0.67	3.09±0.78
CL (mL/min/kg)	73.5	16.9±3.99	1.99±0.16	13.4±3.27
V_{ss} (L/kg)	0.96	1.10±0.24	0.32±0.08	1.16±0.15
T_{max} (h)	NA	NA	NA	NA
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	NA	NA

Additional Information:
R406 was cleared at a low rate compared to hepatic blood flow in male rats, female rabbits and female monkeys. In mice, R406 was cleared rapidly. The volume of distribution V_{ss} of R406 was approximately 0.32 to 1.16 L/kg in all species, suggesting extravascular distribution of R406.
Data represents the mean ± SD except for mice.
[a] R406 besylate in100% PEG400.
[b] Dose expressed as R406 free base equivalent.
NA: Not available

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

CTD 2.6.6.3 参照

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1 ラット組織分布

Test Article: [^{14}C]R788
Study No.: G-935788-0011
Location Vol.: 4.2.2.3.4

Species/Strain:	Rat/Long-Evans (pigmented), Sprague-Dawley (albino)	
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/6 pigmented, M/3 albino (One animal for each time point)	
Feeding Condition:	Fasted (overnight)	
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC suspension	
Method of Administration:	oral (gavage)	
Dose (mg/kg):	20 mg/kg	
Radionuclide:	^{14}C	
Specific Activity:	7.07 µCi/mg	
Sampling Time:	Pigmented:1, 4, 8, 24, 96, 168 hours, Albino: 1, 8, and 24 hours	
	Pigmented Rat (µg equiv./g)	Albino Rat (µg equiv./g)

Tissues/Organs:	1 h	4 h	8 h	24 h	96 h	168 h	1 h	8 h	24 h
Blood	2.791	0.702	0.240	BQL	BQL	BQL	4.947	0.439	BQL
Bone marrow	1.230	0.486	BQL	BQL	BQL	BQL	4.967	0.266	BQL
Spleen	1.318	0.475	0.130	BQL	BQL	BQL	4.317	0.445	0.116
Lymph node	0.481	0.493	0.127	BQL	BQL	BQL	3.836	0.258	BQL
Liver	11.526	6.277	3.756	1.789	0.681	0.246	22.944	4.404	1.373
Thymus	1.372	0.334	BQL	BQL	BQL	BQL	3.155	0.143	BQL
Bile (in duct)	135.657	157.248	16.440	0.949	0.269	BQL	151.395	83.097	0.695
Kidney (cortex)	6.418	2.989	0.671	0.247	0.122	BQL	14.405	0.740	0.188
Kidney (medulla)	3.600	1.944	1.110	BQL	BQL	BQL	10.242	1.043	0.507
Urinary bladder	5.931	1.169	3.145	BQL	BQL	BQL	13.720	0.413	0.188
Urinary bladder (contents)	106.055	19.892	11.647	BQL	BQL	BQL	54.121	5.790	2.191
Brain (cerebrum)	0.149	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.370	BQL	BQL
Brain (cerebellum)	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.400	BQL	BQL
Brain (medulla)	0.109	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.391	BQL	BQL
Spinal cord	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.382	BQL	BQL
Adrenal gland	4.826	1.780	0.401	BQL	BQL	BQL	15.780	1.442	0.194
Pituitary gland	1.502	0.464	BQL	BQL	BQL	BQL	6.446	0.188	BQL
Thyroid	2.208	0.459	BQL	BQL	BQL	BQL	5.350	0.561	BQL
Harderian gland	4.126	1.629	0.317	0.120	BQL	BQL	20.094	1.935	0.131
Pancreas	1.607	0.497	0.167	BQL	BQL	BQL	6.231	0.405	BQL
Salivary gland	1.860	0.426	0.120	BQL	BQL	BQL	5.536	0.324	BQL
Adipose (brown)	4.388	0.960	BQL	BQL	BQL	BQL	13.741	0.654	BQL

Tissues/Organs:	1 h	4 h	8 h	24 h	96 h	168 h	1 h	8 h	24 h
Adipose (white)	7.592	1.695	BQL	BQL	BQL	BQL	13.479	0.763	BQL
Skin (non-pigmented)	1.078	0.385	BQL	BQL	BQL	BQL	3.471	0.377	BQL
Epididymis	0.745	0.433	BQL	BQL	BQL	BQL	3.016	0.401	BQL
Prostate gland	0.611	0.345	BQL	BQL	BQL	BQL	3.729	0.552	BQL
Seminal Vesicles	0.570	0.389	BQL	BQL	BQL	BQL	1.248	0.444	BQL
Testis	0.414	0.158	BQL	BQL	BQL	BQL	1.133	0.161	BQL
Heart	1.973	0.605	0.107	BQL	BQL	BQL	6.938	0.502	BQL
Skeletal muscle	0.781	0.179	BQL	BQL	BQL	BQL	3.436	0.251	BQL
Bone	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.285	0.114	BQL
Lung	1.608	0.597	0.150	BQL	BQL	BQL	4.877	0.500	BQL
Cecum	1.465	0.905	9.118	0.238	BQL	BQL	6.377	138.128	1.161
Cecum (contents)	2.854	349.436	651.078	13.224	BQL	BQL	0.347	1067.356 [a]	21.887
Large intestine	2.439	0.658	3.106	BQL	BQL	BQL	4.636	1.139	0.247
Large intestine (contents)	BQL	6.301	BQL	32.087	BQL	BQL	BQL	0.757	40.204
Small intestine	17.491	53.790	7.033	0.202	BQL	BQL	268.533	7.938	0.504
Small intestine (contents)	3408.117 [a]	663.463	456.071	2.439	BQL	0.159	2566.692 [a]	106.014	13.278
Stomach (mucosa)	3.537	0.689	BQL	BQL	BQL	BQL	3.236	0.540	0.278
Stomach (contents)	1681.297 [a]	111.370	22.907	0.431	BQL	BQL	1347.548 [a]	0.771	83.235
Eye (uveal tract)	4.809	7.381	4.300	2.253	0.714	0.570	2.555	0.306	0.211
Eye (lens)	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL

Important Findings:

Highest levels of radioactivity were observed at 1 hour in both pigmented and albino rats, after which levels decreased with time. At 24 hours (in pigmented and albino rats), most tissues had radioactivity levels below LLOQ. At 168 hours (in pigmented rats), only the liver, contents of small intestine, and uveal tract had measureable radioactivity.

Additional Information:

Brain (cerebellum) and spinal cord were BQL at all-time points in pigmented rats. Spinal cord and brain (cerebellum) in albino rat had 0.382 and 0.400 µg equiv./g tissue at 1 hour, respectively and both were BQL at 8 and 24 hours. Eye (lens) was BQL in both strains of rats at all-time points.

[a] Above upper limit of quantitation (ULOQ). Lower limit of quantitation (LLOQ) = 0.107 µg equiv./g tissue. ULOQ = 922.914 µg equiv./g tissue.

2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合

2.6.5.6.1 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿蛋白結合率（*in vitro*）

Test Article: R406
Location Vol.: 4.2.2.3.1

Test System:	Mouse, rat, rabbit, monkey, and human plasma			
Target Entity and Method:	R406, equilibrium dialysis, and LC-MS/MS			
Gender (M/F)/Number of Animals:	Pool of mixed gender, except monkey which used male and female separately			
Species	Concentration Tested (ng/mL)	% Protein Bound	Saturability	Study No.
Mouse	100	99.2±0.1	At 20000 ng/mL	N-935788-0020
	1000	99.0±0.1		
	20000	97.7±0.2		
Rat	100	98.1±0.3	None in this range	N-935788-0020
	1000	98.1±0.2		
	10000	97.6±0.2		
Rabbit	100	99.5±0.3	None in this range	N-935788-0020
	1000	99.6±0.1		
	4000	99.6±0.03		
	10000	99.6±0.1		
	40000	99.4±0.1		
Monkey Male	100	98.5±0.1	None in this range	N-935788-0020
	1000	98.3±0.1		
	10000	98.3±0.04		
Monkey Female	100	98.6±0.2	None in this range	N-935788-0020
	1000	98.5±0.2		
	10000	98.3±0.1		
Human	100	98.4±0.1	None in this range	N-935788-0020
	1000	98.2±0.2		
	4000	98.3±0.1		

Important Findings:
R406 plasma protein binding was high (97.6% to 99.6%) in all species examined.
Additional Information:
Data represents the mean ± SD.

2.6.5.6.2 ヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖蛋白質への結合

Test Article: [^{14}C]R406
Location Vol.: 4.2.2.3.2

Test System:	Human serum albumin (0.6 mmol/L, 40 g/L) and α_1-acid glycoprotein (20 µmol/L, 0.8 mg/mL)				
Target Entity, Test System, and Method:	[^{14}C]R406, equilibrium dialysis, and LSC				
Gender (M/F)/Number of Animals:	Not applicable				
Radionuclide:	^{14}C				
Specific Activity:	57.3 mCi/mmol				
Species	Concentration Tested (ng/mL)	% Protein Bound		Saturability	Study No.
		Mean	Overall mean		
Human serum albumin	100	93.4	96.3	> 4000 ng/mL	[redacted]002
	1000	97.6			
	4000	97.7			
Human α_1-acid glycoprotein	100	69.9	75.5	> 4000 ng/mL	[redacted]002
	1000	75.7			
	4000	79.1			

Important Findings:
R406 was highly bound to human serum albumin, while binding to human α_1-acid glycoprotein was less than that observed to albumin.
Additional Information:
Samples were incubated for 6 hours at 37°C, after which aliquots of each compartment were assayed for radioactivity. Protein binding was calculated as follows:
Protein Binding = (dpm/mL protein compartment − dpm/ mL buffer compartment)/ dpm/mL protein compartment

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.7.1 ラット: 胎盤・胎児への移行

Test Article: R788
Study No.: G-935788-0007
Location Vol.: 4.2.3.5.2.3

Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley			
Gestation Day/Number of Animals:	Days 6 to 17 of gestation (for 12 days). TK animals given 1 additional dose on Day 21/6 (per dosing group)			
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC suspension [a]			
Method of Administration:	oral (gavage)			
Analyte:	R406, fostamatinib			
Assay:	LC-MS/MS			
Dose (mg/kg, *bid*):	Vehicle control	2.5	6.25	12.5
Time after Administration on Day21 of Gestation (h)	1	1	1	1
Concentration (ng/mL: R406) [b]				
Dam	BQL	302	802	1610
Fetus	BQL	49.6	129	206
Maternal/Fetal Ratio (individual)	Not calculated	4.9 to 10.5		

Additional Information:
On Day 21 of gestation, the maternal and fetal blood collections were conducted at the estimated maternal C_{max}. Approximately one hour after dosing, the animals were bled and Cesarean sections were performed. All male and female fetuses were harvested and blood was collected.
Concentrations reported as BQL (< 1 ng/mL) were treated as zero for calculation of the mean.
In most of maternal and all of fetal samples, plasma concentrations of fostamatinib were BQL, regardless of the dose tested.
Numbers were rounded to 3-digits.
[a] 0.1% Carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in water (w/w)
[b] R406 concentration represents the mean of 6 animals.

2.6.5.7.2 ウサギ: 胎盤・胎児への移行

Test Article: R788
Study No. : G-935788-0006
Location Vol.: 4.2.3.5.2.4

Species/Strain:	Rabbit/New Zealand White											
Gestation Day/Number of Animals:	Days 7 to 19 of gestation (for 13 days). TK animals given 1 additional dose on Day 29/4 (per dose group)											
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC susupension [a]											
Method of Administration:	oral (gavage)											
Analyte:	R406, fostamatinib											
Assay:	LC-MS/MS											
Dose (mg/kg, *bid*):	5				11				25			
Time after Administration on Day29 of Gestation (h):	1				1				1			
Animal No.:	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304
Plasma Concentration (ng/mL: R406):												
Dam:	1960	1860	1800	1150	NS	2510	2950	2450	2530	2060	6520	NR
Fetus [b]:	379	126	NS	166	NS	249	482	460	522	2180	612	967
Maternal/Fetal Ratio:	5.2	14.8	NC	6.9	NC	10.1	6.1	5.3	4.8	0.9	10.7	NC

Additional Information:
On Day 29 of gestation, the maternal and fetal blood collections were conducted at the estimated maternal C_{max}. Approximately one hour after dosing, the animals were bled and Cesarean sections were performed. Four randomly selected fetuses (two males and two females) were harvested and blood was collected.
In most of maternal and all of fetal samples, plasma concentrations of fostamatinib were BQL (< 1 ng/mL), regardless of the dose tested.
Numbers were rounded to 3-digits.
[a] 0.1% Carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in water (w/w).
[b] Concentration of one fetus or mean of 2 to 4 fetuses.
NS: No sample
NR: Not reportable
NC: Not calculated

2.6.5.7.3 ラット: 乳汁排泄

Test Article: R788
Study No.: G-935788-0014
Location Vol.: 4.2.3.5.3.1

Species:	Rat/ Sprague-Dawley			
Lactating Date/Number of Animals:	Day 14/4 (per dose group)			
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC suspension [a]			
Method of Administration:	oral (gavage)			
Analyte:	R406			
Assay:	LC-MS/MS			
Dose (mg/kg, *bid*):	Vehicle Control	1.25	6.25	12.5
Time (hr):	2	2	2	2
Concentration (ng/mL):				
Milk:	BQL	312±98.3	1570±718	6460±2940
Plasma:	BQL	32.0±10.8	255±119	1150±493
Milk/Plasma:	NC	9.9±1.5	6.9±3.3	5.5±1.0

Additional Information:
Samples were collected approximately 2 hours after the second *bid* dose on Day 14 of lactation.
Concentrations reported as BQL (< 1 ng/mL for plasma, < 10 ng/mL for milk) were treated as zero for calculation of mean and SD.
NC: Not calculated (division by zero)
Following *bid* oral gavage administration of R788 to female rats from the time of implantation through lactation and weaning, concentrations of R406 were measurable in both the plasma and the milk of each R788-treated dam on Day 14 of lactation. Increases in dose resulted inapproximately dose-proportional or greater than dose-proportional increases in R406 concentrations in plasma and milk.
Numbers were rounded to 3-digits.
[a] 0.1% Carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in water (w/w).

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8.1 血球移行

Test Article: [^{14}C]R406
Study No. : [redacted]002
Location Vol.: 4.2.2.3.2

Test System:	Human blood			
Target Entity, Test System, and Method:	[^{14}C]R406, *in vitro* blood, [^{14}C]R406 spiked into blood and then blood separated by centrifugation and then fractions analyzed by scintillation counting			
Gender (M/F)/Number of Animals:	Human, M/2 and F/2			
Radionuclide:	^{14}C			
Specific Activity:	57.3 mCi/mmol			
Association of [^{14}C]R406 (50, 500 and 2000 ng/mL) with human red blood cells at 4°C and 37°C				
Target Concentration (ng/mL)	4°C Incubation		37°C Incubation	
	Whole Blood:Plasma Ratio	Associated with Red Blood Cells (%)	Whole Blood:Plasma Ratio	Associated with Red Blood Cells (%)
50	2.58±0.07	78.6±0.73	2.72±0.05	80.0±0.49
500	2.56±0.06	78.7±0.64	2.61±0.02	79.4±0.34
2000	1.92±0.04	71.5±0.81	1.96±0.02	72.6±0.67
Association of [^{14}C]-R940406 (50, 500 and 2000 ng/mL) with human plasma, monocytes and red blood cells				
Target Concentration (ng/mL)	Actual Concentration (ng/mL)	% Association of Plasma	% Association of Monocytes	% Association of red Blood Cells
50 to 2000	47.3 to 1859	22.3±0.93	4.14±0.29	73.6±1.2

Important Findings:
The mean whole blood:plasma ratio was approximately 2.6, but this decreased to approximately 1.9 at the highest concentration investigated (2000 ng/mL). These data suggested that there was uptake of [^{14}C]R406 into blood cells which may become saturated at higher concentrations. [^{14}C]R406 distributed into both the red blood cells and monocytes although had a higher affinity to the former.
Additional Information:
Values represent the mean ± SE.

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

2.6.5.9.1 *In vivo* 代謝のまとめ

				Test Article: [^{14}C]R406, [^{14}C]R788		
Species/Strain:	Mouse/CD-1	Rat/Sprague Dawley	Rat/Han Wister	Rabbit/New Zealand White	Monkey/Cynomolgus	Human
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/19 and F/9	M/3	M/5	F/3	M/2 or 3	M/6
Feeding Condition:	Fed	Fasted	Fed	Fed	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC suspension	TPGS solution [a]	0.1% CMC suspension [b]	0.1% CMC suspension	0.01 N Citrate buffer (pH 6.5) solution	0.01 N Citrate buffer (pH 6) solution
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)	oral
Dose (mg/kg):	10 mg/kg	15 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg	12 mg/kg	150 mg/body
Radionuclide:	^{14}C	^{14}C	^{14}C	^{14}C	^{14}C	^{14}C
Specific Activity:	42.0 µCi/mg	5.4 µCi/mg	21.3 µCi/mg	3.4 µCi/mg	1.65 µCi/mg	0.67 µCi/mg
Compound:	[^{14}C]R788	[^{14}C]R406	[^{14}C]R788	[^{14}C]R788	[^{14}C]R788	[^{14}C]R788
Study No.:	[redacted]203144 R935788[redacted]001	N-940406-0015 N-940406-0019	[redacted]203145 R935788[redacted]001	[redacted]203139 R935788[redacted]001	N-935788-0037 N-935788-0023	C788-014 [redacted]203111
Location Vol.	4.2.2.5.1 4.2.2.4.10	4.2.2.5.2 4.2.2.4.9	4.2.2.2.10 4.2.2.4.10	4.2.2.5.3 4.2.2.4.10	4.2.2.5.4	5.3.3.1.4 4.2.2.4.15

Species	Sample	Sampling Time or Period	Cumulative excretion % [c]	% of Compound in Sample						Study No.
				R406	M1	M2	M3	M4	M5	
Mouse [d]	Plasma [j]	0.083-6 h	—	63.4	6.2	ND	ND	ND	ND	R935788[redacted]001
	Urine	0-24 h	8.3% (male) 10.3% (female)	ND	24.2	9.6	ND	ND	ND	R935788[redacted]001
	Feces	0-24 h	82.9% (male) 82.4% (female)	4.6	ND	6.5	ND	3.0	ND	R935788[redacted]001
Rat (intact)	Plasma	0.167-6 h	—	73.4	4.7	ND	5.0	ND	ND	R935788[redacted]001
	Urine	0-6 h	4.9	1.0	23.0	10.0 [e]	10.0 [e]	ND	ND	N-940406-0019
	Feces	0-24 h	83.7	27.0	ND	ND	8.0	58.0	ND	N-940406-0019
Rat (BDC)	Bile	2-6 h	46.7	ND	66.0	23.0 [e]	23.0 [e]	ND	ND	N-940406-0019
Rabbit	Plasma	0.083-6 h	—	83.1	1.9	ND	ND [f]	ND	ND	R935788[redacted]001
	Urine [g]	6-24 h	6.9	ND	4.0	12.0	ND	ND	ND	R935788[redacted]001
	Feces [h]	0-48 h	84.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	R935788[redacted]001

Species	Sample	Sampling Time or Period	Cumulative excretion %[c]	% of Compound in Sample						Study No.
				R406	M1	M2	M3	M4	M5	
Monkey[i]	Plasma	0-24 h	—	<97	<3	<1	<1	ND	ND	N-935788-0023
	Bile	0-24 h	68.9% (BDC)	ND	major	major	minor	ND	ND	N-935788-0037
	Urine	0-4 h	3.1% (intact) 4.6% (BDC)	ND	major	major	major	ND	ND	N-935788-0037
	Feces	0-24 h	81.7% (intact) 17.7% (BDC)	major	ND	ND	ND	ND	major	N-935788-0037
Human	Plasma	2 h	–	94.5	ND	1.3	1.3	ND	ND	[redacted]203111
	Urine	0-72 h	19.3	0.8	1.4	2.8	75.2	ND	ND	C788-014
	Feces	0-120 h	80.0	23.6	ND	ND	ND	4.2	24.1	C788-014

Important Findings:
R406 represented the major drug-related product in plasma of all species. R406 was not observed in bile or in urine of most species, the exception being the rats and humans were a small amount of R406 was observed. R406 was observed in feces, and may represent unabsorbed drug.
Additional Information:
Metabolite Identification: M1; glucuronide of 529, M2; sulfate of R529, M3; N-glucuronide of R406, M4; R529, M5; R567.
Fostamatinib was not detected in plasma or urine from any species. Feces of mouse and rabbit were the only samples where fostamatinib was observed, representing 5.2 to 5.5% of the administered dose.
[a] R406 besylate in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution).
[b] 0.1% Carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in water (w/w).
[c] Total recovery of each animal, 0-48 h for monkeys (BDC), 0-120 h for mice and rabbits, 0-168 h for rats and monkeys, 0-192 h for humans.
[d] Pattern of metabolites was similar in male and female mice. The values presented in table are the higher percentage observed between the two sexes. In mouse feces the major metabolites were products of N-des-trimethoxyphenyl metabolite of R406 (M26: 31.9 and 21.8% of the dose in male and female mice, respectively).
[e] Co-eluting by HPLC-RAD (no HPLC-RAD peak).
[f] Detection by LC-MS analysis only.
[g] Two sulfate metabolites of desmethyl-R406 (M23 and M28) were observed in approximately equal levels in rabbit urine.
[h] The major metabolite in rabbit feces (m/z 871) was a putative trihydroxy-diglucuronide metabolite of R406, representing 46.7% (sum of M29 and M30) of dosed radioactivity.
[i] The levels of metabolites in the monkey study were not quantitated. The relative abundance of the ^{14}C metabolites was determined from the profiles in bile, urine, and feces. For the plasma LC/MS analysis by using peak area ratio was used to approximate the levels.
[j] Only male plasma samples were pooled.
ND: Not detected

2.6.5.9.2 ヒト血漿中代謝物

Test Article: R788
Study No.: [redacted]203111
Location Vol.: 4.2.2.4.15

Species:	Human
Gender (M/F)/Number	M/6
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.01 N Citrate buffer (pH 6) solution
Method of Administration:	oral
Dose (mg/kg):	150 mg/body
Radionuclide:	^{14}C
Specific Activity:	0.67 µCi/mg

Peak	Metabolite ID	Concentration (ng eq. R406/g)						AUC_{0-24} (ng eq. R406•h/g)	% total AUC
		0.5 h	2 h	4 h	8 h	16 h	24 h		
M15	Glucuronide of R529	8.7	ND	7.2	ND	ND	ND	30.2	0.4
M18	Sulfate of R529	9.2	11.4	15.4	23.4	ND	ND	216.0	2.8
M20	N-glucuronide of R406	12.0	10.8	4.6	ND	ND	ND	44.7	0.6
M35	R406	708.4	818.6	547.1	331.5	160.5	105.4	7476.5	96.3

Important Findings:
R406 was the major drug-related compound in plasma at all time points.
Additional Information:
Human subjects received a single oral dose (150 mg) of 100 µCi [^{14}C]R788. Plasma concentrations for R406 and for each metabolite were calculated from the metabolite profiling study ([redacted]203111) converting fostamatinib ng eq./g to R406 ng eq./g using a conversion factor of 0.8105 based on the ratio of the R406 and fostamatinib molecular weights (470.45/580.46). AUC values were calculated by using the trapezoidal method.
ND: Not detected

2.6.5.9.3 マウス、ラット及びウサギ血漿中代謝物

			Test Article: [^{14}C]R788
Species/Strain:	Mouse/CD-1	Rat/Han Wister	Rabbit/New Zealand White
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/19	M/5	F/3
Feeding Condition:	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC susupension	0.1% CMC susupension [a]	0.1% CMC susupension
Method of Administration:	oral (gavage)	oral (gavage)	oral (gavage)
Dose (mg/kg):	10 mg/kg [b]	5 mg/kg [b]	5 mg/kg [b]
Radionuclide:	^{14}C	^{14}C	^{14}C
Specific Activity:	42.0 µCi/mg	21.3 µCi/mg	3.4 µCi/mg
Compound:	[^{14}C]R788	[^{14}C]R788	[^{14}C]R788
Study No.:	[redacted]203144 R935788[redacted]001	[redacted]203145 R935788[redacted]001	[redacted]203139 R935788[redacted]001
Location Vol.	4.2.2.5.1 4.2.2.4.10	4.2.2.2.10 4.2.2.4.10	4.2.2.5.3 4.2.2.4.10

% of Total Radioactivity in the Chromatogram

Species	R406	Glucuronide of R529	Sulfate of R529	N-glucuronide of R406	other	total
Mouse	63.4 (81.1)	6.2 (7.9)	ND (NC)	ND (NC)	8.6 (11.0)	78.2 (100.0)
Rat	73.4 (82.1)	4.7 (5.3)	ND (NC)	5.0 (5.6)	6.3 (7.0)	89.4 (100.0)
Rat (repeat dosing)	76.3 (87.8)	3.1 (3.6)	ND (NC)	3.5 (4.0)	4.0 (4.6)	86.9 (100.0)
Rabbit	83.1 (90.6)	1.9 (2.1)	ND (NC)	ND [c] (NC)	6.7 (7.3)	91.7 (100.0)

Important Findings:
R406 was the major drug-related compound in plasma in all species.
The values in parentheses indicate % of tolal [^{14}C]R788 related peak.
[a] 0.1% Carboxymethylcellulose sodium, 0.1% methylparaben sodium, 0.02% propylparaben sodium in water (w/w)
[b] Dose expressed as fostamatinib free acid equivalent.
[c] Detection by LC-MS analysis only (no HPLC-RAD peak).
The values in parentheses indicate the percent of total peak area.
Plasma samples were pooled for up to 6 hours.
ND: Not detected
NC: Not calculated

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

2.6.5.10.1 代謝種差

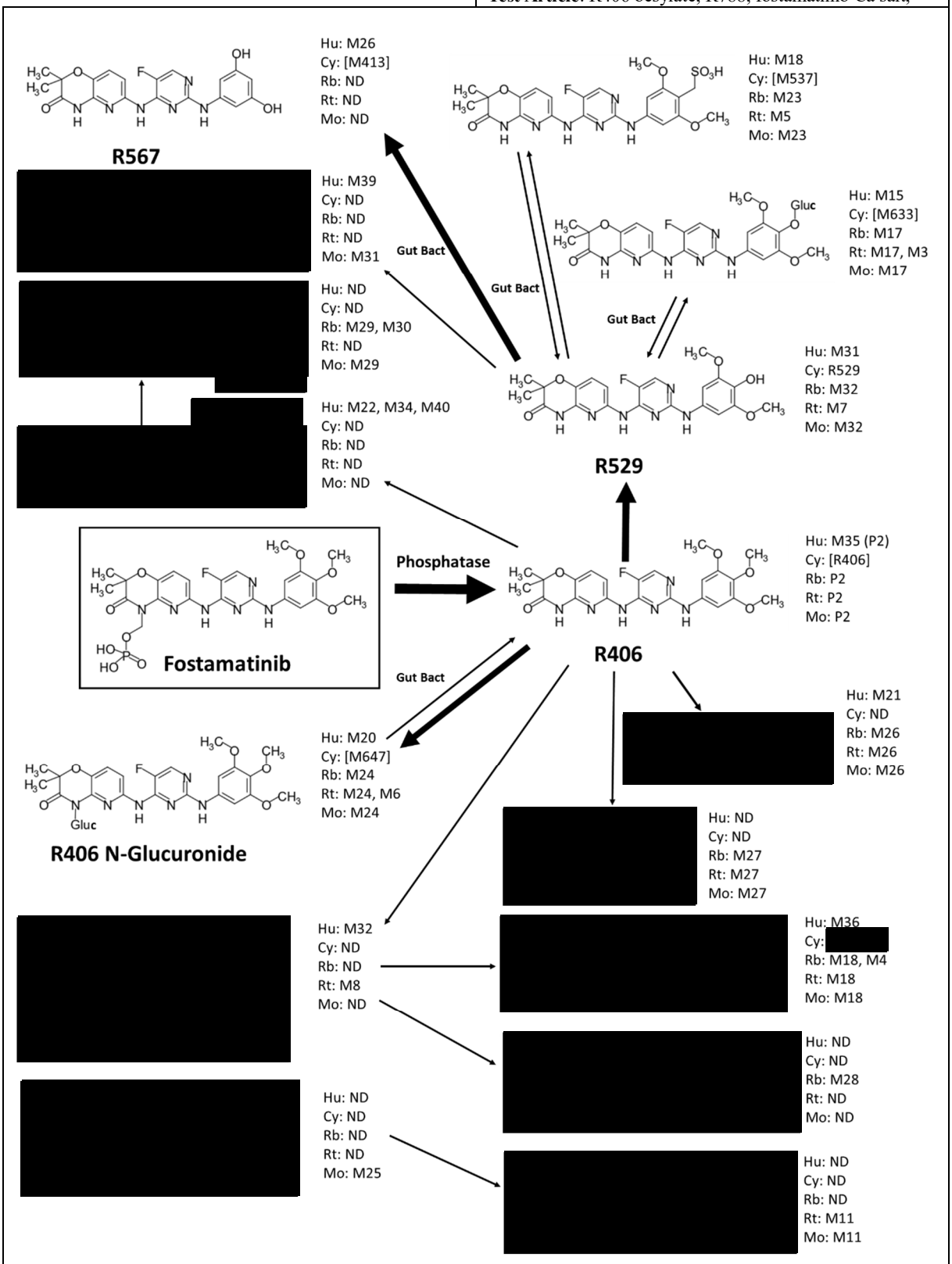
				Test Article: R406
Test System:	Hepatic microsomes	Hepatic microsomes	Hepatic microsomes	Hepatic microsomes
Species:	Mouse	Rat	Monkey	Human
Study No.:	N-935788-0025	N-940406-0016	N-940406-0016	N-940406-0016
Location Vol.	4.2.2.4.1	4.2.2.6.2	4.2.2.6.2	4.2.2.6.2
Time:	50 min	50 min	50 min	50 min
Concentration:	1 µmol/L	1 µmol/L	1 µmol/L	1 µmol/L
Compounds:				
Parent	R406	R406	R406	R406
M-1	O-demethylated R406 (R529)	O-demethylated R406 (R529)	O-demethylated R406 (R529)	O-demethylated R406 (R529)

Important Findings:
The para-O-demethylated metabolite of R406 (R529) was the major metabolite formed in hepatic microsomes from all species.
Additional Information:
Pooled male human, pooled male cynomolgus monkey, and pooled male Sprague-Dawley rat hepatic microsomes were used. Hepatic microsomes from male and female ICR/CD-1 mice were used. Final concentration of hepatic microsomes was 0.5 mg/mL for mouse studies and 0.2 mg/mL for other species. Analyses were performed by LC-MS with UV detection or LC-MS/MS.

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

表 2.6.5.11-1

Test Article: R406 besylate, R788, fostamatinib Ca salt,



Location Vol.: 4.2.2.4.9、4.2.2.4.10、4.2.2.4.15、4.2.2.5.4、5.3.3.1.4

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12.1 CYP 阻害（1）

Test Article: R406	
Study No.: N-940406-0016	
Location Vol.: 4.2.2.6.2	

Type of Study:	Inhibitory effects on CYP1A2, CYP3A, CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 activity	
Method:	The Ki values for the R406 inhibition of CYP450 isoforms were determined using human hepatic microsomes. R406 concentrations used for the CYP2D6 and CYP3A assays were 0.1, 0.2, 0.5, 2.0, 5.0, 10.0, and 25 µmol/L. For all other assays, R406 concentrations were 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, and 20 µmol/L.	
Tabulated Results: Summary for competitive inhibition		
CYP Isoform	Probe Substrate	Ki with R406 (µmol/L)
CYP1A2	Phenacetin	59
CYP2C9	Diclofenac	21
CYP2C19	*S*-Mephenytoin	67
CYP2D6	Dextromethorphan	89
CYP3A	Midazolam	13
CYP3A	Testosterone	12

Important Findings:
R406 was not a potent inhibitor as K_i was > 10 µmol/L for all five important drug-metabolizing human CYP isoforms studied.

2.6.5.12.2 CYP 阻害（2）

Test Article: R406 besylate
Study No.: [redacted]203034
Location Vol.: 4.2.2.6.3

Type of Study:	Inhibitory effects on CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, and CYP2E1 activity (competitive and time dependent CYP Inhibition) Inhibitory effects on CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 activity (time dependent inhibition).
Method:	The rate of metabolite formation from selective CYP450 marker substrates by pooled human liver microsomes was measured in the presence of six concentrations of R406 (0.3, 1, 3, 10, 30 and 100 µmol/L) plus solvent control. These activities were measured using the following probe substrates: coumarin (CYP2A6), bupropion (CYP2B6), paclitaxel (CYP2C8), and chlorzoxazone (CYP2E1). The potential for time-dependent inhibition of CYP enzymes was investigated by pre- incubating R406 for 30 minutes with human liver microsomes in the presence and absence of NADPH. Activities of CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2E1, CYP1A2 (phenacetin), CYP2C9 (tolbutamide), CYP2C19 (S-mephenytoin), and CYP2D6 (bufuralol) were examined. The metabolism of probe substrates was determined by LC-MS/MS methods to quantify metabolite formation. Relevant control incubations were performed and selective CYP isoform-selective reversible and time dependent inhibitors (single concentrations) were used as positive controls.

Tabulated Results:
Summary for competitive inhibition

CYP Isoform	Probe Substrate	IC_{50} with R406 (µmol/L)
CYP2A6	Coumarin	No inhibition
CYP2B6	Bupropion	No inhibition
CYP2C8	Paclitaxel	31
CYP2E1	Chlorzoxazone	No inhibition

Important Findings:
R406 produced no competitive inhibition of CYP2A6, CYP2B6, and CYP2E1, while R406 showed moderate inhibition of CYP2C8.
No time-dependent inhibition of any CYP450 isoform examined (CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP2E1) in this study was observed.

2.6.5.12.3 CYP 阻害（3）

Test Article: R406
Study No. : N-935788-0035
Location Vol.: 4.2.2.6.4

Type of Study:	Inhibitory effect on CYP3A (time-dependent inhibition)			
Method:	The potential for R406 to produce a time-dependent inhibition of CYP3A was examined using human hepatic microsomes. For the pre-incubation part of the experiment, pooled human hepatic microsomes were incubated at 37°C in phosphate buffer (0.1 mol/L) with various concentrations of R406 (0-50 µmol/L). The residual CYP3A activity was monitored by metabolism of 50 µmol/L testosterone or 1 µmol/L midazolam.			
Tabulated Results: Kinetic parameters for time-dependent inhibition of CYP3A				
Inhibitor	K_I (µmol/L) Testosterone 6-β hydroxylation	k_{inact} (min^{-1}) Testosterone 6-β hydroxylation	K_I (µmol/L) Midazolam 1-hydroxylation	k_{inact} (min^{-1}) Midazolam 1-hydroxylation
R406	2.3	0.024	1.0	0.022

Important Findings:
R406 was found to produce a time-dependent inhibition of CYP3A.
Additional Information:
The potential impact of time-dependent inhibition of CYP3A has been examined in the clinical study where R788 co-administration with midazolam gave rise to a 23% increase in the midazolam AUC_{0-24}.

2.6.5.12.4 CYP 阻害（4）

Test Article: R406 N-glucuronide
Study No.: [redacted]203035
Location Vol.: 4.2.2.6.5

Type of Study:	Inhibitory effects on CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, and CYP3A (competitive and time-dependent inhibitions)
Method:	The rate of metabolite formation from selective cytochrome CYP450 marker substrates, by pooled human liver microsomes, was measured in the presence of six concentrations of R406 N-glucuronide (0.3, 1, 3, 10, 30, and 100 µmol/L) plus solvent control. LC-MS/MS methods were used for analysis.

Tabulated Results:
Summary for competitive inhibition

CYP isoform	Substrate	Residual Activity with R406 N-glucuronide at 100 µmol/L (% mean, n=3)	Residual Activity with Positive Control (% mean, n=3)	Positive Control Inhibitor
CYP1A2	Phenacetin	96.0	10.4	α-Naphthoflavone
CYP2A6	Coumarin	107 *	26.8	8-Methoxypsoralen
CYP2B6	Bupropion	103	38.0	Thio-TEPA
CYP2C8	Paclitaxel	87.4	48.5	Quercetin
CYP2C9	Tolbutamide	92.0	11.3	Sulphaphenazole
CYP2C19	*S*-Mephenytoin	101	17.9	Tranylcypromine
CYP2D6	Bufuralol	106	11.1	Quinidine
CYP2E1	Chlorzoxazone	105	16.2	Diethylthiocarbamate
CYP3A	Testosterone	99.6	11.4	Ketoconazole
CYP3A	Midazolam	98.4	6.32	Ketoconazole

Important Findings:
R406 N-glucuronide did not result in the competitive inhibition of CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, and CYP3A (testosterone and midazolam). R406 N-glucuronide showed no/minimal time-dependent inhibition of CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, and CYP3A (testosterone and midazolam) at the concentrations examined in this study.
Additional Information:
R0406 N-glucuronide produced limited (12.6%) inhibition of CYP2C8, not sufficient to require determination of the IC_{50} value.
* mean of 2 determinations

2.6.5.12.5 CYP 誘導

Test Article: R406
Study No.: G-935788-0012
Location Vol.: 4.2.2.6.7

Type of Study:	Assessment of induction potential of CYP450 in cultured human hepatocytes
Method:	Cultured human hepatocytes from three separate human (2 male and 1 female) livers were treated once daily for 3 consecutive days with dimethyl sulfoxide (DMSO), 3 concentrations of R406 (1, 3, or, 10 µmol/L) or known human CYP inducers, omeprazole, phenobarbital, and rifampicin. Microsomes were isolated from hepatocytes 24 hours after the last treatment and assayed for activities known to be specific for CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A.

Tabulated Results:
Effects on CYP enzyme activity: Fold increase (treated/vehicle control).

Fold Increase

Treatment	Concentration	Phenacetin O-dealkylation (CYP1A2)	Bupropion hydroxylation (CYP2B6)	Amodiaquine N-dealkylation (CYP2C8)	Diclofenac 4'-hydroxylation (CYP2C9)	*S*-Mephenytoin 4'-hydroxylation (CYP2C19)	Testosterone 6β-hydroxylation (CYP3A)
DMSO	0.1% v/v	1.00±0.43	1.00±0.34	1.00±0.57	1.00±0.27	1.00±0.95	1.00±0.37
R406	1 µmol/L	1.58±0.77 (NA)	1.51±0.60 (6.27±6.15)	1.80±0.95 (16.2±11.2)	1.09±0.06 (12.7±10.9)	1.35±0.25 (6.37±3.46)	1.08±0.29 (NA)
R406	3 µmol/L	2.43±1.72 (7.37±8.16)	1.93±1.01 (12.4±9.9))	3.55±2.80 (52.8±28.8)	1.22±0.26 (22.7±17.9)	2.04±0.27 (21.7±12.7)	0.89±0.44 (NA)
R406	10 µmol/L	2.12±1.06 (5.88±4.88)	2.12±0.61 (16.9±5.4)	4.33±3.24 (74.7±38.1)	1.19±0.08 (29.3±20.3)	2.37±0.36 (28.3±16.0)	0.90±0.26 (NA)
Omeprazole	100 µmol/L	18.8±2.4 (100±0)	3.72±2.01	2.78±0.74	1.06±0.11	0.86±0.31	0.96±0.39
Phenobarbital	750 µmol/L	2.73±0.97	7.70±2.64 (100±0)	5.35±1.23	1.45±0.07	2.78±1.46	3.69±0.37
Rifampicin	10 µmol/L	2.04±0.96	4.97±2.29	5.00±2.48 (100±0)	1.78±0.38 (100±0)	6.36±1.53 (100±0)	4.27±1.51 (100±0)

Important Findings:
Inducer as value exceeds 40% of positive control (rifampicin) for CYP2C8 (3 and 10 µmol/L), indicating that R406 was an inducer of this isoform. All other isoforms were not induced by R406.
Data represent the mean ± SD
The values in parentheses indicate the fold increase ratio to positive control.
NA: Not applicable. Individual values include negative numbers that preclude the determination of an average value.

2.6.5.12.6 UGT1A1 阻害

Test Article: R406	
Study No.: N-935788-0019	
Location Vol.: 4.2.2.6.6	

Type of Study:	Determination of R406 inhibition of UGT1A1 catalyzed bilirubin glucuronidation by human liver microsomes and cDNA expressed enzyme	
Method:	Human liver microsomes from a pool of livers were activated by preincubation with alamethacin (0.05 mg/mg protein) for 15 minutes. cDNA expressed UGT1A1 was obtained commercially. Both systems were incubated at 37°C with bilirubin (0.1-10 µmol/L). All reactions contained 5 mmol/L UDP-glucuronic acid (UDPGA). Metabolism rates were measured from formation of bilirubin conjugates by LC-MS/MS. Bilirubin contains 2 carboxylic acid groups and can exist as 2 isomers. Therefore, a total of 4 monoglucuronide conjugates would be expected, so that the amounts of each conjugate formed were summed. R406 concentrations were 0.025-12.5 µmol/L. Indinavir was used as a positive control inhibitor at 1.6-400 µmol/L. Buprenorphine was used as a potential competitive substrate at 1.6-44 µmol/L.	
Tabulated Results: Summary of IC_{50} values for UGT1A1		
Inhibitor	IC_{50} in Human Liver Microsomes (µmol/L)	IC_{50} in Human cDNA expressed UGT1A1 (µmol/L)
R406	0.4	0.5
Indinavir	30	70
Buprenorphine	> 40	—

Important Findings:
This study demonstrates that R406 is a potent UGT1A1 inhibitor, and suggests that its effect on UGT1A1-mediated bilirubin glucuronidation may be responsible for the increase in unconjugated bilirubin levels observed in some patients receiving R788.

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1 単回投与：絶食

							Test Article: [^{14}C]R788/[^{14}C]R406					
Species/Strain:	Human			Monkey/Cynomolgus			Rat/Sprague-Dawley			Rat/Sprague-Dawley		
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/6			M/3			M/3			M/3		
Feeding Condition:	Fasted			Fasted			Fasted			Fasted		
Vehicle/Formulation:	0.01 N citrate buffer (pH 6) solution			0.01N citrate buffer (pH 6.5) solution			PEG400 solution [a]			TPGS solution [a]		
Method of Administration:	oral			oral (gavage)			iv			oral (gavage)		
Dose:	150 mg [b]			12 mg/kg [b]			1 mg/kg [b]			15 mg/kg [b]		
Test Article:	[^{14}C]R788			[^{14}C]R788			[^{14}C]R406			[^{14}C]R406		
Radionuclide:	^{14}C			^{14}C			^{14}C			^{14}C		
Specific Activity:	0.67 µCi/mg			1.65 µCi/mg			40.4 µCi/mg			5.4 µCi/mg		
Analyte:	TRA			TRA			TRA			TRA		
Assay:	LSC			LSC			LSC			LSC		
Study no.:	C788-014			N-935788-0037			N-940406-0015			N-940406-0015		
Location Vol.:	5.3.3.1.4			4.2.2.5.4			4.2.2.5.2			4.2.2.5.2		
Collection Time	% of administered radioactivity			% of administered radioactivity			% of administered radioactivity			% of administered radioactivity		
	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total
0-24 h	13.7	0.1	13.8	2.7	52.1	54.8	8.9	75.3	84.2	4.6	74.9	79.5
0-48 h	17.5	17.5	35.5	3.0	76.9	79.9	9.1	78.0	87.2	4.8	83.4	88.2
0-72 h	18.7	44.9	63.6	3.0	80.8	83.8	9.1	78.3	87.5	4.8	83.5	88.3
0-144 h	19.3	78.6	97.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0-168 h [c]	19.3	80.0	99.3	3.1	81.7	84.8 (89.3)	9.2	78.5	87.7 (90.5)	4.9	83.7	88.6 (89.8)
0-192 h	19.3	80.0	99.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Important Findings:
Fecal elimination was the major route of elimination of R406 in all species. Urinary elimination of drug-related product was highest in human.

[a] [^{14}C]R406 in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution)

[b] Dose expressed as R406 free base equivalent or fostamatinib free acid equivalent.

[c] The values in parentheses indicate the values including cage wash/rinse and carcass.

2.6.5.13.2 単回投与：非絶食

							Test Article: [^{14}C]R788		
Species/Strain:	Mouse/CD-1			Mouse/CD-1			Rabbit/New Zealand White		
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/9			F/9			F/3		
Feeding Condition:	Fed			Fed			Fed		
Vehicle/Formulation:	0.1% CMC solution			0.1% CMC solution			0.1% CMC solution		
Method of Administration:	oral (gavage)			oral (gavage)			oral (gavage)		
Dose [a]	10 mg/kg [a]			10 mg/kg [a]			5 mg/kg [a]		
Test Article:	[^{14}C]R788			[^{14}C]R788			[^{14}C]R788		
Radionuclide:	^{14}C			^{14}C			^{14}C		
Specific Activity:	42.0 µCi/mg			42.0 µCi/mg			3.4 µCi/mg		
Analyte:	TRA			TRA			TRA		
Assay:	LSC			LSC			LSC		
Study no.:	[redacted]203144			[redacted]203144			[redacted]203139		
Location Vol.:	4.2.2.5.1			4.2.2.5.1			4.2.2.5.3		
Collection Time	% of administered radioactivity			% of administered radioactivity			% of administered radioactivity		
	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total
0-24 h	8.0	82.0	90.0	9.4	80.9	90.3	6.1	66.1	72.2
0-48 h	8.2	82.5	90.7	10.0	82.1	92.1	6.8	80.5	87.3
0-72 h	8.3	82.7	91.0	10.2	82.3	92.5	6.9	83.4	90.3
0-120 h [b]	8.3	82.9	91.2 (92.0)	10.3	82.4	92.7 (93.7)	6.9	84.4	91.3 (92.5)

Important Findings:
Fecal elimination was the major route of elimination of R406 in all species.
[a] Dose expressed as fostamatinib free acid equivalent.
[b] The values in parentheses indicate the values including cage wash/rinse and carcass.

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

									Test Article: [^{14}C]R788/[^{14}C]R406			
Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley				Rat/Sprague-Dawley				Monkey/Cynomolgus			
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/3				M/3				M/2			
Feeding Condition:	Fasted				Fasted				Fasted			
Vehicle/Formulation:	PEG400 solution				TPGS solution [a]				0.01 N citrate buffer (pH 6.5)			
Method of Administration:	iv				oral (gavage)				oral (gavage)			
Dose:	1 mg/kg [b]				15 mg/kg [b]				12 mg/kg [b]			
Test article:	[^{14}C]R406				[^{14}C]R406				[^{14}C]R788			
Radionuclide:	^{14}C				^{14}C				^{14}C			
Specific Activity:	40.5 µCi/mg				5.4 µCi/mg				1.65 µCi/mg			
Analyte:	TRA				TRA				TRA			
Assay:	LSC				LSC				LSC			
Study No.:	N-940406-0015				N-940406-0015				N-935788-0037			
Location Vol.:	4.2.2.5.2				4.2.2.5.2				4.2.2.5.4			
Collection Time	% of administered radioactivity				% of administered radioactivity				% of administered radioactivity			
	Bile	Urine	Feces	Total	Bile	Urine	Feces	Total	Bile	Urine	Feces	Total
0-24 h	83.4	3.9	3.3	90.6	45.9	5.3	31.1	82.3	62.7	4.1	11.5	78.3
0-48 h [c]	83.9	4.0	4.3	92.2 (92.3)	46.7	6.0	37.0	89.7 (90.3)	68.9	4.6	17.7	91.2 (93.1)

Important Findings:
Biliary elimination of drug related material was the major route of R406 elimination in both rat and monkey.
[a] [^{14}C]R406 in TPGS-based solution (40% TPGS/60% propylene glycol solution)
[b] Dose expressed as R406 free base equivalent or fostamatinib free acid equivalent.
[c] The values in parentheses indicate the values including cage wash/rinse and carcass.

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1 P-gp 基質性/阻害評価

Test Article: R406 besylate, [^{3}H]R406, R788
Study No.: [redacted]203037
Location Vol.: 4.2.2.2.2

Type of Study:	*In vitro* transporter study to determine whether fostamatinib and R406 are inhibitors and R406 is a substrate of the human P-glycoprotein (ABCB1) efflux transporter using Caco-2 cell monolayers				
Method:	Bidirectional transport of [^{3}H]R406 in Caco-2 cell monolayers was determined at three concentrations (0.1, 1.0, and 3.0 µmol/L) over four time points (30, 60, 90, and 120 minutes), and subsequently at one concentration (1.0 µmol/L) in the presence and absence of the selective P-gp inhibitors ketoconazole (25 µmol/L) and quinidine (100 µmol/L), in order to establish whether R406 is a substrate of the P-gp efflux transporter. In addition, transport of the known P- gp substrate [^{3}H]digoxin (5 µmol/L) was determined in the absence and presence of six concentrations of R788 and R406 (0.3, 1, 3, 10, 30, and 100 µmol/L) to establish whether R788 and R406 are inhibitors of P-gp.				
Tabulated Results: Summary of determined bidirectional apparent permeability at the nominal 1.0 µmol/L R406 concentration in the presence and absence of P-gp inhibitors (90 minutes).					
Compound as substrate (R406 only)	Apical-to-basolateral P_{app} (cm/s × 10^{-6}) at 120 min		Basolateral-to-apical P_{app} (cm/s × 10^{-6}) at 120 min		Efflux Ratio
[^{3}H]R406 0.045 µmol/L (nominal 0.1 µmol/L)	5.02		36.1		7.2
[^{3}H]R406 0.279 µmol/L (nominal 1.0 µmol/L)	6.09		30.2		5.0
[^{3}H]R406 1.23 µmol/L (nominal 3.0 µmol/L)	2.63		10.9		4.1
[^{3}H]Digoxin (5 µmol/L)	0.440		12.0		27
Compound	Apical-to-basolateral P_{app} (cm/s × 10^{-6}) at 90 min		Basolateral-to-apical P_{app} (cm/s × 10^{-6}) at 90 min		Efflux Ratio
Effect of inhibitor (R406 only)	Mean	SD	Mean	SD	
[^{3}H]R406 0.300 µmol/L (nominal 1.0 µmol/L) (+DMSO)	4.98	0.379	19.5	0.495	3.9
[^{3}H]R406 0.317 µmol/L (nominal 1.0 µmol/L) (+quinidine)	7.16	0.372	16.4	0.776	2.3
[^{3}H]R406 0.348 µmol/L (nominal 1.0 µmol/L) (+ketoconazole)	9.08	0.364	14.2	0.240	1.6
As inhibitor (R406 and R788)	Apparent IC_{50} (µmol/L)				
Fostamatinib	3.2				
R406 [a]	No inhibition				

Important Findings:
R406 is a substrate, but not an inhibitor of P-gp.
Fostamatinib is an inhibitor of the human P-gp efflux transporter *in vitro*.
[a] The highest soluble concentration of R406 was 10 µmol/L in the *in vitro* test system conditions.

2.6.5.15.2 P-gp 基質性評価

Test Article: R406
Study No.: N-940406-0014
Location Vol.: 4.2.2.2.1

Type of Study:	*In vitro* transporter study to determine whether R406 is a substrate of the human P-glycoprotein (ABCB1) efflux transporter using MDR-expressing MDCK cell monolayers
Method:	Confluent MDR-MDCK monolayers were used for bi-directional flux experiments in multiwell Costar Transwell® plates for times up to 120 minutes at initial R406 concentrations of 10 µmol/L. Apical (A)/basolateral (B) and B/A fluxes were measured to calculate apparent permeability values (P_{app}). Digoxin was used a positive control substrate and cyclosporin A (CSA) as an inhibitor of the P-gp transporter. Drug concentrations were measured by LC-MS.

Tabulated Results:
Summary of determined bidirectional apparent permeability and efflux ratio

Test	$P_{app\ AB}$ (10^{-6} cm/s)	$P_{app\ B/A}$ (10^{-6} cm/s)	Ratio $P_{app\ B/A}/P_{app\ A/B}$
R406 (10 µmol/L)	9.60	8.09	0.8
R406 + CSA (10 µmol/L)	13.3	13.7	1.0
Digoxin (10 µmol/L)	0.29	12	40
Digoxin + CSA (10 µmol/L)	1.74	2.00	1.1
Propranolol (10 µmol/L)	21	NT	NC
Propranolol + CSA (10 µmol/L)	19	NT	NC
Pindolol (10 µmol/L)	9.52	NT	NC
Pindolol + CSA (10 µmol/L)	10.8	NT	NC
Atenolol (10 µmol/L)	0.12	NT	NC
Atenolol + CSA (10 µmol/L)	0.17	NT	NC
Lucifer Yellow (10 µmol/L)	0.13	NT	NC
Lucufer Yellow + CSA (10 µmol/L)	0.14	NT	NC

Important Findings:
The permeability rate for R406 was high, similar to reference substrate pindolol. There was no clear evidence for efflux of R406 by the P-gp transporter.
NT: Not tested
NC: Not calculated

2.6.5.15.3 BCRP 基質性/阻害評価

Test Article:	R406 besylate, [^{3}H]R406, R788, [^{3}H]R788/
Study No.:	[redacted]203039
Location Vol.:	4.2.2.6.8

Type of Study:	*In vitro* transporter study to determine whether fostamatinib and R406 are substrates and inhibitors of human BCRP.	
Method:	Uptake of [^{3}H]R788 and [^{3}H]R406 into BCRP-expressing and control vesicles was determined at one concentration (1.0 µmol/L) over five time points (1, 2, 3, 5, and 10 minutes) to establish whether fostamatinib and R406 are substrates of the BCRP efflux transporter. Inhibition studies were performed examining the effect of R788 and R406 on the uptake of the known BCRP substrate [^{3}H]estrone-3-sulfate (1.0 µmol/L). Initially, six concentrations of fostamatinib (0.30, 1.0, 3.0, 10, 30, and 100 µmol/L) and R406 (0.060, 0.20, 0.60, 2.0, 6.0, and 20 µmol/L) were used for the inhibition studies. These concentrations were too high to determined IC_{50} values, so further studies used lower concentrations (0.0009, 0.0027, 0.0082, 0.025, 0.074, 0.22, 0.67, and 2.0 µmol/L) of fostamatinib and R406.	
Tabulated Results: Summary of BCRP mediated uptake and inhibitory effect on BCRP		
Compound	SD-sensitive uptake ratio* At 1, 2, 3, 5 and 10 min	IC_{50} (µmol/L) for inhibition of estrone 3-sulfate uptake
R406	0.65, 0.75, 0.67, 0.75, 0.78	0.031
Fostamatinib	0.89, 0.95, 0.89, 0.79, 0.95	0.050

Important Findings:
Fostamatinib and R406 were found to be inhibitors but not substrates of the human BCRP efflux transporter *in vitro*.
Additional Information:
Uptake activity results were considered positive if the mean activity value in the transporter vesicles + ATP was greater than in control vesicles + ATP (or transporter vesicles minus ATP), and if the standard deviation of activity did not render the activity equal between the two conditions.
* Standard-deviation (SD)-sensitive uptake ratio: $(Activity_{\text{BCRP vesicles + ATP}} - SD_{\text{BCRP vesicles + ATP}})/(Activity_{\text{control condition}} + SD_{\text{control condition}})$
Where: control condition is either BCRP vesicles - ATP or Control vesicles + ATP (whichever had greater activity overall)

2.6.5.15.4 MRP2 及び OATP1B1 阻害評価

Test Article: R406
Study No.: N-935788-0034 and 05102012_OATP1B1_inhib_[redacted]
Location Vol.: 4.2.2.6.9, 4.2.2.6.10

Type of Study:	*In vitro* transporter study to determine whether R406 is inhibitor of MRP2 (ABCC2) ABC (efflux) transporter and OATP1B1 (OATP2, OATP-C) uptake transporter.
Method:	MRP2 assays were performed using membrane vesicles in the inside out orientation obtained from Spodoptera Frugiperda (Sf9) ovarian cells transfected to express MRP2. OATP1B1 studies were performed using CHO cells stably transfected to express OATP1B1. OATP1B1 inhibition by R406 was also examined in HEK293 cells. R406 (0.05, 0.16, 0.49, 1.5, 4.4, 13.3, and 40 µmol/L) was incubated with membrane vesicle preparations or CHO cells and a reporter substrate. Reporter substrate for MRP2 was estradiol 17β-glucuronide (50 µmol/L). The reporter substrate for OATP1B1 was estrone-3-sulfate (0.1 µmol/L). For the MRP2 membrane studies, incubations were carried out with and without ATP to distinguish between transporters mediated uptake and passive diffusion into the vesicles. Reactions were carried out in the presence of 2 mmol/L glutathione. For both assays, R406 was added to the reaction mixture in 0.75 µL of solvent (1% or less of the final incubation volume). The inhibition by R406 of substrate uptake into the vesicles or cells was determined by liquid scintillation counting. The effect of R406 (0.3, 1, 3, 10, 30 and 100 µmol/L) on the uptake of [^{3}H]estradiol 17β-glucuronide (0.02 µmol/L) was also determined in HEK293.

Tabulated Results:
Calculated reaction parameters from vesicles and cellular uptake assay

Test Article	Assay	Assay IC_{50} (µmol/L)/Efficacy (%)
R406	MRP2 (vesicles from Sf9)	>40 µmol/L (25% inhibition at 40 µmol/L)
	OATP1B1 (CHO cells)	>40 µmol/L (35% inhibition at 40 µmol/L)
	OATP1B1 (HEK293 cells) [a]	>10 µmol/L (27% inhibition at 10 µmol/L)

Important Findings:
R406 had minimal inhibition of transport by MRP2 and OATP1B1, and thus no IC_{50} value could be calculated. At the highest R406 concentration (40 µmol/L) only a 25% inhibition MRP2 mediated transport, and a 35% inhibition OATP1B1 mediated transport was observed.
[a] The highest soluble concentration of R406 was 10 µmol/L in the *in vitro* test system conditions.

2.6.5.15.5 OATP1B3 基質性/阻害評価

Test Article: R406	
Study No.: N-935788-0040	
Location Vol.: 4.2.2.6.11	

Type of Study:	*In vitro* transporter study to determine whether R406 is inhibitor and substrate of human OATP1B3	
Method:	OATP1B3 studies were performed using HEK293 cells stably transfected to express OATP1B3. Inhibition studies were performed examining the effect of R406 (0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, and 10 µmol/L) on the uptake of the reporter substrate CCK8. An LC-MSMS method was used to determine the uptake of R406 (0.3 and 1 µmol/L) into the HEK293 cells stably transfected with OATP1B3 compared to control cells.	
Tabulated Results: Summary of OATP1B3 mediated uptake and inhibitory effect on OATP1B3		
Test Article	Assay	Result
R406	OATP1B3 inhibition [a]	22% inhibition at 1 µmol/L
	OATP1B3 uptake	Not a substrate

Important Findings:
At the 1 µmol/L R406 concentration a 22% inhibition of CCK8 uptake was observed. From the accumulation ratio (R406 uptake into in HEK293 cells stably transfected with OATP1B3/uptake into control cells), it was determined that R406 was unlikely to be a substrate for OATP1B3 (1.0-1.01 fold at the 0.3 µmol/L R406 and 1.15-1.24-fold at the 1 µmol/L R406).
[a] Because of the limited solubility of R406 (1 µmol/L was highest soluble concentration) an IC_{50} value for the inhibition of CCK8 uptake could not be determined.

2.6.5.15.6 OAT1 及び OAT3 基質性/阻害評価

Test Article: R406besylate, [^{3}H]R406
Study No.: [redacted]203040
Location Vol.: 4.2.2.6.13

Type of Study:	*In vitro* transporter study to determine R406 is a substrate and/or inhibitor of human OAT1 (SLC22A6) and OAT3 (SLC22A8) uptake transporters using OAT1- and OAT3-expressing and control oocytes.
Method:	The uptake of known OAT1 and OAT3 substrate [^{3}H]methotrexate (MTX, at 10 µmol/L) was determined in the absence and presence of six increasing concentrations of R406 (0.10 to 30 or 0.11 to 32 µmol/L) into control, OAT1-, and OAT3-expressing oocytes to establish whether R406 inhibits these transporters. Additionally, uptake of [^{3}H]R406 into control, OAT1-, and OAT3-expressing oocytes was determined at three concentrations (nominal 0.10, 1.0, and 3.0 µmol/L) to establish whether R406 is a substrate of these transporters.

Tabulated Results:
Summary of OAT1 and OAT3 mediated uptake of [^{3}H]R406 and inhibitory effects on OAT1 and OAT3

Transporter	Observed [^{3}H]R406 Concentration	pmol [^{3}H]R406 in control oocytes		pmol [^{3}H]R406 in transporter oocytes		Uptake Ratio	SD-Sensitive Uptake Ratio	Inhibition of Methotrexate uptake IC_{50} (µmol/L)
	(µmol/L)	Mean	SD	(µmol/L)	Mean			
Human OAT1	0.083	0.27	0.090	0.29	0.043	1.1	0.68	ND
	0.69	2.0	0.060	2.0	0.30	0.98	0.65	
	2.2	4.6	0.79	4.8	0.85	1.0	0.73	
Human OAT3	0.062	0.20	0.029	0.17	0.063	0.88	0.49	ND
	0.63	1.4	0.29	1.5	0.47	1.1	0.64	
	1.9	1.9	0.48	2.0	0.45	1.1	0.67	

Important Findings:
R406 was found to be a non-inhibitor and a non-substrate of human OAT1 and OAT3 uptake transporters *in vitro*.
Additional Information:
Uptake activity results were considered positive, if the mean activity value in the transporter expressing oocytes was greater than that in the control oocytes, and if the standard deviation of activity did not render the activity equal between the control and transporter-expressing oocytes.
Uptake ratio = UT/UC,
where UT is the mean rate of uptake into transporter expressing oocytes [pmol/oocyte/h] and UC is the mean rate of uptake into control oocytes [pmol/oocyte/h].
SD-sensitive uptake ratio = UT - SDT/UC + SDC,
where UT is the mean rate of uptake into transporter expressing oocytes [pmol/oocyte/h], UC is the mean rate of uptake into control oocytes [pmol/oocyte/h], SDT is the standard deviation of the replicates in the transporter-expressing oocytes and SDC is the standard deviation of the replicates in the control oocytes.
ND: Not determined as inhibition did not reach 50%.

2.6.5.15.7 R406 の OCT2 基質性/阻害評価

Test Article: R406/[^{3}H]R406
Study No.: [redacted]-07
Location vol.: 4.2.2.6.12

Type of Study:	*In vitro* transporter study to determine whether R406 is inhibitor of OCT2 (SLC22A2) and R406 is a substrate for OCT2 using HEK293 cells, stably transfected with either the human OCT2 transporter.
Method:	The experimental system used was a HEK293, stably transfected with the human OCT2 transporter (HEK-OCT2) or empty vector (HEK-pTREX). To verify that the experimental system was functional, the uptake of [^{14}C]metformin, a known OCT2 substrate, was studied in the absence and presence of Decynium-22 (D-22, 0.015 to 100 µmol/L), a known OCT2 inhibitor. The inhibitory effect of R406 was evaluated by exposing the cells to [^{14}C]metformin in presence of four concentrations of R406 (0.015, 0.14, 1.2, and 11 µmol/L). Relevant vehicle control incubations (DMSO or DMSO/ethanol in transport buffer) were included and D-22 (10 µmol/L) was used as a positive control inhibitor.

Tabulated Results:
Summary of OCT2 mediated uptake of [^{3}H]R406 and inhibitory effects on OCT2

	Substrate/Inhibitor	Incubation Time (min)	Uptake Ratio (HEK OCT2/ HEK-pTREX)	Inhibition (%)
Transport	[^{3}H]R406 (1 µmol/L)	2	1.57 ± 0.18	—
		10	1.18 ± 0.18	-
	[^{3}H]R406 (1 µmol/L) + Decynium-22 (10 µmol/L)	2	1.34 ± 0.18	14.6
		10	1.01 ± 0.09	14.4
	[^{14}C]metformin (10 µmol/L)	2	95.9 ± 17	—
		10	30.9 ± 7.6	—
	[^{14}C]metformin (10 µmol/L) + Decynium-22 (10 µmol/L)	2	22.1 ± 2.4	77.0
		10	19.5 ± 1.2	36.9
Inhibition of metformin transport by R406	[^{14}C]metformin (10 µmol/L)	2	68.1	—
	[^{14}C]metformin (10 µmol/L) + R406 (11 µmol/L)	2	52.1	23.5

Important Findings:
R406 was not a significant substrate for the OCT2 transporter, neither was it a potent inhibitor of metformin transport, with only 24% inhibition at 11 µmol/L.
Additional Information:
OCT2 is an uptake transporter situated on the basolateral membrane of the renal tubular epithelium and is involved in the disposition of metformin. The concentration of [^{14}C]metformin (10 µmol/L) was chosen based on the therapeutic concentration of this drug and previous experiments in this laboratory, resulting in a K_m value of 657 µmol/L and a V_{max} value of 46364 pmol/mg/min.
Data for most uptake ratios is the mean ± SD.

2.6.5.15.8 R406 の OATP1B1 基質性評価並びに MATE1 及び MATE2-K 阻害評価

Table 2.6.5.15.8-1

Test Article: R406
Study No.: [redacted]1708[redacted]
Location Vol.: 4.2.2.6.14

Type of Study:	*In vitro* transporter study to determine whether R406 is inhibitor of MATE1 and MATE2-K using MATE1- or MATE2-K-expressing HEK293 cells and R406 is substrate of OATP1B1 using OATP1B1-expressing HEK293 cells.
Method:	In the assessments of MATE1 and MATE2-K inhibitory effect, [^{14}C]metformin (10 µmol/L), a probe substrate of MATE1 and MATE2-K, was incubated with MATE1 or MATE2-K expressing cells at 37°C for 5 min in the presence of R406 (0.1, 0.3, 1, 3, and 10 µmol/L). The samples were incubated in n = 3. In the assessment as OATP1B1 substrate, R406 (0.3 and 1 µmol/L) was incubated with OATP1B1-expressing cells at 37°C for 2, 5, and 10 min. The cleared volumes of R406 into OATP1B1-expressing cells were comparable with those into control cells. The samples were incubated in n = 3.

Tabulated Results:
Assessment of MATEs inhibition

Probe substrate	Test substance ortypical inhibitor	Prepared concentration (µmol/L)	Cleared volume (µL/mg protein)		% of control	IC_{50} (µmol/L)
			Control cells	MATE-expressing cells		
MATE1 [^{14}C]Metformin (10 µmol/L)	R406	0	0.995±0.056	39.3±1.5	100.0	2.29
		0.1	0.788±0.086	26.9±1.6	68.2	
		0.3	0.952±0.129	29.8±4.7	75.3	
		1	0.557±0.054	20.0±2.9	50.8	
		3	0.698±0.047	20.1±2.4	50.7	
		10	1.21±0.99	20.0±1.2	49.1	
	Cimetidine	10	0.475±0.018	3.60±0.09	8.2	—
MATE2-K [^{14}C]Metformin (10 µmol/L)	R406	0	1.18±0.18	24.6±0.7	100.0	0.195
		0.1	1.09±0.51	12.6±1.7	49.1	
		0.3	0.943±0.027	11.9±2.1	46.8	
		1	0.616±0.025	5.54±0.90	21.0	
		3	0.720±0.063	5.96±0.73	22.4	
		10	1.11±0.38	7.15±1.35	25.8	
	Cimetidine	10	0.632±0.174	4.03±0.43	14.5	—

Assessment as OATP1B1 substrate

Compound	Prepared concentration (µmol/L)	Incubation time (min)	Cleared volume (µL/mg protein)	
			Control cells	OATP1B1-expressing cells
R406	0.3	2	62.0±5.7	62.1±0.6
		5	73.6±10.0	98.5±10.4
		10	96.2±14.8	115±22
	1	2	87.0±8.1	86.2±7.6
		5	91.4±21.0	111±26
		10	125±9	135±14

Compound	Prepared concentration (μmol/L)	Incubation time (min)	Cleared volume (μL/mg protein)	
			Control cells	OATP1B1-expressing cells
[^{3}H]E$_2$17ßG	0.05	2	0.574±0.192	121±3

Important Findings:
R406 were found to be inhibitors of MATE1 and MATE2-K but not substrates of the OATP1B1 *in vitro*.
Additional Information:
Data represent mean ± SD
[^{3}H]E$_2$17ßG: [^{3}H]estradiol 17ß-grucuronide
Cleared volume (μL/mg protein) = Uptake amount (dpm/well or pmol/well)/ Protein content (mg protein/well)×Initial concentration (dpm/μL or pmol/μL)

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

該当する試験なし