Ropeginterferon alfa-2b
ベスレミ皮下注 250 μg シリンジ
ベスレミ皮下注 500 μg シリンジ

第 2 部 CTD の概要
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.4 薬物動態試験の概要文

ファーマエッセンシアジャパン株式会社

略号一覧表

略語・用語	内容
AUC	血清中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	0 時間から無限大時間までの血清中濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	0 時間から最終濃度測定可能時間までの血清中濃度－時間曲線下面積
CL	クリアランス
CL/F	見かけのクリアランス
C_{max}	最高血清中濃度
CV	変動係数
CYP	シトクロム P450
ELISA	酵素結合免疫吸着測定法
FDA	米国食品医薬品局
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
IC_{50}	50%阻害濃度
ICH	医薬品規制調和国際会議
IFN	インターフェロン
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LLOQ	定量下限
mRNA	メッセンジャーリボ核酸
MRT_{last}	0 時間から最終濃度測定可能時間までの平均滞留時間
NMPA	中国国家食品薬品監督管理局
[redacted]	[redacted]
P1101	ropeginterferon alfa-2b; AOP2014
P1040	プロリン IFNα-2b
PCR	ポリメラーゼ連鎖反応
PD	薬力学
PEG	ポリエチレングリコール
PK	薬物動態
SEC-HPLC	サイズ排除クロマトグラフィー
$t_{1/2}$	終末相消失半減期
TCA	トリクロロ酢酸
TK	トキシコキネティクス
Vd/F	見かけの分布容積
V_z	終末相における分布容積
WHO	世界保健機関

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.4 薬物動態試験の概要文 4
2.6.4.1 まとめ 4
2.6.4.2 分析法 4
2.6.4.2.1 カニクイザルの血清中 P1101 濃度を定量するための免疫学的分析法のバリデーション（4.2.2.1.1 Study No. MV 44108-08-18） 4
2.6.4.2.2 カニクイザルの血清中抗 P1101 抗体を検出するための免疫学的分析法のバリデーション（4.2.2.1.2 Study No. MV 44108-08-19） 5
2.6.4.2.3 サイズ排除クロマトグラフィー（SEC-HPLC）法による P1101 製剤の分析法バリデーション（4.2.2.1.3 Study No. PEC-V0002） 5
2.6.4.2.4 P1101 製剤中のタンパク濃度定量のための 280 nm における紫外吸光光度法のバリデーション（4.2.2.1.4 Study No. PEC- V0004） 6
2.6.4.3 吸収 6
2.6.4.4 代謝（動物種間の比較） 7
2.6.4.4.1 *In Vitro* 及び *In Vivo* における代謝 7
2.6.4.4.2 肝薬物代謝酵素の誘導及び阻害 7
2.6.4.4.2.1 CYP 誘導：CYP に対する TA-19-172〔Ropeginterferon alfa-2b（P1101）〕の誘導能を評価するための *In Vitro* 試験（4.2.2.4.1 Study No. RD-S1909-12） 7
2.6.4.4.2.2 CYP 阻害 8
2.6.4.4.2.2.1 シトクロム P450 酵素（CYP）に対する P1101 の直接的な阻害能を評価するためのヒト肝ミクロソームを用いた *In Vitro* 試験（4.2.2.4.2 Study No. 8417-482） 8
2.6.4.4.2.2.2 シトクロム P450 酵素（CYP）に対する P1101 の時間依存的な阻害能を評価するためのヒト肝ミクロソームを用いた *In Vitro* 試験（4.2.2.4.3 Study No. 8417-483） 9
2.6.4.4.3 単回投与したときの薬物動態：雄カニクイザルを用いた P1101 及びペガシスの薬物動態／薬力学比較試験（4.2.2.2.1 Study No. 44104-08-242) 10
2.6.4.4.4 反復投与したときの薬物動態／トキシコキネティクス：カニクイザルを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験における P1101 の薬物動態／トキシコキネティクス評価（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101） 10
2.6.4.5 分布 11
2.6.4.6 排泄 12
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 12
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 12
2.6.4.9 考察及び結論 12
2.6.4.10 図表 15
2.6.4.11 参考文献 16

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

Ropeginterferon alfa-2b 〔ペグ化プロリン-インターフェロン（IFN）α-2b の原薬、開発コード：P1101〕は、IFN-α-2b の N 末端に導入したプロリン残基を介してポリエチレングリコール（PEG）を結合させたヒト遺伝子組み換え IFN である。P1101 の活性を有するのは IFN 部分である一方、結合した PEG は本薬の *in vivo* における安定性を増大しクリアランスを減少させている。P1101 は血小板増加、白血球増加、赤血球増加及び骨髄の線維化を特徴とするフィラデルフィア染色体陰性の骨髄増殖性腫瘍に属する真性多血症の治療を目的として開発されている。

P1101 を単回投与したときの薬物動態（PK）特性は、カニクイザルを用いた薬物動態／薬力学（PK／PD）複合試験の一部として検討した。その詳細は 2.6.2.2.1 項に示されている。試験の最初のパート（フェーズ I）において、P1101 の PK 特性を既承認のペグ化 IFNα-2a 製剤であるペガシスのそれと比較した。両ペグ化 IFN 製剤を 30 µg/kg の用量で皮下投与したとき、極めて類似した PK プロファイルを示した。試験の 2 番目のパート（フェーズ II）において、P1101 を 30 µg/kg の用量で静脈内投与したときの全身曝露量と比較することにより P1101 を皮下投与したときのバイオアベイラビリティを検討したところ、30 及び 300 µg/kg の用量ではそれぞれ 80%及び 42%と見積もられた。ただし、抗 IFN 抗体が産生した可能性があるため、この結果は慎重に解釈すべきである。

更に、P1101 を反復投与したときの薬物動態／トキシコキネティック（PK／TK）評価を、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）下で実施されたカニクイザルを用いた毒性試験の一部として行った。その詳細は 2.6.6.3 項に示されている。

また、シトクロム P450（CYP）分子種に対する P1101 の誘導能及び阻害能を *in vitro* 試験を用いて評価した結果、本薬は CYP2A6 に対して時間依存的な阻害作用を示す可能性が示唆されたことを除き、検討した CYP 分子種に対して誘導作用及び阻害作用を示さなかった。

2.6.4.2 分析法

カニクイザルの血清中における P1101 濃度の定量及び抗 P1101 抗体検出を目的とした免疫学的測定法のバリデーションを実施した。また、P1101 製剤を分析するために、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC-HPLC）及び紫外吸光光度法に基づく分析法のバリデーションを行った。

上述の PK／PD 試験及び毒性試験における PK 又は TK 評価及び免疫原性評価のための生体試料分析、並びに P1101 製剤の分析は、GLP 非適用下で実施した。なお、GLP 非適合であったことが、得られたデータの品質あるいは試験全体の信頼性に影響を及ぼすことはなかったと判断された。

2.6.4.2.1 カニクイザルの血清中 P1101 濃度を定量するための免疫学的分析法のバリデーション（4.2.2.1.1 Study No. MV 44108-08-18）

カニクイザルの血清中 P1101 を定量することを目的とし、免疫学的分析法のバリデーションを Bridge Laboratories（中国）で実施した。本法は、商品化されたサンドイッチ酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）キット〔PBL Assay Science（米国）〕を基にしている。バリデーションの結果、本分析法により十分な真度（-8.2%～0.1%）、精度〔分析単位内（併行）精度：5.2%～7.5%及び分析単位間（室内再現）精度：5.4%～14.3%〕、希釈直線性（希釈の妥当性）、特異性、選択性及び感度（定量下限：125 pg/mL 及び定量上限：4000 pg/mL）をもって血清試料を測定できることが示され

た。これにより、確立された定量範囲は 125～4000 pg/mL であった。また、カニクイザルの血清中において、P1101 は 3 回の凍結融解サイクルを通じて安定であった。室温及び 2～8°C において、血清中の P1101 はそれぞれ 6 及び 18 時間安定であった。したがって、本測定系はカニクイザルの血清中 P1101 濃度の検出及び定量法として妥当であると判断された。

本法は PK／PD 試験（4.2.2.2.1 Study No. 44104-08-242）における PharmaEssentia Corp.（台湾）での血清中濃度の測定に用いられたが、その PK 試料分析の時点ではバリデーションは未実施であった。その後、カニクイザルを用いて GLP 下で実施したピボタル 4 週間反復皮下投与毒性試験（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101）の一部として TK 試料を分析するために、バリデーション済の本生体試料分析法をスポンサーの研究施設〔PharmaEssentia Corp.（台湾）〕に移管し、血清中 P1101 の定量に供した。カニクイザルを用いて GLP 下で実施した 14 日間反復皮下投与によるロット比較毒性試験（4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300）では、Bridge Laboratories（中国）で血清試料を分析した。また、カニクイザルを用いて GLP 下で実施した 14 日間反復皮下投与による別のロット比較毒性試験（4.2.3.2.6 Study No. 7975-107）では、TK 試料を分析するために本生体試料分析法を Catalent Pharma Solutions（米国）に移管し、動物の血清試料を分析した。

2.6.4.2.2 カニクイザルの血清中抗 P1101 抗体を検出するための免疫学的分析法のバリデーション（4.2.2.1.2 Study No. MV 44108-08-19）

カニクイザルの血清中抗 P1101 抗体を定性的に測定するためのスクリーニングアッセイに用いた免疫学的分析法のバリデーションを Bridge Laboratories（中国）で実施した。本法は、サル血清中の抗 P1101 抗体を捕捉するために P1101 又はその非ペグ化分子（プロリン IFNα-2b）である P1040 をコーティングしたプレートを用いた ELISA 法を基にしている。抗体陽性検体と陰性検体を判定するためのフローティングカットオフ値は、薬剤投与歴のない動物 30 個体から得た血清試料を分析した結果に基づいて設定した。分析単位内及び分析単位間精度〔%変動係数（CV）値で表示〕は、P1101 をコーティングしたプレートを用いた系ではそれぞれ 8.3%及び 25.3%、P1040 をコーティングしたプレートを用いた系ではそれぞれ 2.3%及び 3.0%であり、いずれも許容基準の範囲内であった。結論として、確立された本分析法はカニクイザルの血清中抗 P1101 抗体の検出に適していると考えられた。

本法は、カニクイザルを用いた毒性試験（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101、4.2.3.2.5 44103-08-300 及び 4.2.3.2.6 7975-107）で得られた血清試料について、抗 P1101 抗体の有無を判定するために用いられた。14 日間反復皮下投与によるロット比較毒性試験（4.2.3.2.5 Study No. 44103-08-300）では、Bridge Laboratories（中国）で血清試料を分析した。また、ピボタル 4 週間反復皮下投与毒性試験（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101）及び 14 日間反復皮下投与によるロット比較毒性試験（4.2.3.2.6 Study No. 7975-107）の一部として免疫原性試験の試料を分析するために、本生体試料分析法をそれぞれ Development Center for Biotechnology（台湾）又は Catalent Pharma Solutions（米国）に移管し、その後血清中抗 P1101 抗体の分析に供した。

また、カニクイザルの血清中中和抗体を定性的に測定するために、バリデーションされていない「細胞を用いた抗ウイルス中和バイオアッセイ」を世界保健機関（WHO）のプロトコール[WHO, 2003]に従って使用した。この方法で得られた測定結果は、補助的なデータと見なされる。

2.6.4.2.3 サイズ排除クロマトグラフィー（SEC-HPLC）法による P1101 製剤の

分析法バリデーション（4.2.2.1.3 Study No. PEC-V0002）

ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子（hERG）アッセイ（4.2.1.3.1 Study No. 7975-106）に用いた P1101 製剤を分析するために、PharmaEssentia Corp.（台湾）でその分析法のバリデーションを行った。本分析法は SEC-HPLC に基づくものであった。低濃度の溶液製剤の分析を目的とした分析法バリデーションの結果、本分析法の直線性を有する定量範囲は、[redacted] μg/mL〔定量下限（LLOQ）〕から [redacted] μg/mL であった。真度及び精度は許容基準の範囲内であった。

2.6.4.2.4 P1101 製剤中のタンパク濃度定量のための 280 nm における紫外吸光光度法のバリデーション（4.2.2.1.4 Study No. PEC- V0004）

毒性試験における投与製剤中のタンパク濃度を定量的に分析するために、紫外吸光光度法のバリデーションを PharmaEssentia Corp.（台湾）で実施した。P1101 製剤中のタンパク濃度は、波長 280 nm における吸光度を測定し、吸光係数 [redacted] $mL \cdot mg^{-1} \cdot cm^{-1}$ を適用することにより定量した。本分析法の直線性を有する定量範囲は、[redacted]～[redacted] mg/mL であった。本分析法の真度〔分析単位内真度：[redacted]%～[redacted]%及び分析単位間真度：[redacted]%～[redacted]%〕及び精度〔分析単位内精度：[redacted]%～[redacted]%及び分析単位間精度：[redacted]%～[redacted]%〕は許容基準の範囲であった。以上より、本分析法は P1101 製剤〔注射用水 1 mL 中に塩化ナトリウム（8.0 mg）、ポリソルベート 80（0.05 mg）、ベンジルアルコール（10.0 mg）、無水酢酸ナトリウム（1.58 mg）及び酢酸（0.05 mg）を含有する溶液として調製されたもの〕におけるタンパク濃度の定量に適していると結論された。

更に、毒性試験（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101 及び 4.2.3.2.6 7975-107）における投与製剤の濃度範囲、保存条件及び保存期間を考慮した P1101 製剤の安定性試験（それぞれの Contributor report：PEC-Covance-018 及び PEC-Covance-020）を実施した結果、安定性が確認された。

2.6.4.3 吸収

P1101 の吸収を検討するための単独での PK 試験は実施しなかった。

P1101 を単回投与したときの PK プロファイルは、カニクイザルにおける PK／PD 複合試験の一部として検討した。また、P1101 を反復投与したときの PK／TK 評価を、カニクイザルを用いた毒性試験の一部として実施した。

2.6.4.4 代謝（動物種間の比較）

2.6.4.4.1 *In Vitro* 及び *In Vivo* における代謝

P1101 の *in vitro* 及び *in vivo* 代謝試験は実施していない。

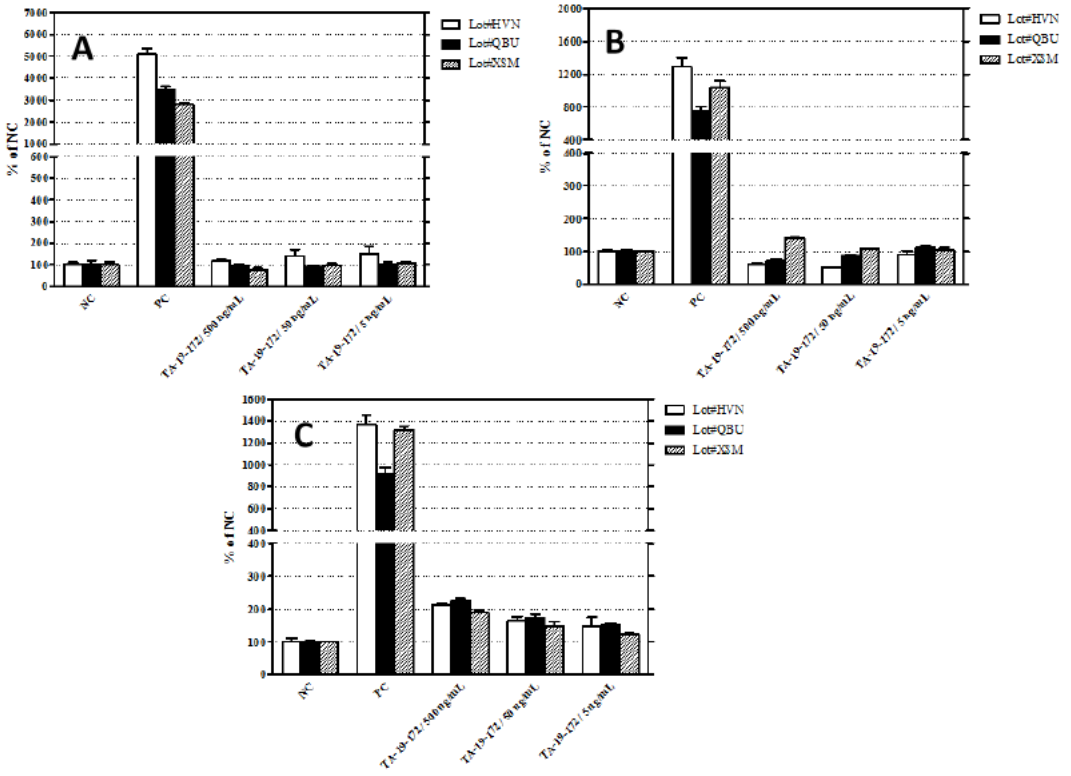
2.6.4.4.2 肝薬物代謝酵素の誘導及び阻害

2.6.4.4.2.1 CYP 誘導：CYP に対する TA-19-172〔Ropeginterferon alfa-2b（P1101）〕の誘導能を評価するための *In Vitro* 試験（4.2.2.4.1 Study No. RD-S1909-12）

CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の酵素活性並びにメッセンジャーリボ核酸（mRNA）発現量について、P1101 の誘導能を 3 名のドナー由来のヒト初代培養肝細胞を用いて評価した。酵素活性はプローブ基質から生成した代謝物を[redacted]（[redacted]）を用いた測定により評価し、各 CYP 分子種の mRNA 発現レベルは[redacted]（[redacted]）法で測定した。酵素活性については被験物質で処理した細胞の酵素活性増加が陽性対照で処理した細胞での値の 40%以上を示す場合〔中国国家食品薬品監督管理局（NMPA）薬物相互作用ガイダンス 2014〕、mRNA 発現量については mRNA 発現量が陰性対照の 2 倍以上かつその増加が陽性対照で処理した細胞での値の 20%以上を示す場合〔米国食品医薬品局（FDA）薬物相互作用ガイダンス 2017[FDA DDI Guidance, 2017]〕に、CYP 分子種に対する誘導能を有するとみなした。また、被験物質の細胞毒性作用の有無は、ヒト肝細胞での細胞生存率を評価するための[redacted]（[redacted]）試験により測定した。本試験の概要表を 2.6.5.12.1 項に示す。

細胞生存率を評価した結果、P1101 は 5 ng/mL 及び 50 ng/mL の添加濃度においては細胞生存率が陰性対照の 75%以上であったことから、試験に用いた肝細胞に対して細胞毒性を持たないことが示された。ただし、最高濃度である 500 ng/mL において、細胞生存率は陰性対照の 75%未満（2 名のドナーに対して 71.6%及び 67.3%）であった。このため、本試験の結果については P1101 の誘導能を 5 ng/mL 及び 50 ng/mL の濃度においてのみ評価した。酵素活性を指標とした検討において、一連の既知の誘導剤（それぞれ CYP1A2：オメプラゾール 50 µM、CYP2B6：フェノバルビタール 1000 µM、CYP3A4：リファンピシン 25 µM）を陽性対照として用い、ヒト肝細胞を含む試験系に P1101 を 5 ng/mL 及び 50 ng/mL の濃度で添加したときの影響を評価した。その結果、両濃度において P1101 処理した肝細胞における CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の酵素活性増加は、陽性対照で処理した場合に比べ-4.04～9.01%と明確に 40%未満であった（図 2.6.4-1）。したがって、3 名のドナー由来のヒト初代培養肝細胞において、これら 3 種類の CYP の酵素活性に対する P1101 の誘導能は認められなかった。

図 2.6.4-1　（A）CYP1A2、（B）CYP2B6 及び（C）CYP3A4 の酵素活性に対する P1101（TA-19-172）の影響（平均 ± SD）



Lot #HVN, #QBU 及び#XSM はヒト肝細胞のドナー3 名を示す

次に、肝薬物代謝酵素の mRNA 発現レベルについても、上記の一連の既知の誘導剤（それぞれ CYP1A2：オメプラゾール、CYP2B6：フェノバルビタール、CYP3A4：リファンピシン）を陽性対照として用い、ヒト肝細胞を含む試験系に P1101 を 5 ng/mL 及び 50 ng/mL の濃度で添加したときの影響を評価した。P1101 とのインキュベーションによる、これら 3 種類の CYP 分子種の mRNA 発現量は概して陰性対照の 2 倍未満（ただし、CYP3A4 では 1.42～3.25 倍）であり、かつその増加は陽性対照で処理した場合に比べ 20%未満に過ぎなかったことから、3 名のドナー由来のヒト初代培養肝細胞において、mRNA 発現を誘導の指標とした場合もこれらの CYP 分子種に対する P1101 の誘導能は認められなかった（2.6.5.12.1 項参照）。

2.6.4.4.2.2　CYP 阻害

2.6.4.4.2.2.1　シトクロム P450 酵素（CYP）に対する P1101 の直接的な阻害能を評価するためのヒト肝ミクロソームを用いた *In Vitro* 試験（4.2.2.4.2 Study No. 8417-482）

9 種類の CYP 分子種（CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4）に対する P1101 の直接的な阻害能について、ヒト肝ミクロソームを用いて評価した。陽性対照の阻害剤又は段階希釈により作成した各濃度の P1101 の被験試料について、NADPH 存在下でヒト肝ミクロソーム及び基質と共にインキュベーションを行った。試験の詳細なデータは 2.6.5.12.2 項に示されている。

その結果、P1101 は検討した濃度（0.229、0.687、2.06、6.17、18.5、55.6、167 及び 500 ng/mL）

において、CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4 のいずれに対しても直接的な阻害作用を示さなかった。すなわち、ヒト肝ミクロソームにおけるこれらの CYP 分子種の酵素活性は、検討した P1101 濃度において、陰性対照の 94.4%～114%であった。これらの CYP 分子種に対する P1101 の 50%阻害濃度（IC_{50}）値は 500 ng/mL 超であった。これらのことから、検討した濃度範囲においてこれら 9 種類の CYP 分子種に対する P1101 の直接的な阻害能は認められなかった（表 2.6.4-1）。

表 2.6.4-1　ヒト肝ミクロソームにおける CYP 分子種に対する陽性対照の阻害剤及び P1101 の IC_{50} 値

CYP 分子種	基質 (μM)	阻害剤：陽性対照	IC_{50} (μM)	阻害剤：被験薬	IC_{50} (ng/mL)
1A2	Phenacetin (10)	α-Naphthoflavone	0.0101	P1101	> 500
2A6	Coumarin (5)	8-Methoxypsoralen	0.406	P1101	> 500
2B6	Bupropion (50)	Ticlopidine	0.0725	P1101	> 500
2C8	Amodiaquine (0.5)	Montelukast	0.208	P1101	> 500
2C9	Diclofenac (10)	Sulfaphenazole	0.630	P1101	> 500
2C19	Omeprazole (0.5)	Tranylcypromine	8.70	P1101	> 500
2D6	Dextromethorphan (5)	Quinidine	0.170	P1101	> 500
2E1	Chlorzoxazone (50)	Disulfiram	7.78	P1101	> 500
3A4	Midazolam (5)	Ketoconazole	0.129	P1101	> 500
	Testosterone (100)	Ketoconazole	0.0801	P1101	> 500

2.6.4.4.2.2.2　シトクロム P450 酵素（CYP）に対する P1101 の時間依存的な阻害能を評価するためのヒト肝ミクロソームを用いた *In Vitro* 試験（4.2.2.4.3 Study No. 8417-483）

9 種類の CYP 分子種（CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4）に対する P1101 の時間依存的な阻害能について、ヒト肝ミクロソームを用いて評価した。陽性対照の阻害剤又は P1101（添加濃度 50 ng/mL）の被験試料について、NADPH 存在下又は非存在下でヒト肝ミクロソームと共に 30 分間プレインキュベーションを行った。次に、プレインキュベーションした試料をプローブ基質に加えて 2 回目のインキュベーションを行った。これにより、阻害剤（すなわち陽性対照又は被験薬）による酵素活性の阻害の程度を活性減少率（%）として算出した。試験の詳細なデータは 2.6.5.12.3 項に示されている。

その結果、P1101 と 30 分間プレインキュベーションしたときの CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4 に対する活性減少率は 25%未満であった。すなわち、P1101 は 50 ng/mL の濃度においてこれらの CYP 分子種に対して時間依存的な阻害を示さなかった。一方、CYP2A6 に対しては P1101 と 30 分間プレインキュベーションしたときの活性減少率は 37.3%であり、P1101 が 50 ng/mL の濃度において CYP2A6 に対し時間依存的な阻害作用を示す可能性が示唆された。本試験の結果を要約して表 2.6.4-2 に示す。

表 2.6.4-2　ヒト肝ミクロソームにおいて陽性対照の阻害剤及び P1101 と 30 分プレインキュベーションしたときの CYP 分子種の酵素活性減少率

CYP 分子種	基質 (μM)	阻害剤：陽性対照（最終濃度：μM）	活性減少率 [a] (%)	阻害剤：被験薬（最終濃度：ng/mL）	活性減少率 [a, b] (%)
1A2	Phenacetin (10)	Furafylline (1)	58.2	P1101 (50)	0.00
2A6	Coumarin (5)	8-Methoxypsoralen (0.075)	63.4	P1101 (50)	37.3
2B6	Bupropion (50)	Ticlopidine (0.06)	51.1	P1101 (50)	6.37
2C8	Amodiaquine (0.5)	Gemfibrozil 1-O-β-glucuronide (1)	57.2	P1101 (50)	0.00
2C9	Diclofenac (10)	Tienilic acid (0.25)	56.1	P1101 (50)	1.66
2C19	Omeprazole (0.5)	Ticlopidine (0.15)	75.3	P1101 (50)	0.00
2D6	Dextromethorphan (5)	Paroxetine (0.5)	32.8	P1101 (50)	0.00
2E1	Chlorzoxazone (50)	Disulfiram (1.5)	28.0	P1101 (50)	0.00
3A4	Testosterone (100)	Mifepristone (1)	74.2	P1101 (50)	0.00

a　% activity loss = 100 × [(Activity $_{inhibitor}$/Activity $_{vehicle}$) $_{without\ NADPH}$ - (Activity $_{inhibitor}$/Activity $_{vehicle}$) $_{with\ NADPH}$]
b　The activity loss (%) is assumed equal to zero when the calculated value is negative.

2.6.4.4.3　単回投与したときの薬物動態：雄カニクイザルを用いた P1101 及びペガシスの薬物動態／薬力学比較試験（4.2.2.2.1 Study No. 44104-08-242）

カニクイザルを用いた単回投与 PK／PD 試験における PK を検討した成績を要約して以下に示す（詳細は 2.6.2.2.1 項参照）。

PK／PD 複合試験の最初のパート（フェーズ I）において、P1101 の PK 特性を既承認のペグ化 IFNα-2a であるペガシスのそれと比較した。P1101 又はペガシスを 30 μg/kg の用量で単回皮下投与したとき、両薬剤の PK プロファイルは同様であり、血清中濃度の測定値に基づき得られた最高血清中濃度（C_{max}）、0 時間から無限大時間までの血（清）中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0-\infty}$）、0 時間から最終濃度測定可能時間までの平均滞留時間（MRT_{last}）、 終末相消失半減期（$t_{1/2}$）あるいは見かけのクリアランス（CL/F）などの PK パラメータの差は 20%以下であった。P1101 の C_{max} は 332.57 ± 22.94 ng/mL であり、投与後 33 ± 13.3 時間に到達した。血清中の曝露量〔0 時間から最終濃度測定可能時間までの血（清）中濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）〕は 56883.49 ± 3333.57 hr•ng/mL であった。P1101 の $t_{1/2}$ 及び MRT_{last} は、それぞれ 66.06 ± 7.90 時間及び 120.87 ± 1.15 時間であった。

試験の 2 番目のパート（フェーズ II）においては、最初のパート（フェーズ I）で用いた動物のウォッシュアウト期間後に P1101 を 30 μg/kg の用量で単回静脈内投与又は 300 μg/kg の用量で単回皮下投与した。P1101 を 30 μg/kg の用量で静脈内投与したときの終末相における分布容積（V_z）は 37.29 ± 4.54 mL/kg であり、P1101 が血管内コンパートメントに限局して分布することを示している。また、クリアランス（CL）は、0.41 ± 0.036 mL/hr/kg であった。

P1101 を 30 及び 300 μg/kg の用量で皮下投与したときのバイオアベイラビリティを静脈内投与に対する相対値として算出すると、それぞれ 80%及び 42%であった。

2.6.4.4.4　反復投与したときの薬物動態／トキシコキネティクス：カニクイザルを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験における P1101 の薬物動態／トキシコキネティクス評価（4.2.3.2.4 Study No. 7975-101）

カニクイザルを用いたピボタル週 2 回、4 週間反復皮下投与毒性試験における PK／TK 評価から得られた主な知見を以下に示す（詳細は 2.6.6.3.4 項参照）。

- サルに P1101 を初回皮下投与したとき、全身曝露量パラメータ（C_{max} 及び AUC）は雌雄間で同様であった。
- 初回皮下投与したとき、C_{max} 及び AUC は用量に比例して増加した（線形性）。
- 反復投与後に全身曝露量パラメータが低下し、抗 P1101 抗体（中和抗体）の産生による影響が示唆された。

2.6.4.5 分布

P1101 の分布試験は実施していない。

2.6.4.6 排泄

P1101 の排泄試験は実施していない。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

P1101 の薬物相互作用試験は実施していない。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

P1101 を用いたその他の薬物動態試験は実施していない。

2.6.4.9 考察及び結論

P1101 の吸収を検討するための単独での PK 試験は実施しなかった。P1101 を単回投与したときの PK 及び反復投与したときの PK／TK 評価は、それぞれカニクイザルにおける PK／PD 複合試験（2.6.2.2.1 項参照）及び毒性試験（2.6.6.3 項参照）の一部として実施した。

カニクイザルを用いた PK／PD 複合試験（4.2.2.2.1 Study No. 44104-08-242）の最初のパート（フェーズ I）において、P1101 及び既承認のペグ化 IFNα-2a であるペガシスを 30 μg/kg の用量で単回皮下投与したとき、両薬剤の PK プロファイルは同様であり、C_{max}、$AUC_{0-\infty}$、MRT_{last}、$t_{1/2}$ あるいは CL/F などの PK パラメータの差は 20%以下であった。

試験の 2 番目のパート（フェーズ II）において、P1101 を 30 μg/kg の用量で静脈内投与したときの全身曝露量と比較することにより、P1101 を 30 及び 300 μg/kg の用量で皮下投与したときのバイオアベイラビリティを算出すると、それぞれ 80%及び 42%であり、これらの値は既承認のペグ化 IFNα-2b であるペグイントロンで報告されている数値（57%～89%）[McDonald, 2010]のほぼ範囲内であった。ただし、抗薬物抗体が産生していた場合には PK プロファイルが影響を受けるため、これらのバイオアベイラビリティの値は正確でない可能性がある。

全般的に、P1101 の PK 特性は既承認のペグ化 IFNα-2a であるペガシスのそれと同様であった。ペグイントロン及びペガシスなどのペグ化 IFN の PK に共通した特徴は、高分子化によって体内での安定性が増大／クリアランスが減少し非ペグ化 IFN に比べて *in vivo* での $t_{1/2}$ が延長することである[ペグイントロン審査報告書, 2004][ペガシス審査報告書, 2003]。この特徴は P1101 にも当てはまると考えられる。なお、IFN のペグ化によるクリアランス減少の効果は、結合した PEG の分子サイズにより異なることが知られている[Hamidi, 2006]。この知見と一致して、健康被験者での単回皮下投与時における P1101 及び既承認ペグ化 IFN の PK 特性を比較したとき、約 12 kDa の PEG を有するペグイントロンの $t_{1/2}$（1.67 日）は共に約 40 kDa の PEG を有する P1101 及びペガシス（$t_{1/2}$ はそれぞれ 2.77 日及び 3.04 日）に比べて短く、CL/F 及び見かけの分布容積（Vd/F）は大きかった（2.7.2.3.1.1 項参照）。同様に、カニクイザルにおいても、単回皮下投与したときのペグイントロンの $t_{1/2}$（29.2～34.1 時間）[ペグイントロン審査報告書, 2004]は P1101 及びペガシスの $t_{1/2}$〔それぞれ 66.06 時間及び 61.72 時間（2.6.2.2.1 項参照）〕に比べて短かった。

更に、カニクイザルを用いた P1101 のピボタル 4 週間反復皮下投与毒性試験における PK／TK 評価から得られた主な知見は、1）雌雄間で曝露量が同様であること、2）用量比例性、及び 3）反復投与後の曝露量が低下し、抗体産生による影響が示唆されたことであった。これらの特徴は、同じくペグ化 IFNα 製剤であるペガシス[ペガシス審査報告書, 2003]でみられたものとおおむね類似していた。

P1101 の活性部分であり、PEG に結合している IFNα-2b 分子はバイオテクノロジーを応用して

産生されたヒト型タンパク質である。医薬品規制調和国際会議（ICH）S6 (R1)ガイドライン[ICH S6(R1) Guideline, 2011]に従い、タンパク質の代謝が小さなペプチド及びアミノ酸への分解であることは良く分かっていることから、P1101 の代謝を検討する試験は実施しなかった。

また、P1101 の分布及び排泄を検討する試験はいずれも実施していない。P1101 と同じくペグ化 IFNα 製剤であるペグイントロン及びペガシスは既承認であり、それらの PK は既に評価されている[ペグイントロン審査報告書, 2004][ペガシス審査報告書, 2003] 。ペグイントロン及びペガシスの非臨床試験における分布及び排泄特性に関する主な知見を以下に示す。

ペグイントロン（ペグ化 IFNα-2b）の分布及び排泄特性 [ペグイントロン添付文書, 2004][ペグイントロン審査報告書, 2004]：

- ラットに ^{125}I-ペグ化 IFNα-2b 又は ^{125}I- IFNα-2b を単回皮下投与したとき、ともに放射能は脳を除く各組織に広範に分布し、腎臓における放射能濃度が最も高かった。^{125}I-ペグ化 IFNα-2b での最高組織内濃度への到達及びその後の消失は ^{125}I-IFNα-2b に比べて緩慢であった。
- サルに ^{125}I-ペグ化 IFNα-2b を単回皮下投与したとき、投与後 168 時間までに投与放射能の約 93%が尿中に排泄されたが、尿中放射能の大部分は低分子量のペプチド、アミノ酸又は遊離の ^{125}I であった。

ペガシス（ペグ化 IFNα-2a）の分布及び排泄特性 [ペガシス審査報告書, 2003][ペガシス添付文書, 2021]：

- ラットに ^{14}C-ペグ化 IFNα-2a を単回皮下投与したとき、放射能は緩やかに主要な分布組織である腎臓、肺、脾臓、副腎、肝臓、骨髄に移行した。最も放射能濃度が高かったのは腎臓であり（投与部位を含む皮膚を除く）、唯一血中を超える濃度を示した。
- 妊娠 13 日目のラットに ^{14}C-ペグ化 IFNα-2a を単回皮下投与したとき、胎児の放射能濃度はわずかであり、妊娠 18 日目のラットに単回皮下投与した場合は胎児の放射能はほとんど認められなかった。
- ラットに ^{14}C-ペグ化 IFNα-2a を単回皮下投与したとき、放射能は主に尿中に排泄された（すなわち投与量の 35%、総排泄放射能の 80%以上に相当）。尿中にタンパク質由来〔トリクロロ酢酸（TCA）不溶性〕放射能が認められ、そのうちの少なくとも一部は未変化体であることが示唆された。また、反復皮下投与後の尿中には遊離した PEG 分子も検出された。
- 授乳ラットに ^{14}C-ペグ化 IFNα-2a を単回皮下投与したとき、母動物の血清及び乳汁中放射能濃度は最高濃度に到達後にほぼ同様な推移で消失したが、乳汁中への放射能移行は低かった（AUC 比較で血清中の約 1/25）。

P1101 の PK プロファイルがペグ化 IFNα-2a（ペガシス）と類似していたことから、上記の既承認のペグ化 IFNα 製剤の分布及び排泄特性は、P1101 と質的に同様であることが推察される。

また、IFN は一部の CYP に対して阻害作用を示すことが知られている[ペグイントロン添付文書, 2021][ペガシス添付文書, 2021]。ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、P1101 は CYP2A6 に対して時間依存的な阻害作用を示す可能性が示唆されたことを除き、検討した CYP 分子種に対して誘導作用及び阻害作用を示さなかった。

結論として、カニクイザルに皮下投与したときのバイオアベイラビリティ、曝露量及び *in vivo*

における安定性の観点から P1101 は良好な PK 特性を示し、毒性試験でこの動物種を選択したことの妥当性及び臨床における安全な使用が裏付けられた。

2.6.4.10 図表

図表は本文中の適切な位置に配置した。

2.6.4.11 参考文献

1) FDA draft guidance. October 2017. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation and Research (CDER). In vitro metabolism- and transporter-mediated drug-drug interaction studies. Guidance for industry. https://www.fda.gov/files/drugs/published/In-Vitro-Metabolism--and-Transporter--Mediated-Drug-Drug-Interaction-Studies-Guidance-for-Industry.pdf（参照 2023-01-11）
2) Hamidi M, Azadi A, Rafiei P. Pharmacokinetic consequences of pegylation. Drug Deliv. 2006;13(6):399-409.
3) ICH S6 (R1) Guideline: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals; July 1997. https://www.pmda.go.jp/files/000156471.pdf （参照 2023-01-11）
4) McDonald TA, Zepeda ML, Tomlinson MJ, Bee WH, Ivens IA. Subcutaneous administration of biotherapeutics: current experience in animal models. Curr Opin Mol Ther. 2010;12(4):461-70.
5) World Health Organization. Expert Committee on Biological Standardization, Geneva, 17 to 21 November 2003. A Recommendation from the Standards Committee of the International Society for Interferon and Cytokine Research to Adopt a Standard Method for the Calculation and Reporting of the Results of Interferon Neutralizing Antibody Tests. WHO/BS/03.1980. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68496/WHO_BS_03.1980.pdf?sequence=1&isAllowed=y (参照 2023-01-11)
6) ペガシス皮下注、添付文書. 2021 改訂. https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/ResultDataSetPDF/450045_6399419A1022_1_26（参照 2023-01-11）
7) ペガシス皮下注、審査報告書. 2003. https://www.pmda.go.jp/drugs/2003/P200300026/45004500_21500AMY00137_Q100_1.pdf (参照 2023-01-11)
8) ペグイントロン皮下注用、添付文書. 2004 改訂. https://s3-ap-northeast-1.amazonaws.com/medley-medicine/prescriptionpdf/170050_6399420D1021_1_29.pdf?_fsi=rH2PJiXZ (参照 2023-01-11)
9) ペグイントロン皮下注用、審査報告書. 2004. https://www.pmda.go.jp/drugs/2004/P200400024/17005000_21600AMY00134_A100_1.pdf （参照 2023-01-11）

Ropeginterferon alfa-2b
ベスレミ皮下注 250 μg シリンジ
ベスレミ皮下注 500 μg シリンジ

第 2 部 CTD の概要
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.5 薬物動態試験概要表

ファーマエッセンシアジャパン株式会社

略号一覧表

略語・用語	内容
C_t	PCR において遺伝子増幅に必要なサイクル数（cycle threshold）
CYP	シトクロム P450
DDI	薬物相互作用
DMSO	ジメチルスルホキシド
ELISA	酵素結合免疫吸着測定法
FDA	米国食品医薬品局
ICH	医薬品規制調和国際会議
i.v.	静脈内
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LLOQ	定量下限
mRNA	メッセンジャーリボ核酸
NA	該当せず
NC	陰性対照
NMPA	中国国家食品薬品監督管理局
PC	陽性対照
PCR	ポリメラーゼ連鎖反応
PD	薬力学
PK	薬物動態
s.c.	皮下
SD	標準偏差
SEC-HPLC	サイズ排除クロマトグラフィー
TK	トキシコキネティクス
ULOQ	定量上限
UV	紫外

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.5 薬物動態試験概要表 4
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 4
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 6
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 7
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 8
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 9
2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合 10
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 11
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 12
2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 13
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 14
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 15
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 16
2.6.5.12.1 *In Vitro* における CYP 誘導 16
2.6.5.12.2 *In Vitro* における直接的 CYP 阻害 19
2.6.5.12.3 *In Vitro* における時間依存的 CYP 阻害 20
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 21
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 22
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 23
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 24

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

Overview on Pharmacokinetic (PK) Studies

Overview **Test article:** P1101

Type of Study	Test System / Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Testing Facility	Study No.	Location
Analytical Method							
ELISA method validation for P1101 in monkey serum	Serum (matrix) / Monkey / Cynomolgus	NA	NA	NA	[redacted], China	MV 44108-08-18	4.2.2.1.1
ELISA method validation for anti-P1101 antibody in monkey serum	Serum (matrix) / Monkey / Cynomolgus	NA	NA	NA	[redacted], China	MV 44108-08-19	4.2.2.1.2
SEC-HPLC method validation for dose formulation analysis	P1101 dose formulation	NA	NA	NA	[redacted], Taiwan	PEC-V0002	4.2.2.1.3
UV spectrophotometric method validation for protein concentration in dose formulation	P1101 dose formulation	NA	NA	NA	[redacted], Taiwan	PEC-V0004	4.2.2.1.4
Absorption							
PK after single dose [a]	Monkey / Cynomolgus	Intravenous (i.v.), subcutaneous (s.c.)	Single	P1101: 30 µg/kg (i.v.), 30 and 300 µg/kg (s.c.) Pegasys: 30 µg/kg (s.c.)	[redacted], China	44104-08-242	4.2.2.2.1
Distribution	No distribution studies were performed.						
Metabolism							
In vitro CYP induction	Primary cultured hepatocyte / Human	*In vitro*	NA	NA	[redacted], China	RD-S1909-12	4.2.2.4.1
In vitro direct CYP inhibition	Liver microsomes / Human	*In vitro*	NA	NA	[redacted], China	8417-482	4.2.2.4.2
In vitro time-dependent CYP inhibition	Liver microsomes / Human	*In vitro*	NA	NA	[redacted], China	8417-483	4.2.2.4.3

Excretion	No excretion studies were performed.
PK Drug Interaction	No PK drug interaction studies were performed.
Other	No other PK studies were performed.

a PK characterization was performed as part of the combined pharmacodynamic/pharmacokinetic (PK/PD) study.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

Test article: P1101

Overview on Analytical Methods

Type of Study	Method	Analyte	Matrix	Assay Range	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
ELISA method validation for P1101 in monkey serum	ELISA	P1101	Cynomolgus monkey serum	125 (LLOQ) - 4000 (ULOQ) pg/mL	[redacted] China	MV 44108-08-18	4.2.2.1.1
ELISA method validation for anti-P1101 antibody in monkey serum	ELISA	Anti-P1101 antibody	Cynomolgus monkey serum	Qualitative	[redacted] China	MV 44108-08-19	4.2.2.1.2
SEC-HPLC method validation for dose formulation analysis	SEC-HPLC	P1101	P1101 dose formulation	3.7 (LLOQ) - 100 µg/mL[a]	[redacted], Taiwan	PEC-V0002	4.2.2.1.3
UV spectrophotometric method validation for protein concentration in dose formulation	UV spectro-photometry	Protein	P1101 dose formulation	0.20 - 1.20 mg/mL	[redacted], Taiwan	PEC-V0004	4.2.2.1.4

a Assay range for low-dose formulation.

The validation results of the above analytical methods are presented in Section 2.6.4.2 of Module 2.6.4.

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

Test article: P1101 Study No.: 44104-08-242, Location: 4.2.2.2.1

Report title：A Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study of P1101 versus Pegasys in Male Cynomolgus Monkeys

A single dose PK characterization of P1101 was performed as part of the combined pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) study in cynomolgus monkeys and is presented in detail in Section 2.6.2.2.1 of Module 2.6.2. Also, the summarized results and discussion of the single dose PK investigation are presented in Section 2.6.4.3 and 2.6.4.9 of Module 2.6.4.

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

Repeated dose pharmaco-/toxicokinetic (PK/TK) evaluations were carried out as part of the GLP toxicity studies in cynomolgus monkeys and the results are presented in detail in Section 2.6.6.3 of Module 2.6.6 and Section 2.6.7.2 and 2.6.7.3 of Module 2.6.7. Also, the summarized results and discussion of the repeated dose PK/TK investigation are presented in Section 2.6.4.3.2 and 2.6.4.9 of Module 2.6.4.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

No studies investigating organ distribution were performed.

2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合

No studies investigating plasma protein binding were performed.

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

No PK studies in pregnant or nursing animals (transfer to fetuses or milk) were performed.

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

No other distribution studies were performed.

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

No studies investigating metabolism *in vivo* were performed.

The active moiety of P1101 is the biotechnology-derived human protein, interferon alpha-2b, which is conjugated with PEG. In accordance with the ICH S6 (R1) Guideline [1)], studies investigating metabolism of P1101 were not performed as metabolism of proteins being the degradation to short peptides and amino acids is well understood.

1) ICH S6(R1) Guideline. 2011. Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals.

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

No studies investigating metabolism *in vitro* were performed.

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

No studies on possible metabolic pathways were performed.

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 *In Vitro* における CYP 誘導

Test article: P1101 Study No. : RD-S1909-12, Location: 4.2.2.4.1

Report title : *In Vitro* Study for Evaluating Potential of TA-19-172 [Ropeginterferon alfa-2b (P1101)] on CYP450 Induction

CYP1A2: The effect of P1101 on the enzyme activity and mRNA expression of CYP1A2 in cultured human hepatocytes

Species: Human	Method of administration: *In vitro*
Test system: Primary cultured hepatocytes	No. of donors: 3
Probe reaction: Formation of acetaminophen from phenacetin (CYP activity)	Substrate / concentration: Phenacetin / 100 μM (CYP activity)
Analyte: Acetaminophen (CYP activity) or mRNA	Assay: LC-MS/MS (CYP activity), Quantitative real-time PCR (mRNA)
Test article: P1101 (TA-19-172)	Concentration of test article: 5 – 500 ng/mL
Negative control (NC): Vehicle medium + 0.1% DMSO	Positive control (PC) / Concentration: Omeprazole / 50 μM

Test articles /Conc.	**CYP1A2 relative activity (% of NC)** [a]								
	Donor HVN			**Donor QBU**			**Donor XSM**		
	Mean	**SD**	**% of PC** [b]	**Mean**	**SD**	**% of PC** [b]	**Mean**	**SD**	**% of PC** [b]
NC	100	18.4	NA	100	34.2	NA	100	20.0	NA
PC	5125	337	100	3461	257	100	2811	93.7	100
P1101 / 500 ng/mL [c]	116	14.7	0.327	96.3	9.81	-0.111	73.2	16.9	-0.988
P1101 / 50 ng/mL [c]	142	48.3	0.828	88.4	18.9	-0.344	93.8	21.4	-0.230
P1101 / 5 ng/mL [c]	151	59.0	1.01	103	18.1	0.0778	108	12.3	0.279
Test articles /Conc.	**CYP1A2 relative mRNA expression difference (fold of NC)** [d, e]								
	Donor HVN			**Donor QBU**			**Donor XSM**		
	Mean	**SD**	**% of PC**	**Mean**	**SD**	**% of PC**	**Mean**	**SD**	**% of PC**
NC	1.00	NA	NA	1.00	NA	NA	1.00	NA	NA
PC	76.8	5.41	100	54.1	6.63	100	43.4	2.88	100
P1101 / 500 ng/mL [c]	2.13	0.213	2.77	1.17	0.249	2.17	0.690	0.120	1.59
P1101 / 50 ng/mL [c]	1.32	0.238	1.72	1.20	0.113	2.21	0.672	0.124	1.55
P1101 / 5 ng/mL [c]	1.69	0.200	2.20	1.10	0.0835	2.04	0.845	0.0372	1.95
Roxithromycin / 10 μM	0.918	0.0792	1.20	1.23	0.0892	2.28	0.771	0.106	1.78

Conclusion: P1101 had no induction potential on both enzyme activity and mRNA expression of CYP1A2 at the tested concentrations.

a Induction potential on CYP activity was declared when the increase of enzyme activity in test article-treated cells was ≥ 40% of that in the PC (NMPA DDI Guidance, 2014).

b [% of PC] for CYP relative activity = (activity of test drug cells - activity of NC) × 100 / (activity of PC - activity of NC)

c P1101 had no cytotoxicity to the testing hepatocytes at the concentrations of 5 ng/mL and 50 ng/mL as the cell viability was ≥ 75% of NC. However, the cell viability was < 75% of NC (71.6% and 67.3% in two donors: QBU and XSM) for P1101 at the highest concentration of 500 ng/mL.

d Induction potential on mRNA expression of CYP was considered when the mRNA expression level in test article-treated cells was ≥ 2-fold of the NC and the response ≥ 20% of that of the PC [FDA DDI Guidance, 2017 (Location: 4.3-18)].

e [Relative mRNA expression difference (fold of NC)] = $2^{-\Delta\Delta Ct}$, where $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t$ of test article or PC - ΔC_t of NC (ΔC_t = cycle threshold (C_t) in PCR of target gene normalized to β-actin)

2.6.5.12.1 *In Vitro* における CYP 誘導 (続き)

CYP2B6: The effect of P1101 on the enzyme activity and mRNA expression of CYP2B6 in cultured human hepatocytes

Species: Human	Method of administration: *In vitro*
Test system: Primary cultured hepatocytes	No. of donors: 3
Probe reaction: Formation of hydroxybupropion from bupropion (CYP activity)	Substrate / concentration: Bupropion / 100 µM (CYP activity)
Analyte: Hydroxybupropion (CYP activity) or mRNA	Assay: LC-MS/MS (CYP activity), Quantitative real-time PCR (mRNA)
Test article: P1101 (TA-19-172)	Concentration of test article: 5 – 500 ng/mL
Negative control (NC): vehicle medium + 0.1% DMSO	Positive control (PC) / concentration: Phenobarbital / 1000 µM

Test articles /Conc.	CYP2B6 relative activity (% of NC) [a]								
	Donor HVN			Donor QBU			Donor XSM		
	Mean	SD	% of PC [b]	Mean	SD	% of PC [b]	Mean	SD	% of PC [b]
NC	100	6.70	NA	100	10.5	NA	100	4.02	NA
PC	1293	180	100	755	79.1	100	1034	142	100
P1101 / 500 ng/mL [c]	61.2	5.85	-3.26	71.8	9.74	-4.29	140	5.86	4.32
P1101 / 50 ng/mL [c]	51.8	1.18	-4.04	87.6	7.27	-1.89	108	2.10	0.881
P1101 / 5 ng/mL [c]	89.7	22.0	-0.861	114	11.5	2.09	103	12.5	0.332
Test articles /Conc.	CYP2B6 relative mRNA expression difference (fold of NC) [d, e]								
	Donor HVN			Donor QBU			Donor XSM		
	Mean	SD	% of PC	Mean	SD	% of PC	Mean	SD	% of PC
NC	1.00	NA	NA	1.00	NA	NA	1.00	NA	NA
PC	13.8	0.476	100	18.6	3.10	100	14.8	0.47	100
P1101 / 500 ng/mL [c]	2.22	0.546	16.1	1.79	0.197	9.61	2.78	0.193	18.8
P1101 / 50 ng/mL [c]	1.74	0.192	12.6	1.70	0.350	9.13	1.69	0.171	11.4
P1101 / 5 ng/mL [c]	1.78	0.0257	12.9	1.64	0.339	8.81	1.44	0.100	9.73
Roxithromycin / 10 µM	1.03	0.128	7.45	0.851	0.102	4.58	1.04	0.0485	7.02

Conclusion: P1101 had no induction potential on both enzyme activity and mRNA expression of CYP2B6 at the tested concentrations.

a Induction potential on CYP activity was declared when the increase of enzyme activity in test article-treated cells was ≥ 40% of that in the PC (NMPA DDI Guidance, 2014).

b [% of PC] for CYP relative activity = (activity of test drug cells - activity of NC) × 100 / (activity of PC - activity of NC)

c P1101 had no cytotoxicity to the testing hepatocytes at the concentrations of 5 ng/mL and 50 ng/mL as the cell viability was ≥ 75% of NC. However, the cell viability was < 75% of NC (71.6% and 67.3% in two donors: QBU and XSM) for P1101 at the highest concentration of 500 ng/mL.

d Induction potential on mRNA expression of CYP was considered when the mRNA expression level in test article-treated cells was ≥ 2-fold of the NC and the response ≥ 20% of that of the PC [FDA DDI Guidance, 2017 (Location: 4.3-18)].

e [Relative mRNA expression difference (fold of NC)] = $2^{-\Delta\Delta Ct}$, where $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t$ of test article or PC - ΔC_t of NC (ΔC_t = cycle threshold (Ct) in PCR of target gene normalized to β-actin).

2.6.5.12.1 *In Vitro* における CYP 誘導(続き)

CYP3A4: The effect of P1101 on the enzyme activity and mRNA expression of CYP3A4 in cultured human hepatocytes

Species: Human	Method of administration: *In vitro*
Test system: Primary cultured hepatocytes	No. of donors: 3
Probe reaction: Formation of 6β-hydroxytestosterone from testosterone (CYP activity)	Substrate / concentration: Testosterone / 100 μM (CYP activity)
Analyte: 6β-hydroxytestosterone (CYP activity) or mRNA	Assay: LC-MS/MS (CYP activity), Quantitative real-time PCR (mRNA)
Test article: P1101 (TA-19-172)	Concentration of test article: 5 – 500 ng/mL
Negative control (NC): vehicle medium + 0.1% DMSO	Positive control (PC) / concentration: Rifampicin / 25 μM

Test articles /Conc.	CYP3A4 relative activity (% of NC) [a]								
	Donor HVN			Donor QBU			Donor XSM		
	Mean	SD	% of PC [b]	Mean	SD	% of PC [b]	Mean	SD	% of PC [b]
NC	100	18.0	NA	100	8.90	NA	100	5.54	NA
PC	1371	151	100	921	86.4	100	1314	71.4	100
P1101 / 500 ng/mL [c]	212	6.27	8.78	227	8.94	15.5	191	13.9	7.48
P1101 / 50 ng/mL [c]	165	20.7	5.13	174	19.9	9.01	147	25.7	3.88
P1101 / 5 ng/mL [c]	147	48.1	3.69	150	10.1	6.09	121	6.39	1.76
Test articles /Conc.	CYP 3A4 relative mRNA expression difference (fold of NC) [d, e]								
	Donor HVN			Donor QBU			Donor XSM		
	Mean	SD	% of PC	Mean	SD	% of PC	Mean	SD	% of PC
NC	1.00	NA	NA	1.00	NA	NA	1.00	NA	NA
PC	62.4	11.8	100	37.8	6.26	100	59.1	6.11	100
P1101 / 500 ng/mL [c]	3.72	0.116	5.95	5.62	0.710	14.9	6.58	0.232	11.1
P1101 / 50 ng/mL [c]	1.88	0.289	3.01	3.25	1.22	8.59	2.20	0.0991	3.72
P1101 / 5 ng/mL [c]	1.42	0.0757	2.27	2.29	0.321	6.05	2.04	0.00814	3.45
Roxithromycin / 10 μM	0.693	0.0646	1.11	1.16	0.0168	3.07	1.41	0.290	2.39

Conclusion: P1101 had no induction potential on both the enzyme activity and mRNA expression of CYP3A4 at the tested concentration range.

a Induction potential on CYP activity was declared when the increase of enzyme activity in test article-treated cells was ≥ 40% of that in the PC (NMPA DDI Guidance, 2014).

b [% of PC] for CYP relative activity = (activity of test drug cells - activity of NC) × 100 / (activity of PC - activity of NC)

c P1101 had no cytotoxicity to the testing hepatocytes at the concentrations of 5 ng/mL and 50 ng/mL as the cell viability was ≥ 75% of NC. However, the cell viability was < 75% of NC (71.6% and 67.3% in two donors: QBU and XSM) for P1101 at the highest concentration of 500 ng/mL.

d Induction potential on mRNA expression of CYP was considered when the mRNA expression level in test article-treated cells was ≥ 2-fold of the NC and the response ≥ 20% of that of the PC [FDA DDI Guidance, 2017 (Location: 4.3-18)].

e [Relative mRNA expression difference (fold of NC)] = $2^{-\Delta\Delta Ct}$, where $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t$ of test article or PC - ΔC_t of NC (ΔC_t = cycle threshold (C_t) in PCR of target gene normalized to β-actin).

2.6.5.12.2 *In Vitro* における直接的 CYP 阻害

Test article: P1101 Study No. : 8417-482, Location: 4.2.2.4.2

Report title : *In Vitro* Study for Evaluating Direct Inhibitory Potential of P1101 on Cytochrome P450 Enzymes in Human Liver Microsomes

The IC_{50} value of positive control inhibitor and P1101 for CYP isoforms in human liver microsomes

Species: Human	Method of administration: *In vitro*
Test system: Pooled liver microsomes	Assay: LC-MS/MS
Test article: P1101	Concentration of test article: 0.229, 0.687, 2.06, 6.17, 18.5, 55.6, 167 and 500 ng/mL

The IC_{50} value of positive control inhibitor for CYP isoforms

CYP isoform	Substrate (μM)	Positive control inhibitor	IC_{50} (μM)
CYP1A2	Phenacetin (10)	α-Naphthoflavone	0.0101
CYP2A6	Coumarin (5)	8-Methoxypsoralen	0.406
CYP2B6	Bupropion (50)	Ticlopidine	0.0725
CYP2C8	Amodiaquine (0.5)	Montelukast	0.208
CYP2C9	Diclofenac (10)	Sulfaphenazole	0.630
CYP2C19	Omeprazole (0.5)	Tranylcypromine	8.70
CYP2D6	Dextromethorphan (5)	Quinidine	0.170
CYP2E1	Chlorzoxazone (50)	Disulfiram	7.78
CYP3A4	Midazolam (5)	Ketoconazole	0.129
	Testosterone (100)	Ketoconazole	0.0801

The IC_{50} value of P1101 for CYP isoforms

CYP isoform	Substrate (μM)	Test article	IC_{50} (ng/mL)
CYP1A2	Phenacetin (10)	P1101	> 500
CYP2A6	Coumarin (5)	P1101	> 500
CYP2B6	Bupropion (50)	P1101	> 500
CYP2C8	Amodiaquine (0.5)	P1101	> 500
CYP2C9	Diclofenac (10)	P1101	> 500
CYP2C19	Omeprazole (0.5)	P1101	> 500
CYP2D6	Dextromethorphan (5)	P1101	> 500
CYP2E1	Chlorzoxazone (50)	P1101	> 500
CYP3A4	Midazolam (5)	P1101	> 500
	Testosterone (100)	P1101	> 500

Conclusion: P1101 exhibits no direct inhibitory potential on CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 and CYP3A4 in human liver microsomes from 0.229 ng/mL to 500 ng/mL.

2.6.5.12.3 *In Vitro* における時間依存的 CYP 阻害

Test article: P1101 Study No. : 8417-483, Location: 4.2.2.4.3

Report title : *In Vitro* Study for Evaluating Time-Dependent Inhibitory Potential of P1101 on Cytochrome P450 Enzymes in Human Liver Microsomes

The activity loss over 30-min preincubation of positive control inhibitors and P1101 for CYP enzymes in human liver microsomes

Species: Human	Method of administration: *In vitro*
Test system: Pooled liver microsomes	Assay: LC-MS/MS
Test article: P1101	Preincubation of microsomes: for 30 min with P1101, positive control inhibitor or vehicle in the presence/absence of NADPH

The activity loss over 30-min preincubation of positive control inhibitors

CYP isoform	Substrate (μM)	Inhibitor (final conc., μM)	Activity loss [a] (%)
CYP1A2	Phenacetin (10)	Furafylline (1)	58.2
CYP2A6	Coumarin (5)	8-Methoxypsoralen (0.075)	63.4
CYP2B6	Bupropion (50)	Ticlopidine (0.06)	51.1
CYP2C8	Amodiaquine (0.5)	Gemfibrozil 1-O-β-glucuronide (1)	57.2
CYP2C9	Diclofenac (10)	Tienilic acid (0.25)	56.1
CYP2C19	Omeprazole (0.5)	Ticlopidine (0.15)	75.3
CYP2D6	Dextromethorphan (5)	Paroxetine (0.5)	32.8
CYP2E1	Chlorzoxazone (50)	Disulfiram (1.5)	28.0
CYP3A4	Testosterone (100)	Mifepristone (1)	74.2

The activity loss over 30-min preincubation of P1101

CYP isoform	Substrate (μM)	Test article (final conc., ng/mL)	Activity loss [a, b] (%)
CYP1A2	Phenacetin (10)	P1101 (50)	0.00
CYP2A6	Coumarin (5)	P1101 (50)	37.3
CYP2B6	Bupropion (50)	P1101 (50)	6.37
CYP2C8	Amodiaquine (0.5)	P1101 (50)	0.00
CYP2C9	Diclofenac (10)	P1101 (50)	1.66
CYP2C19	Omeprazole (0.5)	P1101 (50)	0.00
CYP2D6	Dextromethorphan (5)	P1101 (50)	0.00
CYP2E1	Chlorzoxazone (50)	P1101 (50)	0.00
CYP3A4	Testosterone (100)	P1101 (50)	0.00

Conclusion: P1101 exhibits time-dependent inhibitory potential on CYP2A6 but not on other CYP450 enzymes.

a % activity loss = 100 × [(Activity $_{\text{inhibitor}}$ / Activity $_{\text{vehicle}}$) $_{\text{without NADPH}}$ - (Activity $_{\text{inhibitor}}$ / Activity $_{\text{vehicle}}$) $_{\text{with NADPH}}$]

b The activity loss (%) is assumed equal to zero when the calculated value is negative.

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

No studies investigating excretion were performed.

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

No studies investigating excretion into bile were performed.

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

No studies investigating drug-drug interactions were performed.

2.6.5.16　薬物動態試験：その他

No other PK studies were performed.