目次

1. まとめ 6
2. 分析法 10
2.1 放射化学的方法 10
2.1.1 放射性標識被験物質合成（試験番号 16863 及び C18038） 10
2.1.2 放射能測定法 10
2.2 高速液体クロマトグラフィー（試験番号 MA-0079-RB-BV、MA-0080-RB-BL、NCD3752、MA-0074-RB-BV、MA-0075-RB-BL、MA-0141-RB-BV 及び MA-0142-RB-BL） 10
2.3 酵素結合免疫吸着測定（ELISA）法（試験番号 AR6187） 11
3. 吸収 12
3.1 単回投与 12
3.1.1 Sprague-Dawley（SD）ラット（試験番号 C5-INPK-2018-001 及び TR-0034） 12
3.1.2 カニクイザル（試験番号 TR-0125） 12
3.2 反復投与 13
3.2.1 ラット（試験番号 20074709） 13
3.2.2 カニクイザル（試験番号 TR-0125） 13
3.2.3 カニクイザルにおける 1 日 1 回反復皮下投与したときの抗薬物抗体（試験番号 20074710、20076807、20086030 及び 8340294） 14
4. 分布 15
4.1 P-糖たん白質基質としての評価（試験番号 RaPharma-12-23Jan2018） 15
4.2 血漿たん白結合（試験番号 TR-0122 及び 355-1） 15
4.3 ジルコプランの血球分配（試験番号 TR-0123） 16
4.4 ラットにおける組織分布（試験番号 16863、C18038 及び 17560） 16
4.5 *Ex-vivo* ヒト胎盤灌流モデルにおけるジルコプランの胎盤移行（試験番号 RRUS0005） 17
5. 代謝 18
5.1 *In vitro* 代謝物（試験番号 16900、TR-0161 及び TR-0160） 18
5.2 *In vivo* 代謝 18
5.2.1 ラットにおける代謝プロファイル（試験番号 17560） 18
5.2.2 サル及びヒト血漿中代謝プロファイル（試験番号 TR-0121、TR-0129、17649、TR-0128、18512 及び NCD-TR-001） 18
5.2.3 サル肝臓及び胆汁中代謝プロファイル（試験番号 TR-0129） 19
6. 排泄（試験番号 16863、17560、C18038、TR-0126 及び TR-0129） 21
7. 薬物動態学的薬物相互作用 21
7.1 *In vitro* における CYP を介した相互作用 21
7.1.1 シトクロム P450 酵素の阻害（試験番号 TR-0102、18RAPHP3 及び 20RAPHP3） 21
7.1.2 シトクロム P450 酵素誘導（試験番号 20RAPHP5R3） 22
7.2 ウリジン 5′-二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）阻害（試験番号 TR-0102） 23
7.3 主要トランスポーターとの相互作用（試験番号 TR-0100、TR-0101、TR-0145、RaPharma-12-23Jan2018 及び RaPharma-16-22Aug2019） 23
7.4 *In vivo* における薬物動態学的相互作用（試験番号 TR-0135 及び 20167109） 24
8. その他の薬物動態試験 25
8.1 サルにおける単回皮下投与後の脳内薬物動態（試験番号 ECP-136） 25

※調整中

8.2 サルにおける反復投与後の脳脊髄液及び血漿中薬物動態及び薬力学（試験番号 C5-EXPK-2019-0002） 26
8.3 ラット及びサルにおけるトキシコキネティクスの要約 27
9. 考察及び結論 28
10. 図表 30
11. 参考文献 30

表目次

表 1-1　ジルコプランの薬物動態試験概要 6
表 2-1　ラット及びサル血漿及びヒト母乳（サル母乳の代替）のバリデートされた生物学的分析法の要約 11
表 3-1　ラットにジルコプランを単回投与したときの薬物動態パラメータ 12
表 3-2　カニクイザルにジルコプランの 0.4mg/kg を単回静脈内及び皮下投与したときの薬物動態パラメータ 13
表 3-3　カニクイザルにジルコプランの 0.21 及び 4.2mg/kg を 1 日 1 回 7 日間投与したときの薬物動態パラメータ 14
表 3-4　抗薬物抗体の検出 15
表 4-1　*In vitro* 血漿たん白結合 16
表 4-2　ジルコプランの血球分配 16
表 4-3　ジルコプランの胎盤移行 17
表 5-1　カニクイザル（TR-0129）及びヒト血漿中（UP0113）ジルコプラン主要代謝物量 19
表 5-2　カニクイザルの血漿、肝臓及び胆汁中ジルコプラン及び RA102758 の濃度平均値（91 日目） 20
表 7-1　ジルコプラン又は RA102758 による CYP アイソフォーム阻害 22
表 7-2　ジルコプランによる CYP mRNA 量の誘導 23
表 7-3　ジルコプラン又は RA102758 と主要なヒトトランスポーターとの相互作用 24
表 7-4　単独又は併用投与したときのサル血漿中ジルコプラン及びシクロスポリン曝露量 25
表 7-5　DX-2507 併用投与の有無におけるサル血漿中ジルコプラン曝露量（n=3） 25
表 8-1　透析液、血漿及び脳脊髄液中におけるジルコプランの C_{max} 及び t_{max} 26

図目次

図 3-1　カニクイザルにジルコプランを反復皮下投与したときの血漿中濃度推移 14
図 5-1　ジルコプランの *in vivo* 主要代謝経路 20
図 6-1　非ヒト霊長類（サル）に 3mg/kg を単回静脈内投与したときの血漿、尿及び胆汁中ジルコプラン（RA101495）及び代謝物（RA102758）濃度 21
図 8-1　透析液、血漿及び脳脊髄液中におけるジルコプラン濃度 26
図 8-2　血漿及び脳脊髄液中におけるジルコプラン及び代謝物濃度推移 27
図 8-3　動物毎の血漿試料における溶血率 27

※調整中

略語及び名称一覧表

略語（名称）	内容	
AUC	area under the drug concentration versus time curve	薬物濃度-時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳がん耐性たん白
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸排泄ポンプ
C5	complement component 5	補体第 5 成分
CL	clearance	クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CsA	cyclosporine A	シクロスポリン A
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用
EG	ethylene glycol	エチレングリコール
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定
ePPND	enhanced pre- and postnatal development	拡充型出生前及び出生後の発生
F	bioavailability	バイオアベイラビリティ
FcRn	neonatal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
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
hC5	human C5 protein	ヒト C5 たん白質
HRP	horseradish peroxidase	ホースラディッシュパーオキシダーゼ
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
MATE1	multi-drug and toxin extrusion protein 1	多剤排出輸送体 1
MATE2-K	multi-drug and toxin extrusion protein 2-K	多剤排出輸送体 2-K
MDCK	Madin-Darby canine kidney	イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来
MDR	multidrug-resistant	多剤耐性
MRP2	multidrug resistance-associated protein 2	多剤耐性関連たん白質 2
MRP3	multidrug resistance-associated protein 3	多剤耐性関連たん白質 3
NTCP	sodium/taurocholate co-transporting polypeptide	ナトリウム／タウロコール酸共輸送ポリペプチド
OAT1	organic anion transporter 1	有機アニオントランスポーター1
OAT3	organic anion transporter 3	有機アニオントランスポーター3
OATP1B1	organic anion transporting polypeptide 1B1	有機アニオン輸送ポリペプチド 1B1
OATP1B3	organic anion transporting polypeptide 1B3	有機アニオン輸送ポリペプチド 1B3
OCT1	organic cation transporter 1	有機カチオントランスポーター1

OCT2	organic cation transporter 2	有機カチオントランスポーター2
OD	optical density	光学密度
PBS	phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩水
PK	pharmacokinetics	薬物動態
$t_{½}$	terminal half-life	最終相半減期
t_{max}	time to reach maximum concentration after drug administration (or time at which the maximum plasma concentration occurred)	最高薬物濃度到達時間
TMB	tetramethylbenzidine	テトラメチルベンジジン
UGT	uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase	ウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態分布容積

1. まとめ

ジルコプランナトリウム（以下、ジルコプラン）の吸収、分布、代謝及び排泄特性は、一連の *in vitro* 並びに Sprague-Dawley（SD）ラット及びカニクイザルを使用した *in vivo* 試験で検討した。*In vitro* 試験は「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」非適用であったが、適切な陽性及び陰性対照を使用することにより試験の適格性を確認した。ラット及びサルにおけるジルコプランの予備的薬物動態（PK）を検討するために使用した分析方法は、非 GLP であるが適切なレベルの精度を確保するために開発し、適格性を確認した。GLP 毒性試験のサポートに使用された全ての分析方法は、GLP ガイドラインに従って開発し、バリデートした。皮下投与したときのラット（4 週間）及びサル（最大 39 週間）の反復投与試験並びにサルにおける雄受胎能試験、及び胚・胎児発生試験を含む拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験のトキシコキネティクス評価を実施した（M2.6.6 項）。なお、4 及び 13 週間のサルの試験では血漿試料中代謝物（RA103488、RA102758 及び RA106009）の測定も実施した。RA106009 はヒト血漿中にはなく、サル血漿中にのみ検出された。

ジルコプランはラットの補体第 5 成分（C5）との相互作用が弱いことが示されており（M2.6.2.2.1.3 項）、ラットでは有意な薬理活性が示されなかった。ヒト及びサルにおいてジルコプランは薬理活性を示し、ブタ試料では中等度の阻害を示した。したがって、非臨床試験動物としてカニクイザルを選択した。

ジルコプランで実施した薬物動態試験の概要を表 1-1 に示す。

表 1-1　ジルコプランの薬物動態試験概要

種類	動物種（系統）	投与経路	投与方法	試験施設	試験番号
吸収					
単回投与	ラット（Sprague-Dawley）	静脈内、経口	単回投与	Ra Pharmaceuticals, USA	C5-INPK-2018-001
単回投与	ラット（Sprague-Dawley）	皮下	単回投与	[redacted], USA	TR-0034
単回投与	サル（cynomolgus）	静脈内、皮下	単回投与	[redacted] and [redacted], USA	TR-0125 (20059043)
単回投与	サル（cynomolgus）	静脈内、皮下	単回投与	[redacted] and [redacted] USA	TR-0125 (20087646)
反復投与	サル（cynomolgus）	皮下	反復投与、1 日 1 回、7 日間	[redacted] and [redacted] USA	TR-0125 (20072469)
反復投与	サル（cynomolgus）	皮下	反復投与、1、4、7 日目	[redacted] and [redacted] USA	TR-0125 (20082852)
分布					
血漿たん白結合	ヒト、ラット、サル血漿	*In vitro*	NA	[redacted] USA	TR-0122
血漿たん白結合	ヒト、ラット、サル血漿	*In vitro*	NA	[redacted] Germany	355-1
血球分配	ヒト全血	*In vitro*	NA	[redacted] USA	TR-0123

※調整中

種類	動物種（系統）	投与経路	投与方法	試験施設	試験番号
定量的全身オートラジオグラフィー	ラット（Long-Evans）	皮下	単回投与	[redacted] USA	16863
定量的全身オートラジオグラフィー	ラット（Long-Evans）	皮下	単回投与	[redacted] USA	C18038
胎盤通過性	*Ex-vivo* ヒト胎盤灌流モデル	*Ex-vivo*	NA	[redacted] USA	RRUS0005
代謝					
血漿及び肝細胞における代謝プロファイル	ヒト及びカニクイザル血漿及び肝細胞	*In vitro*	NA	[redacted] USA	16900
肝細胞における代謝プロファイル	ラット（Sprague-Dawley）肝細胞	*In vitro*	NA	Ra Pharmaceuticals, USA	TR-0161
ジルコプランのω-酸化における CYP 表現型	ヒト肝ミクロソーム及び遺伝子組換えヒト CYPs	*In vitro*	NA	Ra Pharmaceuticals, USA	TR-0160
サル血漿中代謝物特性評価	サル（cynomolgus）	静脈内、皮下	単回投与、反復投与	[redacted] and Ra Pharmaceuticals, USA	TR-0121
血漿、肝臓及び胆汁中ジルコプラン及び代謝物	サル（cynomolgus）	皮下	反復投与、1日1回、13週間	[redacted] and [redacted] USA	TR-0129
サル血漿中代謝プロファイル	サル（cynomolgus）	皮下	反復投与、1日1回、13週間	[redacted] USA	17649
ラット血漿、尿、糞及び組織中代謝プロファイル	ラット（Long-Evans）	皮下	単回投与	[redacted] USA	17560
ヒト血漿中ジルコプラン及び代謝物	ヒト	皮下	単回投与、反復投与	[redacted] USA	TR-0128
ヒト血漿中代謝物	ヒト	皮下	反復投与	[redacted] USA	18512
M1657 の構造	NA	NA	NA	Ra Pharmaceuticals, USA	NCD-TR-001
排泄					
ジルコプラン及び RA102758 の排泄	サル（cynomolgus）	静脈内	単回投与	[redacted] USA	TR-0126
薬物動態学的薬物相互作用					
ヒト CYP 及び UGT 阻害	ヒト肝ミクロソーム及び遺伝子組換えヒト UGT	*In vitro*	NA	[redacted] USA	TR-0102

種類	動物種（系統）	投与経路	投与方法	試験施設	試験番号
CYP4F 阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	NA	[redacted] USA	18RAPHP3
CYP 阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	NA	[redacted] USA	20RAPHP3
CYP 誘導	ヒト肝細胞	*In vitro*	NA	[redacted] USA	20RAPHP5 R3
ヒト BCRP 及び P-糖たん白質阻害	Caco-2 及び BCRP 遺伝子導入 MDCK 細胞	*In vitro*	NA	[redacted] USA	TR-0100
トランスポーターとの相互作用	Sf9 卵巣細胞、HEK293 及び CHO 細胞	*In vitro*	NA	[redacted] Hungary	TR-0101
トランスポーターとの相互作用	CHO、MDCKII 及び HEK293 細胞	*In vitro*	NA	[redacted] Hungary	TR-0145
ヒト P-糖たん白質、OATP1B1 及び OATP1B3 との相互作用	MDCKII 及び HEK293 細胞	*In vitro*	NA	[redacted] Hungary	RaPharma-12-23Jan2018
RA102758 による主要トランスポーターの阻害作用	MDCKII 及び HEK293 細胞	*In vitro*	NA	[redacted] Hungary	RaPharma-16-22Aug2019
シクロスポリン A との相互作用	サル（cynomolgus）	皮下	単回投与	[redacted] and [redacted] USA	TR-0135
FcRn 阻害剤との相互作用	サル（cynomolgus）	皮下	単回投与	[redacted] and Ra Pharmaceuticals, USA	20167109
その他の薬物動態試験					
中枢神経系薬物動態	サル（cynomolgus）	皮下	単回投与	[redacted] Germany and [redacted] USA	ECP-136
反復投与薬物動態／薬力学試験	サル（cynomolgus）	皮下	反復投与、1 日 1 回、6 日間	[redacted] USA	C5-EXPK-2019-0002
その他の薬物動態試験には、M2.6.6.3 項に記載した GLP 試験の一部として実施したトキシコキネティクス試験を含む（20074709、20074710、20076807 及び 20086030）。					

BCRP=乳がん耐性たん白、Caco=ヒト結腸癌由来、CHO=チャイニーズハムスター卵巣、[redacted]、[redacted]、CYP=シトクロム P450、FcRn=胎児性Fc受容体、HEK=ヒト胎児由来腎臓（細胞）、MDCK=イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来、NA=該当なし、OATP=有機アニオン輸送ポリペプチド、Sf9=ツマジロクサヨトウ、UGT=ウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素

単回静脈内投与後、ラット及びサルにおけるジルコプランのクリアランス（CL）値はそれぞれ 0.088mL/min/kg 及び 0.011mL/min/kg を示した。定常状態分布容積（V_{ss}）は、ラット及びサルの両方で体内総水分量よりも小さかった。ラット及びサルにおいて、ジルコプランは皮下投与後に吸収され、最高薬物濃度到達時間（t_{max}）がそれぞれ投与後約 5 時間及び 8 時間であった。ジルコプラ

ンは、サルにおいては高いバイオアベイラビリティ（F）を示し、0.4mg/kg を単回皮下投与したとき 73%に達した。サルにジルコプランを 0.2 又は 4mg/kg の投与量で 1 日 1 回 7 日間皮下投与したとき、1.6～1.8 倍の範囲でわずかな蓄積が観察された。

ラット、サル及びヒトにおいて、ジルコプランは高い血漿たん白結合（>99%）を示し、赤血球への有意な分布を示さなかった。ラットにおける定量的全身オートラジオグラフィー試験では、単回皮下投与後に[^{14}C]ジルコプラン由来の放射能が広く分布し、最高血漿中濃度（C_{max}）に達した後、投与後 8 週間に渡り少なくとも半数の組織が検出可能な放射能を保持したまま、ゆっくりと低下した。追加の代謝プロファイリング試験は、脂質・パルミトイル側鎖を標識した[^{14}C]ジルコプランを投与したラットの肝臓を用いて実施した。結果から、トリパルミチン酸グリセリルがラット肝臓の主要代謝物であり、ラット肝臓中放射性化合物が全てパルミチン酸に関連していることが示された。この結果は、ジルコプランの末端脂質部位が内在性代謝サイクルに組み込まれることが組織内放射能の長い半減期につながるという仮説を支持している。Long-Evans ラットにおいて、薬物由来放射能の色素組織への明確な親和性は認められなかった。

代謝試験でジルコプランの 2 つの主要代謝物、RA102758 及び RA103488 が特定された。RA102758 は、エチレングリコール（EG）-パルミトイル末端に結合したジルコプランの C 末端リジン残基として同定された。RA103488 は、ジルコプランのパルミトイル末端の ω-水酸化体として同定された。RA103488 産生は主にシトクロム P450（CYP）4F2 によるもので、CYP4A11、4F3A 及び 4F3B の寄与はわずかである。ラットにおいて、未変化体が血漿中主要成分であり、一方 RA102758 は尿及び糞中の主要成分であった。サルにおいては、RA102758 及び RA103488 は、ジルコプランの単回及び反復投与後の薬物濃度-時間曲線下面積（AUC）の>10%を占めた。両主要代謝物はヒトにおいても同様の比率で観察されたことから、ジルコプランの代謝経路がヒトとサルの間で同様であることが示唆された。RA102758 は、補体系に薬理作用を及ぼさない。RA103488 の薬理活性の 50%阻害濃度（IC_{50}）は 5.5nM で観察され、ジルコプランの 5.2nM と同様であった（M2.6.2.2.1.4 項）。しかしながら、RA103488 はヒト血漿中でジルコプランの 9.4%（AUC を指標として）であり（M2.7.2 項）、総体的な薬理活性に RA103488 が実質的に寄与するとは考えられない。RA103488 と同様に、ジルコプランのシトルリン化代謝物である RA106009 は、補体介在性溶血阻害能を有するもう一つの代謝物である。この代謝物はサル血漿中の存在は確認されたが、ヒト血漿中では検出されなかった。

ジルコプラン又は RA102758 が阻害する可能性のある以下の酵素及びトランスポーターを *in vitro* で検討した：CYP 酵素（1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、3A 及び 4F）、ウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGTs）（UGT1A1、1A3、1A4、1A6、1A9、2B7 及び 2B15）、又は主要トランスポーター［P-糖たん白質、乳がん耐性たん白（BCRP）、胆汁酸排泄ポンプ（BSEP）、多剤耐性関連たん白質 2（MRP2）、多剤耐性関連たん白質 3（MRP3）、多剤排出輸送体 1（MATE1）、多剤排出輸送体 2-K（MATE2-K）、ナトリウム／タウロコール酸共輸送ポリペプチド（NTCP）、有機カチオントランスポーター1（OCT1）、有機カチオントランスポーター2（OCT2）、有機アニオントランスポーター1（OAT1）、有機アニオントランスポーター3（OAT3）及び有機アニオン輸送ポリペプチド 1B1（OATP1B1）、有機アニオン輸送ポリペプチド 1B3（OATP1B3）］。これらの試験結果、及びジルコプランの CYP 誘導試験結果に基づくと、ジルコプランとこれらの CYP 酵素、UGT 又はトランスポーターの基質との間に臨床的に意味のある相互作用は無いと考えられた。ジルコプランは主要な CYP 酵素（1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A）やトランスポーター（P-糖たん白質、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3）の基質では

なかった。したがって、ジルコプランとこれらの主要な CYP 酵素やトランスポーターの阻害剤又は誘導剤との間の薬物相互作用（DDI）は無いと考えられた。

単回皮下投与後、ラット尿及び糞中のジルコプラン量は投与量の 2%未満であった。サルでは、単回静脈内投与後のジルコプランは尿中で定量できず、胆汁中では投与量の 0.1%未満であった。これらの結果から、ラット及びサルの両方においてジルコプランの消失に代謝が主要な役割を果たしていることが示唆された。

抗薬物抗体は、カニクイザルにおける 4、13 及び 39 週間毒性試験並びに胚・胎児発生試験を含む ePPND 試験で評価した。抗薬物抗体の存在が確認されたのは 2 例だけで、1 例は 4 週間毒性試験の 4mg/kg/day 群、もう 1 例は 13 週間毒性試験の 0.25mg/kg/day 群であった。2 例の動物の血漿中曝露量はそれぞれの投与群の血漿中曝露量と同程度であり、カニクイザルにおいて抗薬物抗体がジルコプランの曝露量に明らかな影響を及ぼさないことが示された。

カニクイザルに 1mg/kg を単回皮下投与し投与後 6 時間まで採取した血漿、脳微小透析液及び脳脊髄液試料中ジルコプランを定量したところ、ジルコプランの脳への移行が示された。

2. 分析法

2.1 放射化学的方法

2.1.1 放射性標識被験物質合成（試験番号 16863 及び C18038）

放射性ジルコプランを 2 種類合成した。一つは脂質・パルミトイル側鎖を[^{14}C]標識した比活性が約 14.6μCi/mg（5.402×10^{5}Bq）及び放射化学的純度が≥95%（合成元、Almac Sciences, Craigavon, UK）の化合物（16863）、一方は末端リジン残基（PEG-脂質尾部と結合）を[^{14}C]標識した比活性が約 13.2μCi/mg（4.884×10^{5}Bq）及び放射化学的純度が≥97%（合成元、Moravek Inc, Brea, California, USA）の化合物である（C18038）。

2.1.2 放射能測定法

[^{14}C]標識ジルコプランは、ラットにおける組織分布及び排泄経路（尿及び糞）の評価に使用した。血漿／血液、尿及び糞（燃焼後）試料中総放射能は、標準的液体シンチレーションカウンターで測定した。

2.2 高速液体クロマトグラフィー（試験番号 MA-0079-RB-BV、MA-0080-RB-BL、NCD3752、MA-0074-RB-BV、MA-0075-RB-BL、MA-0141-RB-BV 及び MA-0142-RB-BL）

ラット及びサルにおけるジルコプランの予備的薬物動態の検討に使用した分析方法は、非 GLP であるが、適切なレベルの精度及び真度を確保するために開発し適格性を確認した。GLP 毒性試験のサポートに使用した全ての分析方法は、GLP ガイドラインに従い開発及びバリデートした（表 2-1）。GLP 法 MA-0079-RB-BV は、GLP 適用ラット 4 週間反復投与毒性試験（20074709）に使用した（長期安定性には MA-0080-RB-BL）。GLP 法 NCD3752 は、GLP 適用ラット小核試験（NCD3747）に使用した。GLP 法 MA-0074-RB-BV は、GLP 適用サル 4、13 及び 39 週間反復投与毒性試験（20074710、20076807 及び 20086030）並びにサルの心血管系、呼吸器系及び中枢神経系の安全性薬理試験（20076954 及び 20074710）のサポートに使用した（長期安定性には MA-0075-

RB-BL）。これらの方法には、血漿たん白質沈殿法及びそれに続く液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）が組み合わされている。

母乳中ジルコプラン濃度を測定するためバリデートした方法（サル母乳の代わりにヒト母乳を使用、MA-0141-RB-BV 及び MA-0142-RB-BL）を使用し、カニクイザルにおける胚・胎児発生試験を含む ePPND 試験（授乳期／成熟期の 3 ヵ月を伴う）の母乳試料の試験をサポートした（8340294）。この方法ではたん白質沈殿抽出法を用いて LC-MS/MS により分析した。

表 2-1　ラット及びサル血漿及びヒト母乳（サル母乳の代替）のバリデートされた生物学的分析法の要約

試験番号	**Agilux MA-0079-RB-BV MA-0080-RB-BL**	**NCD3752**	**Agilux MA-0074-RB-BV MA-0075-RB-BL**	**Charles River MA-0141-RB-BV MA-0142-RB-RL**
動物種/試料	ラット/血漿	ラット/血漿	サル/血漿	サル/母乳 [a]
分析方法	除たん白、LC-MS/MS	除たん白、LC-MS/MS	除たん白、LC-MS/MS	除たん白、LC-MS/MS
ジルコプラン（RA101495）の定量範囲	100～200,000ng/mL	1250～125,000ng/mL	100～200,000ng/mL	5～5000ng/mL
使用した試験	20074709	NCD3747	20074710 20076807 20086030 20076954	8340294

LC-MS/MS=液体クロマトグラフィータンデム質量分析

[a] 代替としてヒト母乳を使用した。

2.3　酵素結合免疫吸着測定（ELISA）法（試験番号 AR6187）

カニクイザルにおける抗薬物抗体を検出するための酵素結合免疫吸着測定（ELISA）法を用いた GLP 適用分析法が開発及びバリデートされた。カニクイザル血漿中抗薬物抗体の存在は、直接 ELISA 法を使用して検討した。試料は ELISA プレートに固定化したジルコプランと共にインキュベートした。一晩インキュベーション後、プレートを洗浄して結合抗体をホースラディッシュパーオキシダーゼ（HRP）を共役させたヤギ抗カニクイザル IgG/IgA/IgM で検出し、テトラメチルベンジジン（TMB）基質溶液を発色させて視覚化した。2N H_2SO_4 100µL/well を添加して発色を停止させ、Molecular Devices Vmax®プレートリーダーを使用して 650nm の補正波長で 450nm の呈色強度を測定した。

免疫原性試験は、スクリーニング、特異性及び力価アッセイの 3 段階アプローチで実施した。アッセイの最小希釈は 10 倍であった。スクリーニングアッセイのカットポイントを超える試料は特異性アッセイで分析し、特異性アッセイで反応があれば力価アッセイで更に評価した。反応性確認用試料の抗体価は、カットポイントの光学密度（OD）以上で OD を示す最低希釈倍数の逆数と定義する。

3. 吸収

薬物動態試験は、ラット及びカニクイザルにおいてリン酸緩衝生理食塩水（PBS）pH7.0 製剤を使用して実施した。ジルコプランは、ラット C5 との相互作用が弱く（M2.6.2.2.1.3 項）、ラットでは有意な薬理活性を示さないと判断した。そのため、薬理、薬物動態及び毒性試験では主要な動物種としてカニクイザルを使用した。

3.1 単回投与

3.1.1 Sprague-Dawley（SD）ラット（試験番号 C5-INPK-2018-001 及び TR-0034）

PBS を用いて調製したジルコプランを雄性 SD ラットに単回静脈内、経口及び皮下投与したときの血漿中薬物動態パラメータを表 3-1 に要約する。

ジルコプラン 2mg/kg を単回静脈内投与したとき、クリアランスは 0.088mL/min/kg、分布容積は 64.3mL/kg を示した。ジルコプラン 4mg/kg を単回経口投与したとき、バイオアベイラビリティは約 0.42%（n=1）とほとんど吸収されなかった。ジルコプランの曝露量は、1 及び 10mg/kg を単回皮下投与したとき、C_{max} の平均値がそれぞれ 5303 及び 45,567ng/mL、並びに AUC_{inf} の平均値がそれぞれ 99,217 及び 988,530ng·h/mL と投与量比例性を示した（表 3-1）。t_{max} の平均値は 4.67～5.33 時間の範囲であり、最終相半減期（$t_{½}$）の平均値は 9.27～9.54 時間の範囲であった。

表 3-1　ラットにジルコプランを単回投与したときの薬物動態パラメータ

投与経路	静脈内	経口 [a]	皮下	皮下
投与量（mg/kg）	**2**	**4**	**1**	**10**
動物数（性別）	**4（M）**	**1（M）**	**3（M）**	**3（M）**
PK パラメータ（平均値）				
C_{max}（ng/mL）	NA	205	5303	45,567
t_{max}（h）	NA	2	4.67	5.33
AUC_{last}（ng·h/mL）	369,000	2680	98,949	987,288
AUC_{inf}（ng·h/mL）	379,000	3210	99,217	988,530
$t_{½}$（h）	9.48	9.28	9.54	9.27
CL（mL/min/kg）	0.088	NA	NA	NA
V_{ss}（mL/kg）	64.3	NA	NA	NA
%F	NA	0.42	NC	NC

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、CL=クリアランス、C_{max}=最高血漿中濃度、F=バイオアベイラビリティ、M=雄性、NA=該当なし、NC=計算せず、PK=薬物動態、$t_{½}$=最終相半減期、t_{max}=最高薬物濃度到達時間、V_{ss}=定常状態分布容積

[a] 経口投与したとき、ラット4例中1例のみ血漿中濃度が定量可能であり、この1例に基づき薬物動態パラメータを算出した。

3.1.2 カニクイザル（試験番号 TR-0125）

カニクイザル（雄、各群 2 例）に 50mM PBS、pH7.0 で調製したジルコプラン 0.4mg/kg を単回静脈内又は皮下投与したときの血漿中 PK パラメータを表 3-2 に要約する［TR-0125（20087646）］。

ジルコプラン 0.4mg/kg を単回静脈内投与したとき、クリアランスは 0.011mL/min/kg、分布容積は 164mL/kg といずれも低値を示した。サルにジルコプラン 0.4mg/kg を単回皮下投与したときのバ

イオアベイラビリティは 73%であり、良好な吸収を示した。サルにおけるジルコプランの消失は緩徐であり、静脈内又は皮下投与にかかわらず最終相半減期は約 180 時間であった。

表 3-2　カニクイザルにジルコプランの 0.4mg/kg を単回静脈内及び皮下投与したときの薬物動態パラメータ

投与経路	静脈内	皮下
投与量（mg/kg）	**0.4**	**0.4**
動物数（性別）	**2（M）**	**2（M）**
PK パラメータ（平均値）		
C_{max}（ng/mL）	NA	2,490
t_{max}（h）	NA	8.0
AUC_{last}（ng·h/mL）	429,638	325,318
AUC_{inf}（ng·h/mL）	601,393	439,187
$t_{½}$（h）	183	178
CL（mL/min/kg）	0.011	NA
V_{ss}（mL/kg）	164	NA
%F	NA	73.0

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、CL=クリアランス、C_{max}=最高血漿中濃度、F=バイオアベイラビリティ、M=雄性、NA=該当なし、PK=薬物動態、$t_{½}$=最終相半減期、t_{max}=最高薬物濃度到達時間、V_{ss}=定常状態分布容積

3.2　反復投与

3.2.1　ラット（試験番号 20074709）

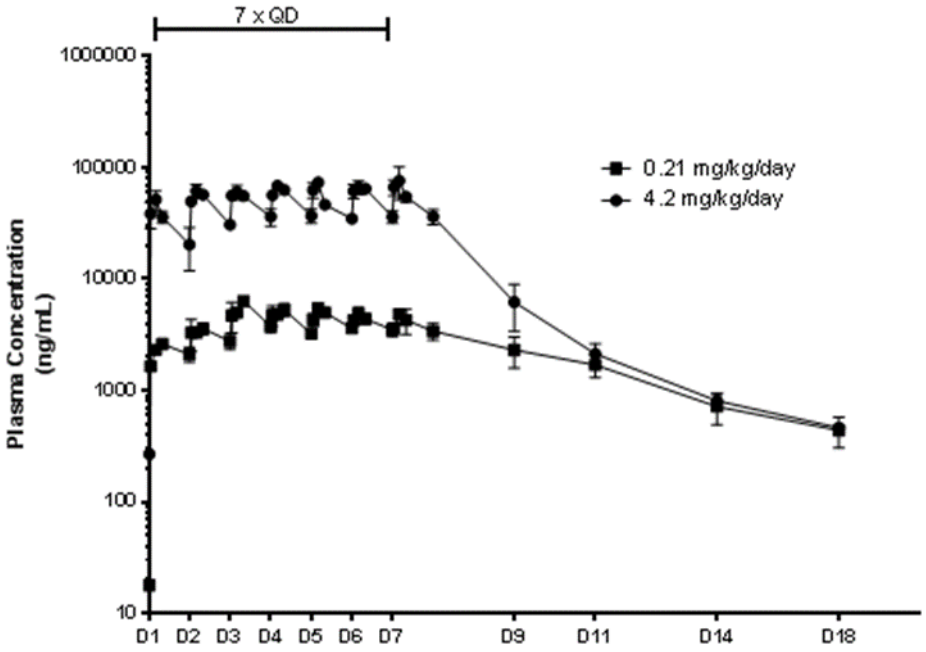
ラットにジルコプランの 40mg/kg までを皮下投与した 4 週間毒性試験において、定常状態での血漿中曝露量（AUC など）は雌雄動物で全般的に投与量とともに増加し投与量比例性を示した。反復投与の 28 日目にわずかな蓄積が見られ、蓄積率は 1.6～3.0 であった（M2.6.6.3.1 項）。

3.2.2　カニクイザル（試験番号 TR-0125）

カニクイザルにおいて、ジルコプランの 0.21 及び 4.2mg/kg を 1 日 1 回 7 日間皮下投与の薬物動態試験を実施し、薬物動態は毎日及び最終投与後 11 日間評価した［TR-0125（20072469）］。本試験では、ジルコプランは 50mM PBS、pH7.0 で調製した投与製剤を使用し、雄性カニクイザル（各群 2 例）に投与した。

ジルコプランの曝露量は、0.21～4.2mg/kg の範囲でわずかに投与量比例性を下回った。初回投与後、0.21 及び 4.2mg/kg 投与群の血漿中濃度は、C_{max} 平均値がそれぞれ 2620 及び 52,400ng/mL に達し、$AUC_{0\text{-}24h}$ 平均値は、0.21 及び 4.2mg/kg 投与群でそれぞれ 54,500 及び 782,000ng·h/mL であった（表 3-3）。図 3-1 に示すように、投与 4 日目までに定常状態に達した。7 日目の C_{max} 平均値は、0.21 及び 4.2mg/kg 投与群でそれぞれ 4860 及び 76,700ng/mL であり、$AUC_{0\text{-}24h}$ 平均値は、0.21 及び 4.2mg/kg 投与群でそれぞれ 96,100 及び 1,260,000ng·h/mL であった。投与 1 日目と 7 日目の AUC 比が約 1.6～1.8 倍の範囲（表 3-3）であったことから、サルにジルコプランを 1 日 1 回 7 日間投与したときの蓄積は少ないことが観察された。これらの投与量での薬力学については、M2.6.2.2.2 項で詳細に述べる。

図 3-1　カニクイザルにジルコプランを反復皮下投与したときの血漿中濃度推移



QD=1日1回、D=（Day）日目

表 3-3　カニクイザルにジルコプランの 0.21 及び 4.2mg/kg を 1 日 1 回 7 日間投与したときの薬物動態パラメータ

投与方法	**1 日 1 回皮下投与**			
投与量（mg/kg/day）	**0.21**		**4.2**	
動物数（性別）	**2（M）**		**2（M）**	
PK パラメータ（平均値）				
投与日	1	7	1	7
t_{max}（h）	8	4	2.5	2.5
C_{max}（ng/mL）	2620	4860	52,400	76,700
$AUC_{0\text{-}24h}$（ng·h/mL）	54,500	96,100	782,000	1,260,000
Day 7/Day 1 $AUC_{0\text{-}24h}$ 比	NA	1.76	NA	1.61

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、M=雄性、NA=該当なし、PK=薬物動態、t_{max}=最高薬物濃度到達時間

カニクイザルにジルコプラン 10mg/kg/day までを投与した反復皮下投与毒性試験において、定常状態における血漿中曝露量はほぼ投与量に比例して増加した。反復投与によりわずかな蓄積がみられ、蓄積率は 1.4～2.2 であった（M2.6.6.3.2 項、M2.6.6.3.3 項及び M2.6.6.3.4 項）。

3.2.3　カニクイザルにおける 1 日 1 回反復皮下投与したときの抗薬物抗体（試験番号 20074710、20076807、20086030 及び 8340294）

カニクイザルにおける抗薬物抗体を、4、13 及び 39 週間毒性試験並びに胚・胎児発生試験を含む ePPND 試験で測定した（表 3-4）。検討した全動物のうち抗薬物抗体が確認されたのは 2 例だけ

で、1 例は 4 週間毒性試験（20074710）の 4mg/kg/day 群（10 例中）、もう 1 例は 13 週間毒性試験（20076807）の 0.25mg/kg/day 群（6 例中）であった。2 例の動物の血漿中ジルコプラン曝露量はそれぞれの投与群の血漿中曝露量と同程度であり、抗薬物抗体がジルコプランの曝露量に明らかな影響を及ぼさなかったことが示された。

表 3-4　抗薬物抗体の検出

4 週間毒性試験（20074710）						
投与量（mg/kg/day）	**0（対照群）**	**1**		**2**		**4**
抗薬物抗体陽性率（%）	0	0		0		10.0%（1/10）[a]
13 週間毒性試験（20076807）						
投与量（mg/kg/day）	**0（対照群）**	**0.25**	**1**	**2**	**10**	
抗薬物抗体陽性率（%）	0	16.7%（1/6）[a]	0	0	0	
39 週間毒性試験（20086030）						
投与量（mg/kg/day）	**0（対照群）**	**0.25**	**1**	**2**	**4**	**6**
抗薬物抗体陽性率（%）	0	0	0	0	0	0
胚・胎児発生試験を含む ePPND 試験（8340294）						
投与量（mg/kg/day）	**0（対照群）**	**1**		**2**		**4**
抗薬物抗体陽性率（%）	0	0		0		0

ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生

[a]　試験動物数に対する陽性動物数

4.　分布

4.1　　P-糖たん白質基質としての評価（試験番号 RaPharma-12-23Jan2018）

多剤耐性（MDR）1 遺伝子を導入したイヌ腎臓尿細管上皮細胞由来（MDCK）II-細胞を使用した双方向透過性アッセイにおいて、ジルコプランの見かけの透過率は基底膜から頂側膜方向及び頂側膜から基底膜方向で類似しており、ジルコプランが P-糖たん白質の基質ではないことが示された。

4.2　　血漿たん白結合（試験番号 TR-0122 及び 355-1）

平衡透析法（TR-0122）を用いて測定したところ、ジルコプランの *in vitro* 血漿たん白結合率はヒト、ラット及びサル血漿において>99.9%であった（表 4-1）。ジルコプラン及びその 2 つのヒト主要代謝物（RA102758 及び RA103488）の高い血漿たん白結合率は *ES*calate® Equilibrium Shift Assay を用いた測定により、355-1 試験（表 4-1）においても確認されている。

表 4-1　*In vitro* 血漿たん白結合

試験	化合物	動物種	試験濃度（μM）	非結合率（%）
TR-0122	ジルコプラン	ラット	5、10 及び 100	<0.1
		サル	5、10 及び 100	<0.1
		ヒト	10 及び 100	<0.1
355-1[a]	ジルコプラン	ラット	1	0.10
		サル	1	0.08
		ヒト	1	0.17
	RA102758	ラット	1	0.11
		サル	1	0.24
		ヒト	1	0.14
	RA103488	ラット	1	0.45
		サル	1	0.91
		ヒト	1	0.66

[a]　355-1試験において非結合率（%）は二重測定の平均値として示した

4.3　ジルコプランの血球分配（試験番号 TR-0123）

ヒト全血を用いた血球分配試験を実施した。ヘマトクリットを測定し、全血の一部から血漿を得て対照血漿とした。全血及び対照血漿を pH7.4 に調整した後、37℃の水浴中で 10 分間インキュベートした。全血及び対照血漿の一部にジルコプラン（最終濃度 2、20 及び 200μM）又は対照化合物クロルタリドン（最終濃度 5μM）を添加して、37℃の振盪水浴中で 60 分間インキュベートした。その後、遠心分離により全血から血漿を分離した。同様に、対照血漿の一定量を分取した。全試料に内部標準を含む 4 倍量の氷冷アセトニトリルを添加して除たん白処理した。血漿たん白質の除去後、上清を精製水で希釈して LC-MS/MS により分析した。

その結果、ジルコプランは主に血漿画分に存在し、赤血球画分への有意な分布を示さないことが明らかとなった（表 4-2）。

表 4-2　ジルコプランの血球分配

動物種	被験物質投与濃度（μM）	赤血球／血漿分配率（$K_{RBC/P}$）	全血／血漿分配率（$K_{WB/P}$）
ヒト	2	0.25	0.72
ヒト	20	0.20	0.70
ヒト	200	0.37	0.76

$K_{RBC/P}=(1/H)*(C_{CP}/C_P-1)+1$、$K_{WB/P}=C_{CP}/C_P$、H=ヘマトクリット（ヒト=0.375）、$C_{CP}$=対照血漿中濃度、$C_P$=血漿画分中濃度

4.4　ラットにおける組織分布（試験番号 16863、C18038 及び 17560）

雄性 Long-Evans ラットにおいて、脂質・パルミトイル側鎖標識[^{14}C]ジルコプラン（16863）又は末端リジン残基（PEG-脂質尾部に結合）標識[^{14}C]ジルコプラン（C18038）を使用した 2 つの定量的全身オートラジオグラフィー試験を実施した。[^{14}C]ジルコプラン由来放射能は、単回皮下投与後に広く分布し、体内からの消失は緩徐であり、投与後 8 週間まで少なくとも半分の組織中に検出可能な放射能が滞留した。Long-Evans ラットにおいて、薬物由来放射能の色素組織への明確な親和性は認められなかった。さらに、血液中と血漿中との総放射能 AUC 比は両試験において 0.75 未満であり、[^{14}C]ジルコプラン由来放射能の赤血球への分配の可能性が低いことが示された。脂質・パル

ミトイル側鎖標識[^{14}C]ジルコプランを使用した試験において、消化管系を除き、最高放射能濃度は内分泌系、脂肪系、リンパ系、代謝／排泄系、及び分泌系組織で観察された。末端リジン残基標識[^{14}C]ジルコプランを使用した試験において、代謝／排泄系組織、特に腎臓で最も高い曝露濃度を示し、中枢神経系組織で最も低い曝露を観察した。上記の 2 試験の違いは、^{14}C 標識位置の違いによるもので、内在性代謝サイクル及び消失経路における放射能標識部分の関与によるものと考えられる。

脂質・パルミトイル側鎖標識[^{14}C]ジルコプランを投与したラットから採取した肝臓を用いて、さらなる代謝プロファイル試験を実施した（17560）。トリパルミチン酸グリセリルがラット肝臓中主要代謝物であり、ラット肝臓中放射能成分は全てパルミチン酸由来であった。この結果は、ジルコプランの末端脂質部分が内在性代謝サイクルに組み込まれ、組織内放射能の半減期が長いことにつながるという仮説を支持する。

4.5　*Ex-vivo* ヒト胎盤灌流モデルにおけるジルコプランの胎盤移行（試験番号 RRUS0005）

ジルコプランの胎盤移行は、*ex-vivo* 二重灌流単離子葉のヒト胎盤灌流モデル（Nanovskaya et al. 2002、Nanovskaya et al. 2012 及び Nanovskaya et al. 2013）を使用して、予定している臨床用量で到達すると考えられる血清濃度の>5 倍までの濃度範囲（10～50μg/mL）で評価した。ジルコプランの移行に対するヒト C5 たん白質（hC5）（64 及び 150μg/mL）の影響をジルコプラン濃度 20μg/mL において評価した。移行率 30～40%で胎盤を通過することが知られている低分子のアンチピリンを灌流の一貫性を検証するための陽性対照として使用した。灌流液サンプル中のジルコプラン及びアンチピリン濃度は LC-MS/MS を使用して測定した。

ジルコプランの平均胎児移行率（胎児と母体の灌流液中濃度比として表示）は 0.5～1.0%の範囲であり、試験終了時の平均胎児濃度は 10、20 及び 50μg/mL の母体濃度の場合で 53.4、186.8 及び 343.0ng/mL であった。

表 4-3　ジルコプランの胎盤移行

被験物質	母体灌流液中濃度（μg/mL）	試験回数	実施時間（h）	5 時間後の胎児中濃度平均値（ng/mL）	アンチピリンの平均移行率[a]（%）	ジルコプランの平均移行率[a]（%）
ジルコプラン	10	5	5	53.4±23.3	39.8±2.1	0.5±0.2
ジルコプラン	20	5	5	186.8±79.5	36.9±3.5	1.0±0.1
ジルコプラン	50	5	5	343.0±74.3	35.9±2.3	0.9±0.3

[a]　母体に対する胎児灌流液中濃度比（%）

陽性対照アンチピリンの母体から胎児への移行率はすべての試験で 34%を超えることが観察され、既報試験の移行率と概ね一致した。

hC5 非存在下で観察された移行率と同様に hC5 存在下でジルコプランの移行率が約 1%で一致していることから、ジルコプランの胎盤移行は母体灌流液中の hC5 の存在による影響を受けなかった。

5. 代謝

5.1 *In vitro* 代謝物（試験番号 16900、TR-0161 及び TR-0160）

In vitro において、ジルコプランをヒト及びカニクイザル血漿中で 8 時間までインキュベーションしても代謝物は検出されなかったため、ジルコプランはヒト及びサル血漿中では安定であると考えられた（16900）。ジルコプランの *in vitro* 代謝プロファイルは SD ラット、カニクイザル及びヒトの肝細胞でも検討され、加水分解が主要な代謝経路であると確認された（TR-0161 及び 16900）。ラット肝細胞とのインキュベーションでは、酸化は認められず（TR-0161）、サル及びヒトの肝細胞とのインキュベーションでは、ヒト特異的代謝物は観察されなかった（16900）。さらに、ヒト肝ミクロソーム及び遺伝子組換えヒト CYP 酵素における *in vitro* 代謝試験において、ジルコプランの ω-酸化物である RA103488 が主に CYP4F2 により産生され、CYP4A11、CYP4F3A 及び CYP4F3B の寄与はわずかであることが示された（TR-0160）。

5.2 *In vivo* 代謝

5.2.1 ラットにおける代謝プロファイル（試験番号 17560）

雄性 Long-Evans ラットに[^{14}C]ジルコプラン（脂質・パルミトイル側鎖標識）を単回皮下投与したとき、ジルコプランは主要な循環血中成分として存在し、投与後 0～168 時間のプール血漿中総放射能の約 60%を占めた。RA102758 はラット尿及び糞中で最大量の代謝物であり、トリパルミチン酸グリセリルはラット肝臓中で主要代謝物として検出された。アルカリ加水分解した投与後 24 時間の肝臓試料中でパルミチン酸のみが観察されたことから、ラット肝臓中の放射能標識部分は全てパルミチン酸由来であると考えられた。ラットにおいて、RA103488 は検出されなかった。

5.2.2 サル及びヒト血漿中代謝プロファイル（試験番号 TR-0121、TR-0129、17649、TR-0128、18512 及び NCD-TR-001）

ジルコプランを皮下投与したときのカニクイザル及びヒト血漿中での潜在的な代謝物を評価した（TR-0121、TR-0129、17649、TR-0128 及び 18512）。ジルコプランの 2 つの主要代謝経路は、加水分解及び末端の ω-酸化であることが確認され、それぞれ RA102758 及び RA103488 が生成された（表 5-1）。サル及びヒト血漿中において両方の代謝物が同様の比率で観察されたことから、ジルコプランの代謝経路が両種間で同様であることが示唆された（表 5-1）。サルにおける 13 週間反復投与試験の最低投与量（0.25mg/kg）において RA102758 は未変化体の AUC の 8.1%を占め、ヒトに 0.3mg/kg を 1 日 1 回 14 日間投与したとき（エスノブリッジング試験：UP0113 試験）の 10.6%と類似していた。

表 5-1　カニクイザル（TR-0129）及びヒト血漿中（UP0113）ジルコプラン主要代謝物量

	カニクイザル（TR-0129）				ヒト（UP0113）[a]	
	0.25mg/kg 群（13 週）		10mg/kg 群（13 週）		0.3mg/kg 群	
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	AUC 比 (%)（代謝物/未変化体）	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	AUC 比 (%)（代謝物/未変化体）	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	AUC 比 (%)（代謝物/未変化体）
ジルコプラン	121.5	-	3270	-	256	-
RA102758	9.90	8.1	1040	31.8	27.1	10.6
RA103488	22.4	18.4	178	5.4	24.2	9.4

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、-=該当なし

[a]　エスノブリッジング試験（UP0113試験）の白人群（6例）におけるDay 14の幾何平均値

RA102758 は補体系への薬理学的効果を有さず（IC_{50}>30μM、M2.6.2.2.1.4 項）（表 5-1）、ジルコプランが占める C5 結合部位に対する親和性を示さないと考えられる。RA103488 は IC_{50} 値が 5.5nM で薬理学的に活性を有しており、ジルコプラン（IC_{50} 値 5.2nM）と同様に補体介在性溶血を阻害した（M2.6.2.2.1.4 項）。しかしながら、RA103488 はヒト血漿中でジルコプランの 9.4%（AUC を指標として）であり（M2.7.2 項）、総体的な薬理活性に RA103488 が実質的に寄与するとは考えられない。

ジルコプランのシトルリン化物である RA106009 は補体介在性溶血を阻害するもう一つの代謝物である（M2.6.2.2.1.4 項）。17649 試験においてサル血漿中の存在は確認されたが、ヒト血漿中では検出されなかった（18512）。

RA102758 の ω-酸化又は RA103488 の加水分解により形成された代謝物 RA103933 は、サル血漿中に他の微量代謝物と比べ多く存在したが（TR-0121、17649 及び NCD-TR-001）、RA103933 のヒトにおける曝露は 0.2mg/kg を 1 日 1 回 7 日間投与したときの最終投与後のヒト血漿中ジルコプランの AUC の 2.5%未満であった（TR-0128）。したがって、ヒトにおいて RA103933 は微量代謝物と考えられた。

5.2.3　サル肝臓及び胆汁中代謝プロファイル（試験番号 TR-0129）

カニクイザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験において、ジルコプラン又は RA102758 の血漿、肝臓及び胆汁中の濃度を測定した。

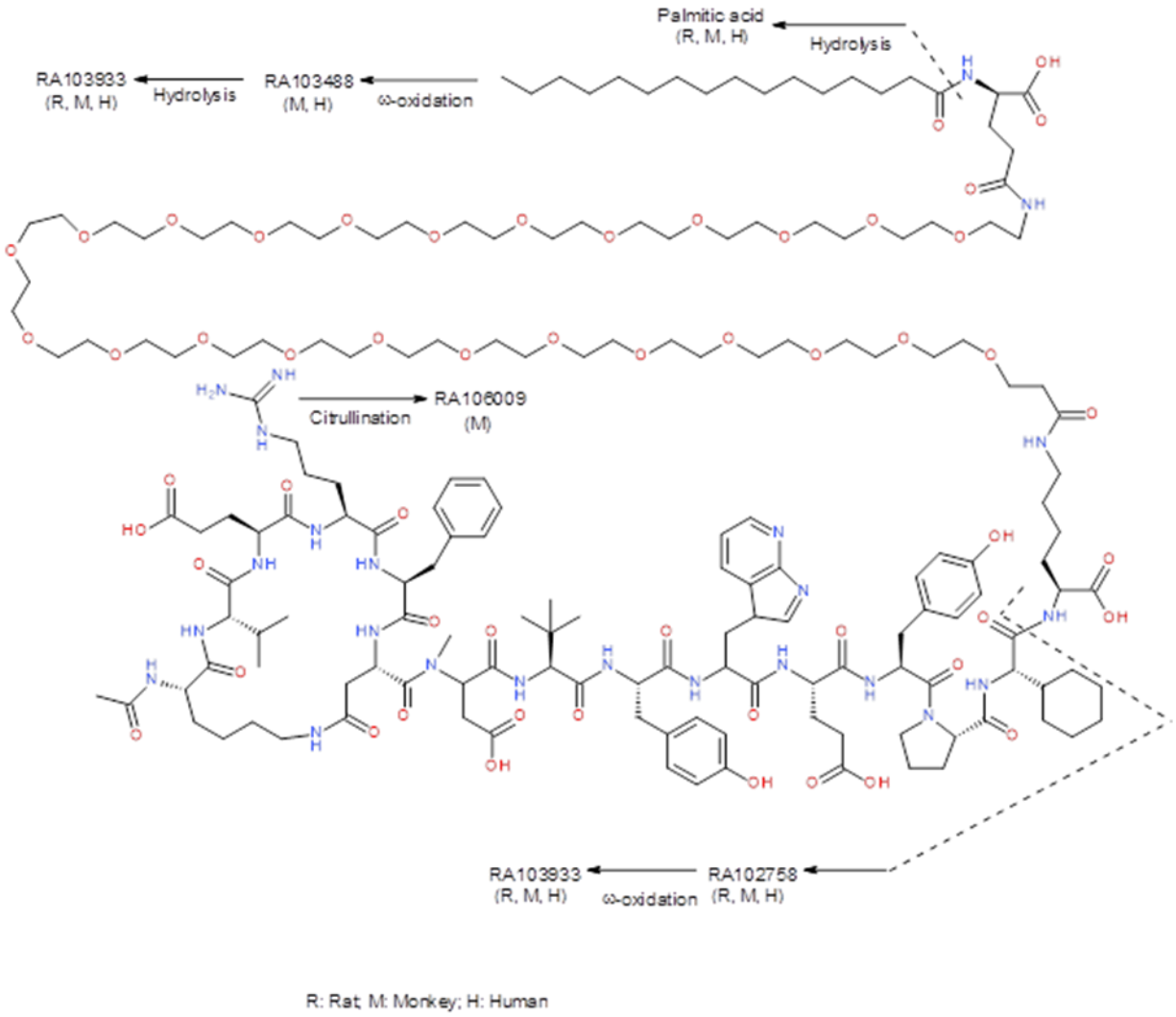
表 5-2 に示すように、91 日目の投与後 24 時間のジルコプランの肝臓中濃度は投与量に従い増加し、最低投与量（0.25mg/kg）での検出限界未満から最高投与量（10mg/kg）での 9805ng/g までの範囲であり、これは各投与量での血漿中ジルコプラン濃度の 0 及び 10%にそれぞれ相当する。代謝物 RA102758 の肝臓中濃度も投与量に従い増加し、投与期間終了時（91 日目）の最低投与量（0.25mg/kg）での 294ng/g から最高投与量（10mg/kg）での 5635ng/g の範囲であった。胆汁中ではジルコプランの濃度は低値であったが、RA102758 は全ての投与量群で比較的高濃度であった。これらの結果は、サルにおいてジルコプランの主要な消失経路が代謝であり、RA102758 の主要な排泄経路が胆汁排泄であることを示唆している。

表 5-2　カニクイザルの血漿、肝臓及び胆汁中ジルコプラン及び RA102758 の濃度平均値（91 日目）

投与量	0.25mg/kg	1mg/kg	2mg/kg	10mg/kg
ジルコプラン				
血漿（ng/mL）	3912	7988	15,340	97,320
肝臓（ng/g）	BLQ	367	2090	9805
胆汁（ng/mL）	BLQ	43	45	502
肝／血漿比（%）	0	5	14	10
RA102758				
血漿（ng/mL）	382	1622	5200	44,610
肝臓（ng/g）	294	377	742	5635
胆汁（ng/mL）	2288	9877	17,833	61,750
肝／血漿比（%）	77	23	14	13

BLQ=定量下限未満

図 5-1　ジルコプランの *in vivo* 主要代謝経路



ジルコプランが環状ペプチドであることを考慮すると、*in vivo* では非特異的プロテアーゼによるより小さなペプチド断片及びアミノ酸への分解を除外できない。

※調整中

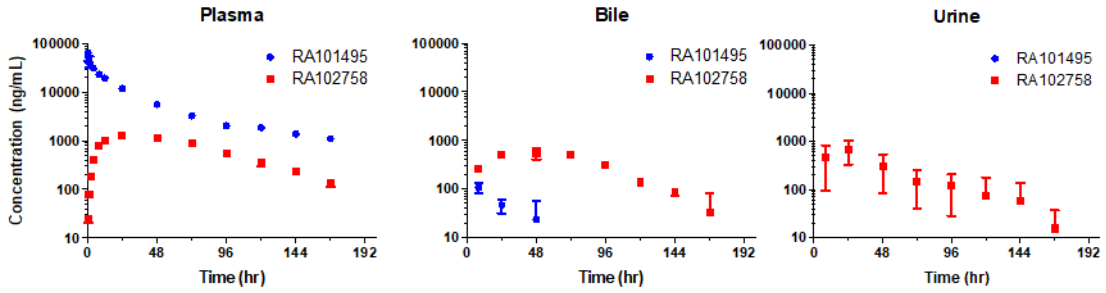
6.　排泄（試験番号 16863、17560、C18038、TR-0126 及び TR-0129）

雄性 Long-Evans ラットに[^{14}C]ジルコプラン（脂質・パルミトイル側鎖標識）を単回皮下投与したとき、投与した放射能の約 17.4%が糞中に排泄され、尿中（8.59%）及びケージの洗浄液中（2.94%）は少量であったことから、胆汁排泄がラットの薬物由来放射能の消失に重要な役割を果たすことが示された（16863）。追加試験により、ラット組織中の残存放射能は放射標識パルミチン酸に由来することが確認されており、この部分が内在性代謝サイクルに組み込まれる可能性があることが示された（17560）。末端リジン残基を標識した[^{14}C]ジルコプランを使用した別の試験では、投与後 288 時間までに雄性 Long-Evans ラットから[^{14}C]ジルコプラン由来放射能の合計 76.6%が排泄され、放射能の主要排泄経路は総放射能の約 50%が回収された尿中排泄であった（C18038）。上記 2 試験間の相違は、^{14}C 標識位置により標識部分がそれぞれ異なる内在性代謝サイクルに組み込まれ、その消失経路を通ることによるものと考えられる。

胆管カニューレを施した雄性カニクイザルにジルコプラン（3mg/kg）を単回静脈内投与した後、血漿、尿、胆汁及び糞中のジルコプラン及び代謝物 RA102758 の量を測定した（TR-0126）。ジルコプランはサルの主要な循環血中成分であったが（図 6-1）、尿中では定量化できず、胆汁中では投与量の 0.085%であった。一方、RA102758 は胆汁中では投与量の 3.86%、尿中では投与量の 2.24%であった。

したがって、ジルコプランの消失には腎又は胆汁排泄ではなく代謝が主要な役割を果たしており、これは TR-0129 試験の結果と一致している。また、サルにおける RA102758 の主要な消失経路は胆汁排泄であった。

図 6-1　非ヒト霊長類（サル）に 3mg/kg を単回静脈内投与したときの血漿、尿及び胆汁中ジルコプラン（RA101495）及び代謝物（RA102758）濃度



7.　薬物動態学的薬物相互作用

7.1　*In vitro* における CYP を介した相互作用

7.1.1　シトクロム P450 酵素の阻害（試験番号 TR-0102、18RAPHP3 及び 20RAPHP3）

ジルコプラン又は RA102758（最大濃度 100μM まで）が 8 種類の CYP アイソフォーム（1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、3A 及び 4F）を阻害する可能性を *in vitro* においてヒト肝ミクロソームを用いて評価した。表 7-1 に示す IC_{50} 値に基づき、又、投与経路（皮下）を考察に入れると、ジルコプラン又は RA102758 の CYP 阻害による DDI の可能性は低いと考えられる。さらに、ジルコプラン又は RA102758 による主要 CYP（1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A）の時間依存

的阻害の可能性を、IC_{50}シフト法を用いて評価した（20RAPHP3）。結果として、ジルコプラン及びRA102758のいずれも試験したCYPアイソフォームの時間依存的阻害剤ではないことが示された。

表7-1　ジルコプラン又はRA102758によるCYPアイソフォーム阻害

CYPアイソフォーム	プローブ基質	ジルコプラン		RA102758	
		IC_{50}（μM）	[I]/K_i（μM）[a]	IC_{50}（μM）	[I]/K_i（μM）[a]
1A2	フェナセチン（63μM）	79	<0.02	66.6	<0.02
2B6	ブプロピオン（75μM）	94	<0.02	57.1	<0.02
2C8	アモジアキン（2μM）	>100	<0.02	62.3	<0.02
2C9	ジクロフェナク（10μM）	NI	<0.02	>100	<0.02
2C19	S-メフェニトイン（40μM）	NI	<0.02	>100	<0.02
2D6	ブフラロール（7μM）	>100	<0.02	84.3	<0.02
3A	ミダゾラム（2.5μM）	88	<0.02	55.8	<0.02
	テストステロン（55μM）	>100	<0.02	62.7	<0.02
4F	ロイコトリエンB4（3μM）	>100	<0.02	>100	<0.02

CYP=シトクロムP450、IC_{50}=50%阻害濃度、NI=試験した最高濃度まで阻害なし

[a] [I]/K_i、ここで推算されたK_i=IC_{50}/2はチェン-プルソフの関係式：K_i=IC_{50}/1+[s]/kmに基づく。基質のkmはアッセイに使用した濃度[s]に等しい、[I]=f_u·C_{max}、総ジルコプランC_{max}=12,310ng/mL（3.46μM、MW=3559.97）このときf_u=0.01、総RA102758 C_{max}=1267ng/mL（0.77μM、MW=1642）このときf_u=0.01（C_{max}：臨床試験UP0113、表14.2.2.4及び14.2.2.5、白人群14日目の幾何平均値）

7.1.2　シトクロムP450酵素誘導（試験番号20RAPHP5R3）

ヒト肝細胞を使用して、ジルコプランによるCYP酵素誘導（CYP1A2、2B6及び3A4）の可能性をCYP酵素のmRNAの変化比を測定することにより、最大20μMまでの3濃度で検討した。表7-2に示すように、CYP1A2、2B6又は3A4のmRNA発現量は濃度依存的な増加はせず、変化比は概して2倍未満であり、ジルコプランが試験したCYP酵素の誘導因子である可能性は低いことが示された。肝細胞に対する細胞毒性は20μMまで観察されなかった。

表 7-2　ジルコプランによる CYP mRNA 量の誘導

提供者[a]	濃度（μM）	1A2		2B6		3A4	
		変化比平均値[b]	陽性対照率（%）[c]	変化比平均値[b]	陽性対照率（%）[c]	変化比平均値[b]	陽性対照率（%）[c]
1	2	0.437	0	1.55	4.57	0.335	0
	6	0.363	0	1.70	5.85	1.63	0.402
	20	0.333	0	1.52	4.38	1.02	0.0120
2	2	0.781	0	0.996	0	2.07[d]	0.395
	6	0.686	0	0.387	0	1.25	0.0211
	20	0.642	0	1.19	0.619	0.451	0
3	2	0.374	0	0.444	0	0.368	0
	6	0.376	0	0.403	0	0.0221	0
	20	0.338	0	0.793	0	0.0332	0

[a] 異なる提供者からの肝細胞を使用した

[b] mRNA倍率変化=mRNA被験物質／mRNA溶媒。溶媒対照：全CYPで肝細胞培地

[c] 陽性対照率（%）=100×（mRNA被験物質-mRNA溶媒）／（mRNA陽性対照-mRNA溶媒）。陽性対照：CYP1A2はオメプラゾール（50μM）、CYP2B6はフェノバルビタール（1000μM）、CYP3A4はリファンピシン（50μM）。陰性対照：全CYPでフルマゼニル（10μM）

[d] 陰性対照ではCYP3A4 mRNA量の3.41倍の変化を示した

7.2　ウリジン 5′-二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）阻害（試験番号 TR-0102）

ジルコプラン（最大 100μM）による UGT 阻害は、プローブ基質及びウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸存在下でヒト遺伝子組換え UGT；UGT1A1、1A3、1A4、1A6、1A9、2B7 及び 2B15 を用いて評価した。弱い阻害が UGT アイソフォーム 1A1（IC_{50} 12μM）及び 1A3（IC_{50} 48μM）で見られたが、検討した最高濃度 100μM で、他のアイソフォームでは 50%を超える阻害は検出されなかった。これらの結果から、ジルコプランと検討した UGT アイソフォームの基質間で臨床的に意味のある相互作用の可能性は低いことが示された。

7.3　主要トランスポーターとの相互作用（試験番号 TR-0100、TR-0101、TR-0145、RaPharma-12-23Jan2018 及び RaPharma-16-22Aug2019）

ジルコプラン又は RA102758 と主要トランスポーターとの相互作用に起因する DDI の可能性を、一連の *in vitro* 試験で検討した。その結果、ジルコプランは P-糖たん白質、BCRP、OATP1B1 又は OATP1B3 の基質ではなく、ジルコプランと P-糖たん白質、BCRP、OATP1B1 又は OATP1B3 の阻害剤又は誘導剤との相互作用の可能性は低いと考えられる。

ジルコプラン又は RA102758 の主要トランスポーターとの相互作用を表 7-3 に要約した。ジルコプランの臨床予定投与経路は皮下投与であるため、ジルコプラン及び関連代謝物の相互作用評価は非結合体の C_{max} で行った。ジルコプラン又は RA102758 によるトランスポーター阻害に関係する臨床的に意味のある DDI は、非結合体 C_{max}/IC_{50} が 0.02 未満でありその可能性は低いと考えられる。

表 7-3　ジルコプラン又は RA102758 と主要なヒトトランスポーターとの相互作用

トランスポーター	基質としての評価	阻害剤としての評価 IC_{50}（μM）	非結合体 C_{max}[a] /IC_{50}
ジルコプラン			
P-糖たん白質	No	>100	<0.02
BCRP	No	31.7	<0.02
MATE1	未評価	>50	<0.02
MATE2-K	未評価	>50	<0.02
OATP1B1	No	2.36（30 分間プレインキュベーション）	<0.02
OATP1B3	No	2.12（30 分間プレインキュベーション）	<0.02
OAT1	未評価	>50	<0.02
OAT3	未評価	>50	<0.02
OCT1	未評価	>50	<0.02
OCT2	未評価	>50	<0.02
RA102758			
P-糖たん白質	未評価	3.01	<0.02
BCRP	未評価	>50	<0.02
MATE1	未評価	10.82	<0.02
MATE2-K	未評価	>40	<0.02
OATP1B1	No	3.97（30 分間プレインキュベーション）	<0.02
OATP1B3	No	6.58（30 分間プレインキュベーション）	<0.02
OAT1	未評価	>50	<0.02
OAT3	未評価	>50	<0.02
OCT1	未評価	12.49	<0.02
OCT2	未評価	>50	<0.02

BCRP=乳がん耐性たん白、IC_{50}=50%阻害濃度、MATE=多剤排出輸送体、OAT=有機アニオントランスポーター、OATP=有機アニオン輸送ポリペプチド、OCT=有機カチオントランスポーター

[a] 総ジルコプランC_{max}=12,310ng/mL（3.46μM、MW=3559.97）このときf_u=0.01、総RA102758 C_{max}=1267ng/mL（0.77μM、MW=1642）このときf_u=0.01（C_{max}：臨床試験UP0113、表14.2.2.4及び14.2.2.5、白人群14日目の幾何平均値）

さらに、*in vitro* においてジルコプランが BSEP、MRP2 及び MRP3 の阻害能を検討したところ、IC_{50}値はそれぞれ 17.9、1.8 及び 0.5μM であった。また、RA102758 の BSEP に対する IC_{50}値は 7.35μM であった。

7.4　*In vivo* における薬物動態学的相互作用（試験番号 TR-0135 及び 20167109）

OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害剤として知られているシクロスポリン（CsA）は、ジルコプランの投与対象患者集団において併用される可能性のある薬剤である。そのため、カニクイザルにジルコプランの 2mg/kg 及び CsA の 15mg/kg を単回皮下投与したときのジルコプランと CsA 間の DDI の可能性を評価した。

表 7-4 に示すように、ジルコプラン及び CsA の併用投与では、CsA の曝露量にわずかな変化が見られたがジルコプランの曝露量に明確な変化は見られず、サルにおいてこの 2 化合物間の DDI の可能性が低いことが示された。

表 7-4　単独又は併用投与したときのサル血漿中ジルコプラン及びシクロスポリン曝露量

	ジルコプラン		シクロスポリン	
パラメータ	ジルコプラン単独	ジルコプラン+シクロスポリン	シクロスポリン単独	ジルコプラン+シクロスポリン
AUC_{inf} (ng·h/mL)				
平均値	782,000	838,000	8110	10,100
曝露量差[a]（%）	-	107	-	125
C_{max} (ng/mL)				
平均値	15,200	11,800	323	500
曝露量差[a]（%）	-	80.9	-	154

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度

[a]　併用／単独投与の比率

注：データは各群n=2の平均値

近年のいくつかの臨床データから、重症筋無力症における胎児性 Fc 受容体（FcRn）標的治療は、広範囲の免疫抑制を生じない有望な治療法である可能性が示唆されている（Gable and Guptill. 2020）。

ジルコプランは重症筋無力症患者において FcRn 標的治療と併用される可能性があるため、ジルコプランの 2mg/kg を単回皮下投与したときに FcRn 阻害剤（DX-2507）20mg/kg 併用皮下投与の有無でカニクイザルにおけるジルコプランの PK パラメータを検討した（20167109）。表 7-5 に示すように、ジルコプランの曝露量には FcRn 阻害剤の併用投与による明確な変化はなかった。

表 7-5　DX-2507 併用投与の有無におけるサル血漿中ジルコプラン曝露量（n=3）

	C_{max} (ng/mL)		**AUC_{inf} (ng·h/mL)**	
パラメータ	ジルコプラン単独	ジルコプラン+DX-2507	ジルコプラン単独	ジルコプラン+DX-2507
平均値	24,300	24,200	1,000,000	1,210,000

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度

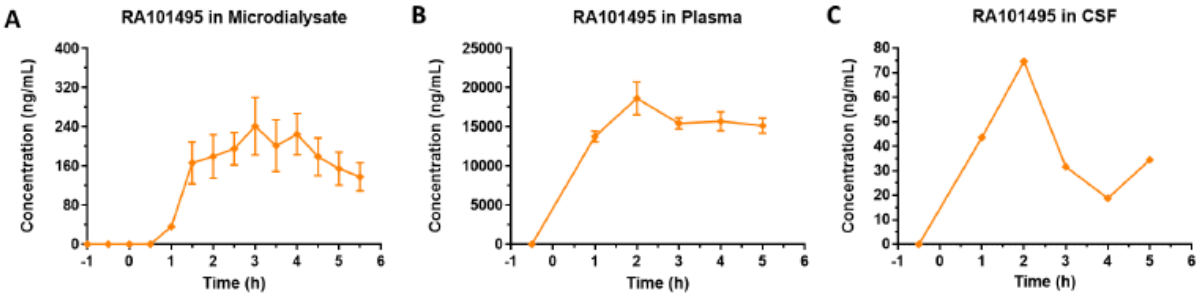
8.　その他の薬物動態試験

8.1　　サルにおける単回皮下投与後の脳内薬物動態（試験番号 ECP-136）

雄性カニクイザルにおける血液、脳及び脳室内脳脊髄液中のジルコプランの薬物動態を評価した。ジルコプランの 1mg/kg を単回皮下投与後、設定した各時点で微小透析液、脳脊髄液及び血漿サンプルを採取した。試料中のジルコプラン濃度を測定し、血液脳関門通過能及び中枢神経系への到達能を評価した。

雄性カニクイザルにおいて、ジルコプランの皮下投与は忍容性が良好であり、有害な臨床所見は観察されなかった。ジルコプランの血漿、脳室内脳脊髄液及び微小透析液中濃度推移を図 8-1 に示す。サルにジルコプラン 1mg/kg を単回皮下投与したとき、ジルコプランの投与後 6 時間まで血漿、脳脊髄液及び微小透析液試料は定量可能であり、サルにおけるジルコプランの脳内移行性が認められた。

図 8-1　透析液、血漿及び脳脊髄液中におけるジルコプラン濃度



CSF=脳脊髄液、RA101495=ジルコプラン

単回投与（t=0h）での雄性カニクイザルの透析液（A、n=3-4）、血漿（B、n=4）及び脳脊髄液（C、n=1、動物番号6125及び7047のデータに基づく合成プロファイル）中ジルコプラン濃度（平均値±標準誤差）

雄性カニクイザルにジルコプラン 1mg/kg を単回皮下投与したときの透析液、血漿及び脳脊髄液中における C_{max} 及び t_{max} を表 8-1 に示す。

表 8-1　透析液、血漿及び脳脊髄液中におけるジルコプランの C_{max} 及び t_{max}

	透析液	血漿	脳脊髄液
C_{max} (ng/mL)	241.04±59.24	18,625.00±2123.04	74.60
t_{max} (h)	3	2	2
動物数	4	4	1

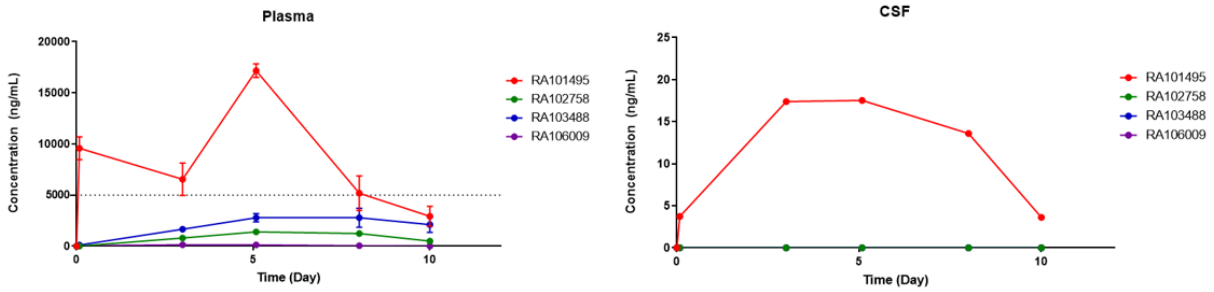
C_{max}：平均値±標準誤差、t_{max}=最高薬物濃度到達時間

8.2　サルにおける反復投与後の脳脊髄液及び血漿中薬物動態及び薬力学（試験番号 C5-EXPK-2019-0002）

カニクイザルにジルコプランを反復投与したときの薬物動態及び薬力学を血漿及び脳脊髄液で評価した。雄性サル 3 例にジルコプラン 1mg/kg を 6 日間連続皮下投与した。投与後 10 日目までの設定した時点で脳脊髄液及び血漿試料を採取し、血漿及び脳脊髄液中ジルコプラン、代謝物 RA102758、RA103488 及び RA106009 濃度を測定した。また、脳脊髄液中の補体 C5 濃度を測定し、一部の血漿及び脳脊髄液サンプルで溶血アッセイを用いて補体活性阻害作用を評価した。

試験期間中、ジルコプランに関連した臨床所見はみられなかった。ジルコプラン及び 3 種類の代謝物の血漿及び脳脊髄液中濃度推移を図 8-2 に示す。ジルコプランの最高血漿中及び脳脊髄液中濃度は、投与 5 日目の 2 時間時点で観察された。代謝物 RA102758、RA103488 及び RA106009 の濃度は、1 試料を除くすべての血漿試料で定量可能であったが、脳脊髄液ではいずれの採取時点においても定量できなかった（M2.6.5 表 16-2）。

図 8-2　血漿及び脳脊髄液中におけるジルコプラン及び代謝物濃度推移

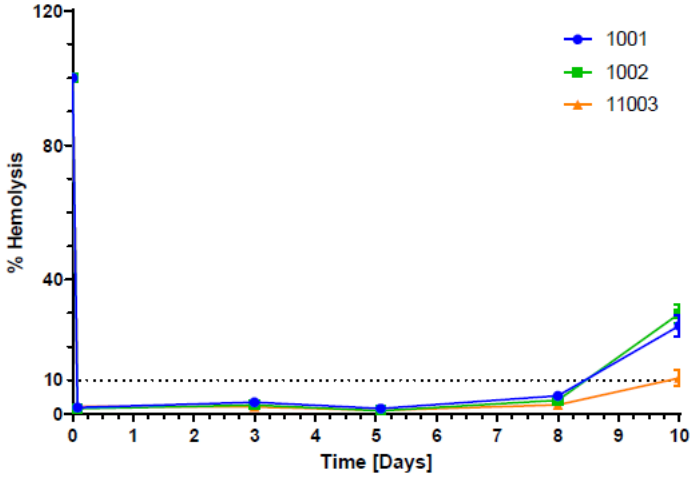


CSF=脳脊髄液、RA101495=ジルコプラン

脳脊髄液中補体 C5 濃度とジルコプランとの明確な関係は、サンプル数が少ないため確認できなかった。

選択した血漿試料による補体活性阻害作用を図 8-3 に示す。すべての動物で、投与後 8 日間まで 90%を超える溶血阻害が認められた。溶血阻害作用は投与開始後 10 日目に低下したが、それでも平均阻害率は 75%を超えていた（溶血率として 22.2%）。

図 8-3　動物毎の血漿試料における溶血率



結論として、ジルコプラン 1mg/kg を 6 日間カニクイザルに反復投与したとき、ジルコプランに関連する死亡又は臨床所見は認められず、臨床的忍容性は良好であると考えられた。また、ジルコプランの最高血漿中及び脳脊髄液中濃度は、投与開始後 5 日目に観察された。

8.3　ラット及びサルにおけるトキシコキネティクスの要約

その他の PK 試験には、M2.6.6.3 項に記載されている重要な GLP 試験の一部として実施されたトキシコキネティクス試験が含まれ、以下に要約を記載する。

ジルコプランのトキシコキネティクス評価は、反復皮下投与したときのラット（4 週間）及びサル（最大 39 週間）の反復投与毒性試験並びにサルにおける雄受胎能試験、及び胚・胎児発生試験

を含む ePPND 試験で実施した。なお、4 及び 13 週間のサル試験では血漿試料中代謝物（RA103488、RA102758 及び RA106009）測定も実施した。ラット及びサルは、全試験期間を通じてジルコプランの曝露を受け、全身曝露に有意な性差は観察されなかった。2 種類の主要代謝物（RA102758 及び RA103488）はサル及びヒト血漿中に同様の割合で観察され、ヒト固有の代謝物はないことが示された。

ジルコプランを 40mg/kg/day まで皮下投与したラット 4 週間毒性試験において、定常状態におけるジルコプランの血漿中曝露量（AUC）は雌雄動物で概して投与量比例的に増加した。反復投与したとき、28 日目に蓄積率が 1.6～3.0 の範囲でわずかな蓄積が観察された。

カニクイザルに 10mg/kg/day まで反復皮下投与した全ての毒性試験において、定常状態の血漿中曝露量はほぼ投与量比例的に増加した。反復投与したとき、蓄積率が 1.4～2.2 の範囲でわずかな蓄積が観察された。

カニクイザルの 4 週間、13 週間及び 39 週間毒性試験、並びに胚・胎児発生試験を含む ePPND 試験で抗ジルコプラン抗体の有無を検討した。試験したすべての動物のうち、4 週間毒性試験（20074710）の 4mg/kg/day 群の 10 例中 1 例及び 13 週間毒性試験（20076807）の 0.25mg/kg/day 群の 6 例中 1 例でのみ抗薬物抗体が確認された。この 2 例の血漿中ジルコプランの曝露量はそれぞれの投与群の曝露量と同程度であり、抗薬物抗体の存在がジルコプランの曝露量に明確な影響を与えないことが示された。

9. 考察及び結論

ジルコプランの吸収、分布、代謝及び排泄特性を、一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験で検討した。*In vitro* 試験は非 GLP であったが、適切な陽性及び陰性対照を使用することにより試験の適格性を確認した。また、ラット及びサルにおけるジルコプランの予備的 PK の検討に使用された分析方法も非 GLP であったが、適切なレベルの精度を担保するために開発し、適格性を確認した。GLP 毒性試験をサポートするために使用した全ての分析方法は、GLP ガイドラインに従って開発及びバリデートされた。

ラット及びサルに単回静脈内投与したとき、ジルコプランは両方の動物種で低クリアランス及び低分布容積を示した。ラットにおける経口投与時のバイオアベイラビリティは約 0.42%（n=1）であり、経口吸収が乏しいことが示された。ラットに単回皮下投与したとき、ジルコプランは、中等度の吸収（t_{max} の範囲は 4.67～5.33 時間）、約 9.3～9.5 時間の $t_{½}$ 平均値、及び検討した投与量（1 及び 10mg/kg）での投与量比例性の曝露を示した。ジルコプランをサルに単回皮下投与したとき、t_{max} 平均値が投与後約 8 時間と緩徐な吸収であった。サルにおいて、ジルコプランは皮下投与時に高いバイオアベイラビリティ（F=73%）及び 7 日間に渡る長い $t_{½}$ を示した。サルにおけるジルコプランの曝露量は、0.2～4mg/kg/day の範囲で投与量比例性を下回り、7 日間皮下投与後の蓄積率は 1.6～1.8 倍の範囲であった。

ジルコプランのトキシコキネティクス評価は、反復皮下投与したときのラット（4 週間）及びサル（最大 39 週間）の反復投与毒性試験並びにサルにおける雄受胎能試験、及び胚・胎児発生試験を含む ePPND 試験で実施した。なお、4 週間及び 13 週間のサル試験では血漿試料中代謝物（RA103488、RA102758 及び RA106009）測定も実施した。ラット及びサルは、全試験期間を通じてジルコプランの曝露を受け、全身曝露に有意な性差は観察されなかった。2 種類の主要代謝物（RA102758 及び RA103488）はサル及びヒト血漿中に同様の割合で観察され、ヒト固有の代謝物はないことが示された。

ジルコプランは、高い血漿たん白結合（ヒト、ラット及びサル血漿において> 99%）を示し、有意な赤血球移行は示さなかった。[^{14}C]ジルコプラン由来放射能は、単回皮下投与後に広く分布し、C_{max} レベルに到達後に緩徐に低下し、少なくとも半数の組織が投与後 8 週間まで放射能を保持し、尿及び糞から低線量が回収された。追加の代謝プロファイリング試験を脂質・パルミトイル側鎖標識[^{14}C]ジルコプランを投与したラットから採取した肝臓で実施した。結果から、トリパルミチン酸グリセリルがラット肝臓の主要代謝物であり、ラット肝臓中放射能成分は全てパルミチン酸由来であることが示された。この結果は、ジルコプランの末端脂質部分が内在性代謝サイクルに組み込まれ、組織内放射能の長期半減期につながるという仮説を支持する。Long-Evans ラットにおける色素組織への薬物由来放射能の明確な親和性は認められなかった。

加水分解及び末端の ω-酸化がヒト血漿におけるジルコプランの 2 つの主要代謝経路と確認され、ジルコプランの 2 種類の主要代謝物、RA102758 及び RA103488 が産生された。ジルコプランが環状ペプチドであることを考慮すると、*in vivo* では非特異的プロテアーゼによるより小さなペプチド断片及びアミノ酸への分解を除外できない。

RA102758 は、エチレングリコール-パルミトイル末端に結合したジルコプランの C 末端リジン残基として同定された。RA103488 は、ジルコプランのパルミトイル末端の ω-水酸化体として同定された。RA103488 産生は主に CYP4F2 に依存し、CYP4A11、4F3A 及び 4F3B の寄与はわずかである。ラットにおいて、未変化体が血漿中主要成分として存在し、RA102758 は糞尿中の主要成分であった。サルにおいてジルコプランを単回及び反復投与したとき、RA102758 及び RA103488 は、未変化体の AUC の>10%を占めた。両主要代謝物はヒトにおいて類似した割合で観察されたことから、ジルコプランの代謝経路が霊長類とヒトで同様であることが示された。RA102758 は血漿たん白質に高率に結合している（>99%）と認められたが、補体系への薬理学的効果は有していなかった。これに対して、RA103488 も血漿たん白質に高率に結合する（> 99%）が、薬理活性が観察された（溶血を指標としたとき、ジルコプランの IC_{50} 値 5.2nM、RA103488 の IC_{50} 値は 5.5nM であった）。したがって、RA103488 はヒト血漿中でジルコプランの 9.4%の AUC を示すが（M2.7.2 項）、総体的な薬理活性に RA103488 が実質的に寄与するとは考えられない。

ジルコプラン又は RA102758 が CYP アイソフォーム（1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、3A 及び 4F）、UGTs（1A1、1A3、1A4、1A6、1A9、2B7 及び 2B15）又はトランスポーター（P-糖たん白質、BCRP、BSEP、MRP2、MRP3、MATE1、MATE2-K、NTCP、OCT1、OCT2、OAT1、OAT3、OATP1B1 及び OATP1B3）を阻害する可能性を *in vitro* で評価した。ジルコプランの CYP 誘導試験の結果と合わせて、ジルコプランとこれら試験した CYP 酵素、UGT、又はトランスポーターの基質との間に臨床的に意味のある相互作用は無いと考えられた。ジルコプランは、主要 CYP 酵素（1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A）又はトランスポーター（P-糖たん白質、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3）の基質ではなかった。したがって、ジルコプランとこれらの主要 CYP 酵素又はトランスポーターの阻害剤又は誘導剤との間の薬物間相互作用は考えられない。

単回皮下投与したとき、ラットの尿及び糞中のジルコプラン量は投与量の 2%未満であった。胆管カニューレを挿入したサルでは、単回静脈内投与後のジルコプランは尿中で定量化できず、胆汁中では投与量の 0.1%未満であった。これらの結果から、ラット及びサル共にジルコプランの主要なクリアランス経路は代謝であることが示唆された。

抗薬物抗体は、カニクイザルを用いた 4、13 及び 39 週間毒性試験並びに胚・胎児発生試験を含む ePPND 試験において評価した。検討した全動物のうち抗薬物抗体が確認されたのは 2 例だけで、1 例は 4 週間毒性試験の 4mg/kg/day 群、もう 1 例は 13 週間毒性試験の 0.25mg/kg/day 群であっ

た。2 例の動物の血漿中曝露量はそれぞれの投与群の血漿中曝露量と同程度であり、抗薬物抗体がジルコプランの曝露量に明らかな影響を及ぼさなかった。

サルにジルコプラン 1mg/kg を単回皮下投与したとき、投与後 6 時間までの血漿、脳微小透析液及び脳脊髄液試料中ジルコプラン濃度を定量したところ、ジルコプランの脳への移行性が認められた。

10. 図表

図表は本文中に示した。

11. 参考文献

Gable KL, Guptill JT. Antagonism of the neonatal Fc receptor as an emerging treatment for myasthenia gravis. Front Immunol. 2020;10:3052. doi:10.3389/fimmu.2019.03052.

Nanovskaya T, Deshmukh S, Brooks M, Ahmed MS. Transplacental transfer and metabolism of buprenorphine. J Pharmacol Exp Ther. 2002;300(1):26-33.

Nanovskaya T, Patrikeeva S, Zhan Y, Fokina V, Hankins GD, Ahmed MS. Transplacental transfer of vancomycin and telavancin. Am J Obstet Gynecol. 2012;207:331.e1-6.

Nanovskaya TN, Patrikeeva SL, Paul J, Costantine MM, Hankins GD, Ahmed MS. Transplacental transfer and distribution of pravastatin. Am J Obstet Gynecol. 2013;209:373.e1-5.

目次

1. 薬物動態試験：一覧表 2
2. 分析方法及びバリデーション試験 6
3. 薬物動態試験：吸収：単回投与 9
4. 薬物動態試験：吸収：反復投与 11
5. 薬物動態試験：分布 14
6. 薬物動態試験：血漿たん白結合 31
7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 34
8. 薬物動態試験：その他の分布試験 35
9. 薬物動態試験：*In vitro* における代謝 36
10. 薬物動態試験：*In vivo* における代謝 40
11. 薬物動態試験：推定代謝経路 53
12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 54
13. 薬物動態試験：排泄 58
14. 薬物動態試験：胆汁中排泄 62
15. 薬物動態試験：薬物相互作用 64
16. 薬物動態試験：その他 67

※調整中

1. 薬物動態試験：一覧表

被験物質：ジルコプラン

種類	GLP	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
吸収						
ラットにおける単回投与薬物動態	No	Sprague-Dawley ラット	静脈内及び経口	Ra Pharma	C5-INPK-2018-001	4.2.2.2
ラットにおける単回投与薬物動態	No	Sprague-Dawley ラット	皮下	[redacted]	TR-0034	4.2.2.2
サルにおける単回及び反復投与薬物動態	No	カニクイザル	静脈内及び皮下	[redacted] and [redacted]	TR-0125	4.2.1.1
分布						
血漿たん白結合	No	ヒト、ラット、サル血漿	*In vitro*	[redacted]	TR-0122	4.2.2.3
血漿たん白結合	No	ヒト、ラット、サル血漿	*In vitro*	[redacted]	355-1	4.2.2.3
血球分配	No	ヒト全血	*In vitro*	[redacted]	TR-0123	4.2.2.3
定量的全身オートラジオグラフィー	No	Long-Evans ラット	皮下	[redacted]	16863	4.2.2.3
定量的全身オートラジオグラフィー	No	Long-Evans ラット	皮下	[redacted]	C18038	4.2.2.3
胎盤移行	No	*Ex-vivo* ヒト胎盤灌流モデル	*In vitro*	[redacted]	RRUS0005	4.2.2.3
代謝						
血漿及び肝細胞代謝プロファイル	No	ヒト、カニクイザル血漿及び肝細胞	*In vitro*	[redacted]	16900	4.2.2.4

※調整中

被験物質：ジルコプラン

種類	GLP	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
肝細胞代謝プロファイル	No	Sprague-Dawley ラット肝細胞	*In vitro*	Ra Pharma	TR-0161	4.2.2.4
ジルコプランの ω-酸化における CYP 表現型	No	ヒト肝ミクロソーム及び遺伝子組換えヒト CYPs	*In vitro*	Ra Pharma	TR-0160	4.2.2.4
サル血漿中代謝物特性	No	カニクイザル	静脈内及び皮下	[redacted] and Ra Pharma	TR-0121	4.2.2.4
サル血漿、肝臓、胆汁中ジルコプラン及び代謝物	No	カニクイザル	皮下	[redacted] and [redacted]	TR-0129	4.2.2.4
サル血漿中代謝物プロファイル	No	カニクイザル	皮下	[redacted]	17649	4.2.2.4
ラット血漿、尿、糞及び組織中代謝物	No	Long-Evans ラット	皮下	[redacted]	17560	4.2.2.4
ヒト血漿中ジルコプラン及び代謝物	No	ヒト	皮下	[redacted]	TR-0128	4.2.2.4
ヒト血漿中代謝物プロファイル	No	ヒト	皮下	[redacted]	18512	4.2.2.4
M1657 の構造	No	NA	NA	Ra Pharma	NCD-TR-001	4.2.2.4
排泄						
ジルコプラン及び RA102758 の排泄	No	カニクイザル	静脈内	[redacted]	TR-0126	4.2.2.5

※調整中

被験物質：ジルコプラン

種類	GLP	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
薬物動態学的薬物相互作用						
ヒト CYP 及び UGT 阻害	No	ヒト肝ミクロソーム及び遺伝子組換えヒト UGT	*In vitro*	[redacted]	TR-0102	4.2.2.6
CYP4F 阻害	No	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	[redacted]	18RAPHP3	4.2.2.6
CYP 阻害	No	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	[redacted]	20RAPHP3	4.2.2.6
CYP 誘導	No	ヒト肝細胞	*In vitro*	[redacted]	20RAPHP5R3	4.2.2.6
ヒト BCRP 及び P-糖たん白質阻害	No	Caco-2 及び BCRP 遺伝子導入 MDCK 細胞	*In vitro*	[redacted]	TR-0100	4.2.2.6
トランスポーターとの相互作用	No	Sf9 卵巣細胞、HEK293 及び CHO 細胞	*In vitro*	[redacted]	TR-0101	4.2.2.6
トランスポーターとの相互作用	No	CHO、MDCKII 及び HEK293 細胞	*In vitro*	[redacted]	TR-0145	4.2.2.6
ヒト P-糖たん白質、OATP1B1 及び OATP1B3 との相互作用	No	MDCKII 及び HEK293 細胞	*In vitro*	[redacted]	RaPharma-12-23Jan2018	4.2.2.6
RA102758 による主要トランスポーターの阻害	No	MDCKII 及び HEK293 細胞	*In vitro*	[redacted]	RaPharma-16-22Aug2019	4.2.2.6
シクロスポリン A との相互作用	No	カニクイザル	皮下	[redacted] and [redacted]	TR-0135	4.2.2.6
FcRn 阻害剤との相互作用	No	カニクイザル	皮下	[redacted] [redacted] and Ra Pharma	20167109	4.2.2.6

※調整中

被験物質：ジルコプラン

種類	GLP	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
その他の薬物動態試験						
中枢神経系薬物動態	No	カニクイザル	皮下	[redacted] Germany and [redacted]	ECP-136	4.2.2.7
反復投与薬物動態／薬力学試験	No	カニクイザル	皮下	[redacted]	C5-EXPK-2019-0002	4.2.2.7
その他の薬物動態試験には M2.6.6 項に記載した GLP 試験の一部として実施したトキシコキネティクス試験が含まれる						

BCRP=乳がん耐性たん白、Caco=ヒト結腸癌由来、CHO=チャイニーズハムスター卵巣、[redacted]、[redacted]、CYP=シトクロムP450、FcRn=胎児性Fc受容体、HEK293=ヒト胎児由来腎臓（細胞）、MDCK=イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来、NA=該当なし、OATP=有機アニオン輸送ポリペプチド、Sf9=ツマジロクサヨトウ、UGT=ウリジン5’-二リン酸グルクロン酸転移酵素

※調整中

2. 分析方法及びバリデーション試験

被験物質：ジルコプラン

動物種／試料マトリックス	分析対象物質	試験方法	検量範囲	前処理方法	精度及び真度	GLP	試験番号	記載箇所
Sprague-Dawley ラット／血漿（EDTA 二カリウム処理）	ジルコプラン	LC-MS/MS	100～200,000ng/mL	アセトニトリル及びギ酸添加による除たん白	5 濃度（100、300、4000、80,000 及び 160,000ng/mL）の精度管理検体で実施したアッセイ内の精度（%CV）は 7.2%以下、真度は 93.4～104.3%であった。 同じ濃度でのアッセイ間の精度（%CV）は 6.4%以下、真度は 96.8～103.8%であった。	Yes	MA-0079-RB-BV	4.2.2.1
					2 濃度（300 及び 160,000ng/mL）の精度管理検体（-80℃凍結保存）で実施したラット血漿中長期安定性試験の 30～211 日目の精度（%CV）は 6.5%以下、真度は 1.9～9.7%（%Bias）（101.9～109.7%）であった。	Yes	MA-0080-RB-BL	
ラット／血漿（EDTA 二カリウム処理）	ジルコプラン	LC-MS/MS	1250～125,000ng/mL	アセトニトリル及びギ酸添加による除たん白	4 濃度（1250、3750、50,000 及び 100,000ng/mL）の精度管理検体で実施したアッセイ内の精度（%CV）は 12.5%以下、真度は 94.3～106.8%であった。 同じ濃度でのアッセイ間の精度（%CV）は 10.5%以下、真度は 97.9～104.3%であった。	Yes	NCD3752	4.2.2.1

※調整中

被験物質：ジルコプラン

動物種／試料マトリックス	分析対象物質	試験方法	検量範囲	前処理方法	精度及び真度	GLP	試験番号	記載箇所
カニクイザル／血漿（EDTA 二カリウム処理）	ジルコプラン	LC-MS/MS	100～200,000ng/mL	アセトニトリル及びギ酸添加による除たん白	5 濃度（100、300、4000、80,000 及び 160,000ng/mL）の精度管理検体で実施したアッセイ内の精度（%CV）は 8.7%以下、真度は 89.8～108.1%であった。 同じ濃度でのアッセイ間の精度（%CV）は 10.1%以下、真度は 98.6～104.0%であった。	Yes	MA-0074-RB-BV	4.2.2.1
					2 濃度（300 及び 160,000ng/mL）の精度管理検体（-80°C凍結保存）で実施したサル血漿中長期安定性試験の 38～219 日目の精度（%CV）は 5.3%以下、真度は 1.0～9.7%（%Bias）（101.0～109.7%）であった。	Yes	MA-0075-RB-BL	
カニクイザル／血清	抗ジルコプラン抗体	酵素結合免疫吸着測定（ELISA）	カットポイントの光学密度と希釈倍数の逆数で定義	ヤギ抗カニクイザル IgG/IgA/IgM-HRP で検出しテトラメチルベンジジン基質溶液で発色	4 濃度（25.0、100.0、250.0 及び 500.0ng/mL）の精度管理検体で実施したアッセイ内の精度（%CV）は 6.2%以下であった。同じ濃度でのアッセイ間の精度（%CV）は 9.7%以下であった。	No	AR6187	4.2.2.1

※調整中

被験物質：ジルコプラン

動物種／試料マトリックス	分析対象物質	試験方法	検量範囲	前処理方法	精度及び真度	GLP	試験番号	記載箇所
ヒト／母乳（サル母乳の代替	ジルコプラン	LC-MS/MS	5～5000ng/mL	アセトニトリル添加による除たん白	4 濃度（5.00、15.0、150 及び 4000ng/mL）の精度管理検体で実施したアッセイ内の精度（%CV）は 5.1%以下（5.00ng/mL は 17.6%以下）、真度は 93.2～106.4%であった。同じ濃度でのアッセイ間の精度（%CV）11.1%以下、真度は 93.2～101.4%はであった。	Yes	MA-0141-RB-BV	4.2.2.1
					2 濃度（15.0 及び 4000ng/mL）の精度管理検体（-80℃凍結保存）で実施したヒト母乳中長期安定性試験の 59～117 日目の精度（%CV）は 9.5%以下、真度は-12.8～3.3%（%Bias）（87.2～103.3%）であった。	Yes	MA-0142-RB-BL	

CV=変動係数、EDTA=エチレンジアミン四酢酸、HRP=ホースラデッシュパーオキシターゼ、LC-MS/MS=液体クロマトグラフィータンデム質量分析

※調整中

3. 薬物動態試験：吸収：単回投与

表 3-1　ジルコプランの単回投与薬物動態

被験物質：ジルコプラン

試験番号	C5-INPK-2018-001		TR-0034		TR-0125（20059043）		TR-0125（20087646）	
動物種	SD ラット	SD ラット	SD ラット	SD ラット	カニクイザル	カニクイザル	カニクイザル	カニクイザル
動物数（性別）	4（雄性）	1[a]（雄性）	3（雄性）	3（雄性）	2（雄性）	2（雄性）	2（雄性）	2（雄性）
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝液、pH 7.4	50mM リン酸緩衝液、pH 7.4	リン酸緩衝生理食塩水	リン酸緩衝生理食塩水	5% DMSO、50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7	5% DMSO、50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7	50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7	50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7
投与方法	静脈内	経口	皮下	皮下	静脈内	皮下	静脈内	皮下
投与量（mg/kg）	2	4	1	10	0.5	0.5	0.4	0.4
試料	血漿	血漿	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）
分析対象物質	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン
PK パラメータ（平均値）								
CL (mL/min/kg)	0.088[b]	NA	NA	NA	0.007	NA	0.011	NA
V_{ss} (mL/kg)	64.3	NA	NA	NA	63.4	NA	164	NA
C_{max} (ng/mL)	NA	205	5303	45,567	NA	8325	NA	2490
t_{max} (h)	NA	2	4.67	5.33	NA	16.0	NA	8.0
$t_{½}$ (h)	9.48	9.28	9.54	9.27	114	64.7	183	178
AUC_{last} (ng·h/mL)	369,000	2680	98,949	987,288	661,495	645,861	429,638	325,318

※調整中

表 3-1　ジルコプランの単回投与薬物動態

被験物質：ジルコプラン

試験番号	C5-INPK-2018-001		TR-0034		TR-0125（20059043）		TR-0125（20087646）	
動物種	SD ラット	SD ラット	SD ラット	SD ラット	カニクイザル	カニクイザル	カニクイザル	カニクイザル
動物数（性別）	4（雄性）	1[a]（雄性）	3（雄性）	3（雄性）	2（雄性）	2（雄性）	2（雄性）	2（雄性）
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝液、pH 7.4	50mM リン酸緩衝液、pH 7.4	リン酸緩衝生理食塩水	リン酸緩衝生理食塩水	5% DMSO、50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7	5% DMSO、50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7	50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7	50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7
投与方法	静脈内	経口	皮下	皮下	静脈内	皮下	静脈内	皮下
投与量（mg/kg）	2	4	1	10	0.5	0.5	0.4	0.4
試料	血漿	血漿	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）
分析対象物質	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン
PK パラメータ（平均値）								
AUC_{inf} (ng·h/mL)	379,000	3210	99,217	988,530	1,186,811	934,092	601,393	439,187
%F	NA	0.42	NR	NR	NA	78.7	NA	73.0

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、CL=クリアランス、C_{max}=最高血漿中濃度、DMSO=ジメチルスルホキシド、EDTA=エチレンジアミン四酢酸、F=バイオアベイラビリティ、NA=該当なし、NR=未報告、PK=薬物動態、SD=Sprague-Dawley、$t_{½}$=最終相半減期、t_{max}=最高薬物濃度到達時間、V_{ss}=定常状態分布容積

[a] 経口投与したとき、ラット 4 例中 1 例のみ血漿中濃度が定量可能であり、この 1 例に基づき薬物動態パラメータを算出した。

[b] C5-INPK-2018-001 試験報告書で 5.28mL/h/kg と報告されている

※調整中

4. 薬物動態試験：吸収：反復投与

表 4-1　ジルコプランのサルにおける反復投与薬物動態

被験物質：ジルコプラン

試験番号	TR-0125（20072469）		TR-0125（20082852）		
動物種	カニクイザル		カニクイザル		
動物数（性別）	2（雄性）	2（雄性）	2（雄性）	2（雄性）	2（雄性）
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7	50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7	50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7	50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7	50mM リン酸緩衝生理食塩水、pH7
投与方法	皮下、1 日 1 回 7 日間	皮下、1 日 1 回 7 日間	皮下、3 日に 1 回、3 回投与	皮下、3 日に 1 回、3 回投与	皮下、3 日に 1 回、3 回投与
投与量（mg/kg）	0.21	4.2	0.2	0.4	0.6
試料	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）	血漿（EDTA 二カリウム処理）
分析対象物質	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン	ジルコプラン
PK パラメータ 1 日目					
t_{max} (h)	8	2.5	6	2.5	1
C_{max} (ng/mL)	2620	52,400	2010	3370	5130
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	54,500	782,000	NA	NA	NA
$AUC_{0\text{-}72h}$ (ng·h/mL)	NA	NA	114,000	147,000	192,000
PK パラメータ 7 日目					
t_{max} (h)	4	2.5	8	3	5
C_{max} (ng/mL)	4860	76,700	3930	6510	13,100
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	96,100	1,260,000	NA	NA	NA
$AUC_{0\text{-}72h}$ (ng·h/mL)	NA	NA	185,000	220,000	384,000

※調整中

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、EDTA=エチレンジアミン四酢酸、NA=該当なし、PK=薬物動態、t_{max}=最高薬物濃度到達時間

※調整中

表 4-2　カニクイザルに反復皮下投与したときの抗薬物抗体の産生						被験物質：ジルコプラン
4 週間毒性試験	20074710					
投与量（mg/kg/day）	0（対照試料）	1	2	4		
抗薬物抗体アッセイ陽性率（%）	0	0	0	10.0 (1/10)[a]		
13 週間毒性試験	20076807					
投与量（mg/kg/day）	0（対照試料）	0.25	1	2	10	
抗薬物抗体アッセイ陽性率（%）	0	16.7 (1/6)[a]	0	0	0	
39 週間毒性試験	20086030					
投与量（mg/kg/day）	0（対照試料）	0.25	1	2	4	6
抗薬物抗体アッセイ陽性率（%）	0	0	0	0	0	0
胚・胎児発生試験を含む ePPND 試験	8340294					
投与量（mg/kg/day）	0（対照試料）	1	2	4		
抗薬物抗体アッセイ陽性率（%）	0	0	0	0		
追記：抗薬物抗体陽性サンプルを特定するため、スクリーニング、特異性及び力価アッセイの 3 段階アプローチでスクリーニング試験を実施した。アッセイに必要な最小希釈は 10 倍であった。スクリーニングアッセイのカットポイントを超えるサンプルは特異性アッセイで分析し、特異性アッセイで反応があれば力価アッセイでさらに評価した。反応性確認用サンプルの抗体価は、カットポイントの光学密度値以上を発生させる最低希釈倍数の逆数と定義する。						

ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生

[a]　陽性動物数／試験動物数

5. 薬物動態試験：分布

表 5-1　組織分布（16863）

被験物質：[^{14}C]ジルコプラン

試験番号：16863
試験情報：雄性 Long-Evans ラットに[^{14}C]ジルコプランを単回皮下投与したときの定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）による組織分布
動物種：Long-Evans ラット
性別／動物数：投与後の各サンプリング時間に雄性 1 例
摂餌条件：摂食
溶媒／投与形態：50mM リン酸緩衝生理食塩水
投与方法：皮下
投与量（mg/kg）：6
放射性核種：^{14}C（標識位置：パルミトイル側鎖）
比放射能：32.6μCi/mL（投与溶液中）
分析対象物質／分析方法：組織は定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）、血漿及び全血は液体シンチレーションカウンター（LSC）による放射能測定
サンプリング時間：投与後 1、2、4、8、24、48、72、168、672 及び 1344 時間

表 5-1　組織分布（16863）組織中放射能濃度

組織系	組織	濃度（μg equiv/g）									
		サンプリング時間（投与後 hour）									
		1	2	4	8	24	48	72	168	672	1344
血管系	血漿	14.0	20.6	27.2	26.7	14.5	3.75	1.07	0.102	BQL	BQL
	全血	6.86	9.86	13.6	12.9	7.16	1.90	0.620	0.152	0.0511	0.0210
	大動脈	4.08	6.56	7.37	9.84	5.33	1.76	1.65	0.278	0.213	0.118
	心臓血	7.39	11.0	14.9	14.0	8.03	1.78	0.662	0.136	0.0367	BQL
中枢神経系	全脳	0.140	0.170	0.203	0.282	0.246	0.140	0.183	0.178	0.130	0.0630
	脊髄	0.135	0.212	0.298	0.299	0.282	0.239	0.341	0.293	0.170	0.112
視覚系（眼）	眼球	0.120	0.427	1.16	1.56	1.05	0.742	0.314	0.207	0.0484	0.0439
	水晶体	BQL	BQL	0.0590	0.108	0.0563	0.0426	0.0415	0.0369	0.0352	BQL
	ぶどう膜	0.768	2.16	2.95	5.07	6.77	3.03	1.31	0.628	0.209	0.108
皮膚	非有色皮膚	1.11	2.58	3.04	3.80	1.77	1.82	1.72	0.695	0.155	0.0633
	有色皮膚	1.05	2.97	3.68	6.31	4.00	1.99	1.48	0.852	0.241	0.132
内分泌系	副腎皮質	2.89	3.26	5.17	6.45	8.75	4.92	5.38	2.33	0.354	0.101
	副腎	3.19	3.62	5.72	6.73	8.53	4.48	4.89	1.89	0.370	0.116
	副腎髄質	4.36	4.95	7.52	8.35	8.38	3.59	3.64	1.08	0.149	0.107
	下垂体	1.90	2.28	2.95	3.48	3.41	2.30	2.18	1.38	0.220	0.0516
	甲状腺	2.51	3.69	4.50	4.64	5.58	2.24	3.39	1.49	0.208	0.0418

※調整中

表 5-1　組織分布（16863）組織中放射能濃度

組織系	組織	濃度（μg equiv/g）									
		サンプリング時間（投与後 hour）									
		1	2	4	8	24	48	72	168	672	1344
脂肪組織	褐色脂肪	4.12	5.84	9.46	7.95	6.47	3.38	5.08	3.17	0.493	0.137
	白色脂肪（鼠径部）	0.363	0.414	1.53	2.67	4.26	5.12	4.74	4.68	1.84	0.938
消化管系	盲腸粘膜	1.19	2.25	3.98	3.69	3.15	2.69	2.10	0.511	0.221	BQL
	食道壁	1.42	2.74	5.25	7.01	3.59	2.40	2.26	0.782	0.182	0.0439
	大腸壁	2.10	1.81	3.81	5.83	4.32	2.55	1.65	0.675	0.146	0.0441
	口腔粘膜	0.341	1.00	2.04	1.49	1.14	1.74	1.73	0.695	0.135	BQL
	小腸壁	1.25	1.67	4.72	4.84	4.80	3.42	1.79	0.468	0.0784	BQL
	胃壁（腺）	1.21	1.42	2.82	3.22	3.35	2.27	2.20	1.07	0.152	0.0406
	胃壁（腺除外）	0.658	2.11	4.06	7.05	2.60	1.21	1.01	0.757	0.135	0.0378
消化管内容物	盲腸内容物	BQL	BQL	3.09	9.95	4.55	1.84	0.978	0.0789	BQL	BQL
	大腸内容物	0.298	BQL	0.126	10.3	6.21	0.809	0.543	0.0649	0.0340	BQL
	小腸内容物	1.53	3.23	14.0	7.18	1.25	0.411	0.441	0.0602	BQL	BQL
	胃内容物	BQL	BQL	0.0971	0.114	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	膀胱内容物	0.940	1.71	5.99	2.76	4.45	0.803	0.267	0.0768	BQL	BQL

※調整中

表 5-1　組織分布（16863）組織中放射能濃度

組織系	組織	濃度（μg equiv/g）									
		サンプリング時間（投与後 hour）									
		1	2	4	8	24	48	72	168	672	1344
リンパ系	骨髄（大腿骨）	1.86	1.91	3.69	4.11	4.43	3.22	2.41	0.703	0.146	0.0427
	リンパ節（頸部）	0.895	1.50	1.69	3.27	3.29	1.69	2.59	0.879	0.184	0.0499
	脾臓	1.01	1.33	2.49	3.82	4.22	2.65	2.32	0.767	0.0849	0.0364
	胸腺	0.561	1.01	1.61	2.05	2.32	1.35	1.37	0.835	0.0479	BQL
代謝／排泄系	腎臓	4.50	5.75	12.2	16.6	20.6	10.1	9.06	3.09	0.365	0.0684
	腎皮質	4.64	6.38	12.7	20.2	32.0	17.1	14.2	4.24	0.470	0.0881
	腎髄質	4.22	4.96	11.0	11.9	10.1	4.79	3.36	0.876	0.121	BQL
	肝臓	2.74	5.16	6.60	10.7	7.67	3.31	2.00	0.613	0.0696	BQL
	膀胱壁	1.21	3.77	4.37	5.56	7.57	2.45	1.75	1.45	0.0474	BQL
筋肉	心臓	3.08	3.95	4.50	4.68	3.72	1.47	1.12	0.514	0.102	BQL
	骨格筋（大腿部）	0.841	1.06	1.88	2.29	2.06	1.34	1.17	0.689	0.147	0.0561
生殖系	精巣上体	0.974	2.15	3.52	3.61	3.74	3.02	2.14	0.760	0.169	0.0393
	前立腺	1.29	1.48	1.92	2.54	4.23	2.15	1.58	0.672	0.146	BQL
	精嚢	1.12	2.07	2.72	5.17	2.81	2.20	1.85	1.79	0.192	0.0529
	精巣	0.875	1.51	3.10	3.87	3.40	1.49	1.42	0.517	0.157	BQL

※調整中

表 5-1　組織分布（16863）組織中放射能濃度

組織系	組織	濃度（μg equiv/g）									
		サンプリング時間（投与後 hour）									
		1	2	4	8	24	48	72	168	672	1344
呼吸器系	肺	6.53	10.2	11.9	14.3	8.27	2.43	1.34	0.459	0.0940	BQL
	鼻甲介（鼻腔）	1.05	1.22	1.44	3.02	1.83	0.699	1.02	0.632	0.102	0.0404
	気管	0.696	2.51	5.61	5.65	4.05	2.09	1.92	0.974	0.217	0.156
分泌腺	眼窩外涙腺	1.26	1.54	4.43	8.11	3.59	2.47	2.25	1.17	0.0934	BQL
	ハーダー腺	1.12	2.05	2.32	3.15	3.59	2.09	1.48	0.464	BQL	BQL
	眼窩内涙腺	1.28	1.82	3.34	5.81	3.85	2.51	2.26	1.36	0.0812	0.0775
	膵臓	1.57	1.70	3.56	4.66	3.82	2.35	2.35	1.35	0.181	0.0692
	唾液腺	1.89	3.02	3.53	4.40	5.30	2.33	2.89	1.38	0.216	0.0412
骨格	大腿骨	0.375	0.450	1.31	1.49	0.855	0.457	0.270	0.152	BQL	BQL

BQL=定量下限未満（血漿：0.0112μg equiv/g、全血：0.0182μg equiv/g、組織：0.0316μg equiv/g）

※調整中

表 5-1　組織分布（16863）組織中放射能薬物動態パラメータ

組織系	組織	C_{max} (μg equiv/g)	t_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AUC_{0-t} (μg equiv·h/g)	AUC_{inf} (μg equiv·h/g)	組織／血漿比 [a]	r^2
血管系	血漿	27.2	4.0	24.3	849	852	1.00	0.9746
	全血	13.6	4.0	416.4	503	516	0.59	0.9803
	大動脈	9.84	8.0	944.1	633	795	0.75	0.9823
	心臓血	14.9	4.0	169.5	506	515	0.60	0.8279
中枢神経系	全脳	0.282	8.0	775.4	174	245	0.21	0.9806
	脊髄	0.341	72.0	857.3	261	400	0.31	0.9751
視覚系（眼）	眼球 [b]	1.56	8.0	551.7	183	218	0.22	0.7270
	水晶体 [b]	0.108	8.0	3247.0	25.8	191	0.03	0.6605
	ぶどう膜	6.77	24.0	472.8	698	772	0.82	0.9492
皮膚	非有色皮膚	3.80	8.0	346.5	556	588	0.66	0.9500
	有色皮膚	6.31	8.0	447.1	738	823	0.87	0.9214
内分泌系	副腎皮質	8.75	24.0	263.9	1648	1686	1.94	0.9614
	副腎	8.53	24.0	296.9	1490	1539	1.76	0.9678
	副腎髄質 [b]	8.38	24.0	366.4	1041	1097	1.23	0.7938
	下垂体	3.48	8.0	251.1	865	884	1.02	0.9774
	甲状腺	5.58	24.0	230.9	1020	1034	1.20	0.9804
脂肪組織	褐色脂肪	9.46	4.0	263.3	1925	1977	2.27	0.9651
	白色脂肪（鼠径部）	5.12	48.0	514.58	3329	4025	3.92	0.9700

※調整中

表 5-1　組織分布（16863）組織中放射能薬物動態パラメータ

組織系	組織	C_{max} (μg equiv/g)	t_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AUC_{0-t} (μg equiv·h/g)	AUC_{inf} (μg equiv·h/g)	組織／血漿比 [a]	r^2
消化管系	盲腸粘膜 [b]	3.98	4.0	226.7	516	589	0.61	0.7520
	食道壁	7.01	8.0	285.1	714	732	0.84	0.9921
	大腸壁	5.83	8.0	302.4	626	645	0.74	0.9771
	口腔粘膜	2.04	4.0	176.6	434	468	0.51	0.9560
	小腸壁	4.84	8.0	148.6	513	530	0.60	0.9169
	胃壁（腺）	3.35	24.0	252.9	723	738	0.85	0.9633
	胃壁（腺除外）	7.05	8.0	275.6	548	563	0.65	0.9721
リンパ系	骨髄（大腿骨）	4.43	24.0	294.8	680	698	0.80	0.9770
	リンパ節（頸部）	3.29	24.0	287.2	691	712	0.81	0.9821
	脾臓	4.22	24.0	275.2	629	643	0.74	0.8928
	胸腺	2.32	24.0	123.5	451	460	0.53	0.9998
代謝／排泄系	腎臓	20.6	24.0	216.6	2583	2604	3.04	0.9770
	腎皮質	32.0	24.0	213.2	3742	3769	4.41	0.9745
	腎髄質	11.9	8.0	138.5	977	1002	1.15	0.9319
	肝臓	10.7	8.0	133.9	693	707	0.82	0.9583
	膀胱壁	7.57	24.0	110.6	840	847	0.99	0.9891
筋肉	心臓	4.68	8.0	185.5	428	455	0.50	0.9700
	骨格筋（大腿部）	2.29	8.0	330.9	487	514	0.57	0.9544

※調整中

表 5-1　組織分布（16863）組織中放射能薬物動態パラメータ

組織系	組織	C_{max} (μg equiv/g)	t_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AUC_{0-t} (μg equiv·h/g)	AUC_{inf} (μg equiv·h/g)	組織／血漿比 [a]	r^2
生殖系	精巣上体	3.74	24.0	277.2	667	683	0.79	0.9916
	前立腺	4.23	24.0	189.7	505	545	0.59	0.9549
	精嚢	5.17	8.0	236.1	951	969	1.12	0.9453
	精巣	3.87	8.0	214.3	435	484	0.51	0.8966
呼吸器系	肺	14.3	8.0	172.9	670	693	0.79	0.9323
	鼻甲介（鼻腔）	3.02	8.0	303.3	416	433	0.49	0.9295
	気管	5.65	8.0	463.0	797	902	0.94	0.8212
分泌腺	眼窩外涙腺	8.11	8.0	133.1	739	757	0.87	0.9978
	ハーダー腺	3.59	24.0	55.8	277	314	0.33	0.9992
	眼窩内涙腺 [b]	5.81	8.0	300.4	827	860	0.97	0.6890
	膵臓	4.66	8.0	280.8	871	899	1.03	0.9217
	唾液腺	5.30	24.0	234.4	951	965	1.12	0.9869
骨格	大腿骨	1.49	8.0	84.0	71.6	90.0	0.08	0.9078

r^2=決定係数

[a] AUC_{0-t}に基づく組織／血漿比

[b] 決定係数（r^2）が0.8未満のため、$t_{½}$及びAUC_{inf}は概算値

※調整中

表 5-2　組織分布（C18038）

被験物質：[^{14}C]ジルコプラン

試験番号：C18038
試験：雄性 Long-Evans ラットに[^{14}C]ジルコプランを単回皮下投与したときの定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）を用いた組織分布
動物種：Long-Evans ラット
性別（雌雄）／動物数：投与後の各サンプリング時間に雄性 1 例
摂餌条件：摂食
溶媒／投与形態：50mM リン酸緩衝生理食塩水
投与方法：皮下
投与量（mg/kg）：6
放射性核種：^{14}C（末端リジン残基標識）
比放射能：27.1μCi/mL（投与溶液中）
分析対象物質／分析方法：組織は定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）、血漿及び全血は液体シンチレーションカウンター（LSC）による放射能測定
サンプリング時間：投与後 1、2、4、8、24、48、72、168、672 及び 1344 時間

※調整中

表 5-2　組織分布（C18038）組織中放射能濃度

組織系	組織	濃度（μg equiv/g）									
		サンプリング時間（投与後 hour）									
		1	2	4	8	24	48	72	168	672	1344
血管系	血漿	20.779	31.415	28.197	30.935	13.651	3.578	1.097	0.178	BQL	0.0277
	全血	11.904	17.230	15.487	16.650	7.629	2.005	0.664	0.219	0.108	0.197
	大動脈	2.867	7.169	5.926	6.985	4.061	1.704	1.792	0.559	0.118	0.113
	心臓血	12.013	17.105	15.997	16.947	9.650	1.786	0.716	0.191	0.153	0.081
中枢神経系	全脳	0.185	0.221	0.243	0.219	0.197	0.106	0.119	0.095	0.061	BQL
	脊髄	0.188	0.263	0.284	0.310	0.261	0.160	0.197	0.110	0.072	BQL
視覚系（眼）	眼球	0.146	0.397	0.318	1.226	0.366	0.575	0.110	0.181	0.064	0.060
	水晶体	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.061	0.108	0.095
	ぶどう膜	0.113	1.401	0.769	2.913	0.624	0.721	0.477	0.758	0.163	0.137
皮膚	非有色皮膚	0.761	2.322	2.874	5.227	3.048	1.836	1.727	0.390	0.128	0.056
	有色皮膚	0.766	2.286	4.162	4.729	2.819	1.510	1.184	0.529	0.155	0.073
内分泌系	副腎皮質	2.655	3.580	3.285	6.246	5.477	3.361	2.899	1.416	0.130	BQL
	副腎	3.772	4.523	4.479	7.465	5.277	3.312	2.837	1.331	0.140	0.043
	副腎髄質	4.192	5.410	4.990	8.490	5.084	3.211	2.854	1.228	0.150	0.052
	下垂体	2.298	3.413	2.724	2.674	2.621	2.112	1.561	1.297	0.195	BQL
	甲状腺	2.665	3.346	3.532	3.602	3.822	2.468	2.427	1.442	0.499	0.258

※調整中

表 5-2　組織分布（C18038）組織中放射能濃度

組織系	組織	濃度（μg equiv/g）									
		サンプリング時間（投与後 hour）									
		1	2	4	8	24	48	72	168	672	1344
脂肪組織	褐色脂肪	2.781	6.888	3.394	5.087	2.301	1.273	1.021	0.892	0.079	BQL
	白色脂肪（鼠径部）	0.239	0.922	0.494	1.010	0.932	0.395	0.262	0.194	BQL	BQL
消化管系	盲腸粘膜	1.709	2.960	2.544	8.332	3.866	4.373	2.644	0.741	0.109	BQL
	食道壁	4.086	5.563	4.421	8.652	3.513	1.855	1.055	0.327	0.149	BQL
	大腸壁	2.652	3.561	2.724	4.630	7.661	1.419	2.232	0.716	0.091	BQL
	口腔粘膜	0.544	3.017	1.970	2.973	2.381	1.191	1.382	0.617	0.069	BQL
	小腸壁	1.605	2.323	2.483	3.394	1.956	1.123	1.410	0.532	0.064	BQL
	胃壁（腺）	1.311	1.938	1.981	2.140	2.091	1.266	1.094	0.572	0.104	BQL
	胃壁（腺除外）	1.086	2.595	2.605	2.158	2.105	1.218	0.397	0.246	0.144	0.048
消化管内容物	盲腸内容物	BQL	BQL	0.661	4.718	3.062	2.063	0.725	0.140	BQL	BQL
	大腸内容物	0.052	0.060	4.797	1.417	3.143	1.082	1.197	0.335	BQL	BQL
	小腸内容物	0.985	1.254	1.799	2.811	1.052	0.573	0.769	0.057	BQL	BQL
	胃内容物	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	膀胱内容物	25.628	36.560	21.488	9.948	14.397	2.467	1.621	0.651	0.065	BQL

※調整中

表 5-2　組織分布（C18038）組織中放射能濃度

組織系	組織	濃度（μg equiv/g）									
		サンプリング時間（投与後 hour）									
		1	2	4	8	24	48	72	168	672	1344
リンパ系	骨髄（大腿骨）	2.017	2.568	3.011	4.565	3.342	2.337	2.647	1.002	0.101	BQL
	リンパ節（頸部）	1.002	1.848	2.876	3.615	3.082	1.829	1.315	0.795	0.090	BQL
	脾臓	1.690	2.469	2.356	4.662	3.688	3.728	3.461	1.880	0.154	0.055
	胸腺	0.680	1.563	1.482	2.108	1.964	1.287	1.395	0.906	0.115	0.052
代謝／排泄系	胆汁（胆管中）	8.327	3.025	2.919	3.208	1.155	2.091	1.784	0.617	BQL	BQL
	腎臓	9.646	16.184	21.112	37.842	85.161	62.472	107.577	26.115	1.895	0.203
	腎皮質	10.919	19.749	29.037	58.131	145.732	128.497	153.532	55.116	3.165	0.345
	腎髄質	6.463	14.349	14.765	19.043	37.032	18.074	7.039	3.299	0.271	0.065
	肝臓	2.532	3.864	4.355	6.257	8.935	6.766	5.811	2.096	0.121	BQL
	膀胱壁	4.255	100.075	7.140	14.600	1.687	0.696	3.353	1.164	0.104	BQL
筋肉	心臓	3.724	6.043	6.114	6.755	3.994	1.461	1.027	0.429	0.164	0.053
	骨格筋（大腿部）	0.881	1.376	1.447	2.353	1.174	0.900	0.710	0.494	0.223	0.092
生殖系	精巣上体	0.825	2.088	1.979	3.685	3.827	2.093	3.584	0.846	0.249	0.137
	包皮腺	1.547	2.136	3.054	5.118	3.340	2.216	2.883	1.190	0.301	0.071
	前立腺	1.449	2.116	2.416	3.340	3.365	2.213	1.536	0.789	0.112	0.050
	精嚢	0.706	1.009	3.070	3.808	3.746	1.890	1.544	1.092	0.146	BQL
	精巣	1.139	2.261	2.080	4.602	3.982	2.208	2.127	0.970	0.110	BQL

※調整中

表 5-2　組織分布（C18038）組織中放射能濃度

組織系	組織	濃度（μg equiv/g）									
		サンプリング時間（投与後 hour）									
		1	2	4	8	24	48	72	168	672	1344
呼吸器系	肺	7.267	10.995	9.989	11.762	5.300	2.032	1.385	0.876	0.113	0.053
	鼻甲介（鼻腔）	1.064	1.157	1.373	1.577	1.856	0.720	0.817	0.507	0.096	0.064
	気管	4.606	4.915	10.047	8.598	3.110	2.710	1.577	0.764	0.053	0.049
分泌腺	眼窩外涙腺	1.929	2.635	3.405	5.583	2.774	2.873	2.638	1.680	0.181	BQL
	ハーダー腺	1.542	1.956	2.846	3.563	4.054	1.966	3.125	1.297	0.116	BQL
	眼窩内涙腺	2.695	2.010	4.432	3.218	3.488	2.358	2.492	1.389	0.181	BQL
	膵臓	1.960	3.492	3.382	4.051	4.065	1.881	1.420	0.721	0.112	BQL
	唾液腺	3.127	3.380	3.384	4.086	4.058	1.748	2.038	0.963	0.121	BQL
骨格	大腿骨	0.341	0.472	0.516	0.714	0.482	0.240	0.242	0.074	0.113	BQL

BQL=定量下限未満（血漿：0.0118μg equiv/g、全血：0.0218μg equiv/g、組織：0.0408μg equiv/g）

※調整中

表 5-2　組織分布（C18038）組織中放射能薬物動態パラメータ

組織系	組織	C_{max} (μg equiv/g)	t_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AUC_{0-t} (μg equiv·h/g)	AUC_{inf} (μg equiv·h/g)	組織／血漿比 [a]	r^2
血管系	血漿	31.4	2.0	296.4	949	961	1.00	0.8111
	全血 [b]	17.2	2.0	1003.1	693	978	0.73	0.2840
	大動脈 [b]	7.17	2.0	536.8	606	694	0.64	0.6999
	心臓血	17.1	2.0	943.5	709	820	0.75	0.9634
中枢神経系	全脳	0.243	4.0	663.5	61.1	119	0.06	0.9660
	脊髄 [b]	0.310	8.0	498.1	76.7	129	0.08	0.7964
視覚系（眼）	眼球 [b]	1.23	8.0	780.7	154	222	0.16	0.7186
	水晶体	0.108	672.0	NC	114	NC	0.12	NC
	ぶどう膜 [b]	2.91	8.0	499.1	461	560	0.49	0.7581
皮膚	非有色皮膚	5.23	8.0	427.6	485	520	0.51	0.9708
	有色皮膚	4.73	8.0	418.0	502	546	0.53	0.9539
内分泌系	副腎皮質	6.25	8.0	137.7	902	928	0.95	0.9947
	副腎	7.47	8.0	243.1	950	965	1.00	0.9325
	副腎髄質	8.49	8.0	264.3	937	957	0.99	0.9283
	下垂体	3.41	2.0	194.3	677	732	0.71	0.9953
	甲状腺	3.82	24.0	482.2	1148	1328	1.21	0.9537
脂肪組織	褐色脂肪	6.89	2.0	156.0	500	517	0.53	0.9895
	白色脂肪（鼠径部）	1.01	8.0	134.7	66	104	0.07	0.8313

※調整中

表 5-2　組織分布（C18038）組織中放射能薬物動態パラメータ

組織系	組織	C_{max} (μg equiv/g)	t_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AUC_{0-t} (μg equiv·h/g)	AUC_{inf} (μg equiv·h/g)	組織／血漿比 [a]	r^2
消化管系	盲腸粘膜	8.33	8.0	143.9	688	710	0.72	0.9349
	食道壁 [b]	8.65	8.0	256.8	426	481	0.45	0.7800
	大腸壁	7.66	24.0	140.7	621	640	0.65	0.9573
	口腔粘膜	3.02	2.0	145.3	403	417	0.42	0.9870
	小腸壁	3.39	8.0	143.0	373	386	0.39	0.9735
	胃壁（腺）	2.14	8.0	184.9	367	395	0.39	0.9855
	胃壁（腺除外）	2.60	4.0	497.2	304	339	0.32	0.9874
リンパ系	骨髄（大腿骨）	4.57	8.0	134.4	668	688	0.70	0.9794
	リンパ節（頸部）	3.61	8.0	157.1	494	515	0.52	0.9992
	脾臓	4.66	8.0	236.6	1103	1122	1.16	0.9028
	胸腺	2.11	8.0	293.4	539	561	0.57	0.8929

※調整中

表 5-2　組織分布（C18038）組織中放射能薬物動態パラメータ

組織系	組織	C_{max} (μg equiv/g)	t_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AUC_{0-t} (μg equiv·h/g)	AUC_{inf} (μg equiv·h/g)	組織／血漿比 [a]	r^2
代謝／排泄系	胆汁（胆管中）	8.33	1.0	66.5	264	323	0.28	0.9951
	腎臓	108	72.0	169.7	19150	19200	20.18	0.9835
	腎皮質	154	72.0	162.7	34431	34512	36.27	0.9761
	腎髄質	37.0	24.0	211.5	3030	3050	3.19	0.9445
	肝臓	8.93	24.0	112.0	1433	1452	1.51	0.9885
	膀胱壁	100	2.0	126.9	949	968	1.00	0.9771
筋肉	心臓	6.76	8.0	390.8	518	548	0.55	0.9987
	骨格筋（大腿部）	2.35	8.0	488.4	429	494	0.45	0.9972
生殖系	精巣上体	3.83	24.0	458.7	835	925	0.88	0.9237
	包皮腺	5.12	8.0	291.5	916	946	0.96	0.9952
	前立腺	3.36	24.0	304.1	577	599	0.61	0.9019
	精嚢	3.81	8.0	175.4	627	664	0.66	0.9998
	精巣	4.60	8.0	146.5	636	659	0.67	0.9881
呼吸器系	肺	11.8	8.0	299.2	756	779	0.80	0.8871
	鼻甲介（鼻腔）	1.86	24.0	410.0	356	394	0.38	0.8323
	気管 [b]	10.0	4.0	312.4	627	649	0.66	0.6972

※調整中

表 5-2　組織分布（C18038）組織中放射能薬物動態パラメータ

組織系	組織	C_{max} (µg equiv/g)	t_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AUC_{0-t} (µg equiv·h/g)	AUC_{inf} (µg equiv·h/g)	組織／血漿比 [a]	r^2
分泌腺	眼窩外涙腺	5.58	8.0	155.8	904	945	0.95	0.9999
	ハーダー腺	4.05	24.0	131.7	783	805	0.82	0.9877
	眼窩内涙腺	4.43	4.0	162.6	789	832	0.83	0.9958
	膵臓	4.06	24.0	170.8	514	542	0.54	0.9877
	唾液腺	4.09	8.0	153.8	624	651	0.66	0.9880
骨格	大腿骨 [b]	0.714	8.0	1184.7	90.4	283	0.10	0.0995

NC=データ不足のため計算せず、r^2=決定係数

[a] AUC_{0-t}に基づく組織／血漿比

[b] 決定係数（r^2）が0.8未満のため、$t_{½}$及びAUC_{inf}は概算値

※調整中

6. 薬物動態試験：血漿たん白結合

表 6-1 血漿たん白結合

被験物質：ジルコプラン、
RA102758、RA103488

試験番号：TR-0122			
マトリックス：血漿			
方法：平衡透析法			
被験物質	動物種	試験濃度（μM）	結合率（%）
ジルコプラン	ヒト	10、100	>99.9
	ラット	5、10、100	>99.9
	サル	5、10、100	>99.9

※調整中

表 6-1　血漿たん白結合			被験物質：ジルコプラン、RA102758、RA103488
試験番号：355-1			
マトリックス：血漿			
方法：*ES*calate® Equilibrium Shift Assay：種々の希釈倍率の血漿を添加後、ヒト血清アルブミン（HSA）コーティングビーズへの被験物質の結合平衡シフトを分析した。濃度依存的シフトから、ビーズ上のHSAへの結合及び血漿たん白質への結合の見かけの解離定数を計算することができ、これは血漿たん白非結合画分の計算に使用した。			
被験物質	動物種	試験濃度（μM）	非結合率（%）
ジルコプラン	ラット	1	0.10
	サル	1	0.08
	ヒト	1	0.17
RA102758	ラット	1	0.11
	サル	1	0.24
	ヒト	1	0.14
RA103488	ラット	1	0.45
	サル	1	0.91
	ヒト	1	0.66

非結合率（%）は二重測定の平均値

表 6-2　血球分配

被験物質：ジルコプラン

試験番号：TR-0123				
方法：一定量の全血及び予め全血より分離したコントロール血漿にジルコプラン（終濃度 2、20 及び 200μM）及び対照物質クロルタリドン（終濃度 5μM）を添加した。試料（n=2）を 37℃、60 分間インキュベートした後、全血試料は遠心分離（1000×g、10 分間）して血漿を分離した。一定量を分取した全てのサンプル（全血より分離した血漿及びコントロール血漿）に内部標準物質を含む 4 倍量の氷冷したアセトニトリルを加えて処理した。1640×g（3000rpm）で 4℃、10 分間遠心分離して血漿たん白質を除去後、上清を精製水で希釈して LC-MS/MS で分析した。対照物質クロルタリドンの許容基準（$K_{RBC/P}$＝≥5.0）は満たされていた。				
被験物質	動物種	被験物質投与濃度（μM）	赤血球／血漿分配（$K_{RBC/P}$）	全血／血漿分配（$K_{WB/P}$）
ジルコプラン	ヒト	2	0.25	0.72
	ヒト	20	0.20	0.70
	ヒト	200	0.37	0.76

C_{CP}=対照血漿中濃度、C_P=血漿画分中濃度、H=ヘマトクリット（ヒト=0.375）、$K_{RBC/P}=(1/H)*(C_{CP}/C_P-1)+1$、$K_{WB/P}=C_{CP}/C_P$、LC-MS/MS=液体クロマトグラフィータンデム質量分析

※調整中

7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

実施せず。

※調整中

8. 薬物動態試験：その他の分布試験

表 8-1　*Ex-vivo* ヒト胎盤灌流モデルにおけるジルコプランの胎盤移行　被験物質：ジルコプラン

試験番号：RRUS0005						
試験システム：*Ex-vivo* 二重灌流単離子葉のヒト胎盤灌流モデル						
方法：健康な妊娠満期妊婦から得たヒト胎盤を使用した。アンチピリンは灌流の一貫性を検証するための陽性対照として使用した。灌流サンプル中のジルコプラン及びアンチピリン濃度は LC-MS/MS を使用して測定した。						
被験物質	母体灌流液中濃度（μg/mL）	試験回数	実施時間（h）	5 時間後の胎児中濃度平均値（ng/mL）	アンチピリンの平均移行率[a]（%）	ジルコプランの平均移行率[a]（%）
ジルコプラン	10	5	5	53.4±23.3	39.8±2.1	0.5±0.2
	20	5	5	186.8±79.5	36.9±3.5	1.0±0.1
	50	5	5	343.0±74.3	35.9±2.3	0.9±0.3
追記：ジルコプランの移行率は母体灌流液中 hC5 の影響を受けなかった。hC5 存在下におけるジルコプランの移行率は約 1%であり、hC5 非存在下で観察された移行率と同様であった。						

hC5=ヒトC5たん白質、LC-MS/MS=液体クロマトグラフィータンデム質量分析

[a]　胎児及び母体灌流液中濃度比（%）

※調整中

9. 薬物動態試験：*In vitro* における代謝

表 9-1 *In vitro* における代謝：ラット肝細胞 被験物質：ジルコプラン

試験番号	TR-0161			
試験情報	ラット肝細胞における *in vitro* 代謝			
試験系	ラット肝細胞でジルコプランをインキュベーションしたときの代謝プロファイルを半定量化及び構造同定に LC-MS を使用して評価した。			
化合物	総電荷数	高分解能質量分析（HRMS）	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）
ジルコプラン	4	891.5021	259,266,263	67.2
RA102758	3	548.3569	2,969,515	0.770
RA103056	4	795.7534	3,168,318	0.811
M3578/2	4	795.7535	2,484,752	0.650
M3322	4	831.6949	41,980,022	10.9
M2356	3	786.8012	32,376,480	8.39
M2169	3	724.4432	30,133,247	7.81
M1780	3	594.7235	13,420,983	3.48
追記：加水分解がラット肝細胞でみられた主要代謝経路であった。				

HRMS=高分解能質量分析、LC-MS=液体クロマトグラフィー質量分析

※調整中

表 9-2　*In vitro* における代謝：サル及びヒト血漿又は肝細胞　被験物質：ジルコプラン

試験番号	16900									
試験情報	サル及びヒト血漿又は肝細胞における *in vitro* 代謝									
試験系	サル及びヒト血漿又は肝細胞と 1μM 及び 10μM の[^{14}C]ジルコプランをインキュベートしたときのジルコプランの代謝プロファイルを LC-ラジオクロマトグラフィーにより評価し、代謝物の構造を LC-MS を使用して確認した。									
化合物	ジルコプラン及びその代謝物の分布比率（%）									
	サル肝細胞				ヒト肝細胞				陰性対照 [a]	
	1μM		10μM		1μM		10μM		10μM	
	2h	4h	2h	4h	2h	4h	2h	4h	0h	4h
ジルコプラン	74.8	45.7	81.5	84.8	60.3	27.2	80.8	69.9	91.6	91.7
M2356/1									ND	ND
RA103056	5.5	5.8	2.2	2.5	6.0	5.3	2.5	3.2	ND	ND
M1780/1	3.2	29.4	5.5	1.4	13.1	31.1	4.9	12.5	ND	ND
M2040/1									ND	ND
M2169/1									ND	ND
RA102758	5.3	12.9	2.0	4.1	12.2	28.1	4.1	7.2	ND	ND
不純物	4.7	3.4	4.8	4.5	3.5	2.6	4.8	4.2	5.3	4.8
その他 [b]	6.5	2.8	4.0	2.7	4.9	5.7	2.9	3.0	3.1	3.5
追記：サル又はヒト血漿中で 4 又は 8 時間インキュベートしたとき、[^{14}C]ジルコプランの代謝物は検出されず、ジルコプランがサル又はヒト血漿中で安定であることが示された。加水分解はサル及びヒト肝細胞の両方で認められた主要代謝経路であった。										

LC-MS=液体クロマトグラフィー質量分析、ND=未検出

[a] 肝細胞を含まないインキュベーション培地中ジルコプランを陰性対照とした

[b] 他の微量成分を含む

表 9-3　*In vitro* における代謝：ヒト肝ミクロソーム又はヒト CYP 組換え酵素　被験物質：ジルコプラン

試験番号	TR-0160		
試験情報	代謝物 RA103488 を産生するジルコプランのω酸化に関与する CYP 酵素の特定		
試験系	ジルコプランを CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1、2J2、3A4、3A5、4A11、4F2、4F3A、4F3B 及び 4F12 を含むヒト肝ミクロソーム又はヒト CYP 組換え酵素とインキュベートした。RA103488 産生は LC-MS でモニターし、主要酵素はインキュベーション時の阻害剤（CYP4F2 に対するケトコナゾール）の有無での RA103488 産生を比較して確認した。		
代謝酵素	RA103488 産生	内部標準に対する RA103488 分析ピーク（%）	ケトコナゾール存在下の RA103488 産生阻害率（%）
HLMs	Yes	14.3	92.6
CYP1A2	No	0	NA
CYP2B6	No	0	NA
CYP2C8	No	0	NA
CYP2C9	No	0	NA
CYP2C19	No	0	NA
CYP2D6	No	0	NA
CYP2E1	No	0	NA
CYP2J2	No	0	NA
CYP3A4	No	0	NA
CYP3A5	No	0	NA
CYP4A11	Yes	0.304	NA
CYP4F2	Yes	34.0	100
CYP4F3A	Yes	0.848	NA
CYP4F3B	Yes	1.94	NA
CYP4F12	No	0	NA

CYP=シトクロムP450、HLMs=ヒト肝ミクロソーム、LC-MS=液体クロマトグラフィー質量分析、NA=該当なし

※調整中

10. 薬物動態試験：*In vivo* における代謝

表 10-1　*In vivo* における代謝：サル血漿中ジルコプラン代謝物の評価　被験物質：ジルコプラン

試験番号	TR-0121			
試験情報	サル血漿中のジルコプラン代謝物の同定及び定量			
動物種	カニクイザル			
試料採取元	20072469	20074710	20076807	8323966
性別／動物数	雄性 2 例	1 及び 2mg/kg 群では雌雄各 3 例、4mg/kg 群では雌雄各 5 例	0.25 及び 1mg/kg 群では雌雄各 3 例、2 及び 10mg/kg 群では雌雄各 5 例	雄性 2 例
摂餌条件	摂食	摂食	摂食	摂食
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝生理食塩水 pH7	50mM リン酸ナトリウム溶液 pH7.0+0.8% NaCl	50mM リン酸ナトリウム溶液 pH7.0+0.8% NaCl	リン酸緩衝生理食塩水
投与方法	1 日 1 回 7 日間皮下	1 日 1 回 28 日間皮下	1 日 1 回 91 日間皮下	単回静脈内
投与量（mg/kg）	0.21 及び 4.2	1、2 及び 4	0.25、1、2 及び 10	3
アッセイ	LC-HRMS			

LC-HRMS=液体クロマトグラフィー高分解能質量分析

表 10-1　*In vivo* における代謝：サル血漿中ジルコプラン代謝物の評価　被験物質：ジルコプラン

化合物	20072469[a]		20074710[b]			20076807[c]				8323966[d]
	0.21mg/kg	4.2mg/kg	1mg/kg	2mg/kg	4mg/kg	0.25mg/kg	1mg/kg	2mg/kg	10mg/kg	3mg/kg
	AUC (ng·h/mL)									
ジルコプラン	68,400	800,000	320,000	61,5000	1,150,000	1,770,000	5,220,000	10,100,000	56,900,000	1,050,000
RA103933 (M1)	NA	NA	NA	NA	NA	97,000	495,000	1,560,000	3,550,000	100,000

※調整中

表 10-1 *In vivo* における代謝：サル血漿中ジルコプラン代謝物の評価

被験物質：ジルコプラン

化合物	20072469[a]		20074710[b]			20076807[c]				8323966[d]
	0.21mg/kg	4.2mg/kg	1mg/kg	2mg/kg	4mg/kg	0.25mg/kg	1mg/kg	2mg/kg	10mg/kg	3mg/kg
RA103488 (M2)	NA	NA	NA	NA	NA	746,000	2,040,000	3,320,000	4,420,000	362,000
RA102757 (M4)	200	6420	1760	3550	7300	0	27,800	79,900	354,000	3920
RA102984 (M6)	NA	NA	2650	9340	20,400	10,600	50,400	217,000	741,000	12,700
RA102876 (M7)	558	9270	1270	2110	3930	5790	28,500	53,400	205,000	4840
RA102758 (M8)	747	19,300	80,200	197,000	412,000	195,000	1,190,000	2,690,000	23,900,000	258,000
RA103057 (M9)	NA	NA	13,000	25,000	38,000	0	402,000	520,000	1,350,000	33,700
	% of Zilucoplan AUC									
ジルコプラン	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
RA103933 (M1)	NA	NA	NA	NA	NA	5.48	9.48	15.4	6.24	9.52
RA103488 (M2)	NA	NA	NA	NA	NA	42.1	39.1	32.9	7.77	34.5
RA102757 (M4)	0.292	0.803	0.550	0.577	0.635	0	0.533	0.791	0.622	0.373
RA102984 (M6)	NA	NA	0.828	1.52	1.77	0.599	0.966	2.15	1.30	1.21
RA102876 (M7)	0.816	1.16	0.397	0.343	0.342	0.327	0.546	0.529	0.360	0.461
RA102758 (M8)	1.09	2.41	25.1	32.0	35.8	11.0	22.8	26.6	42.0	24.6
RA103057 (M9)	NA	NA	4.06	4.07	3.30	0	7.70	5.15	2.37	3.21
追記：各試験の血漿試料は代謝物の同定及び定量のため投与群及び時点ごとに被験動物間でプールした。分析したジルコプラン濃度は各試験の生物学的分析報告書の記載データから平均値を算出した。RA102758 及び RA103488 以外で、RA103933 はサル血漿中で未変化体 AUC の 10%近く又はそれを超える AUC を示す唯一の代謝物である。										

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、NA=該当なし

[a] 4日目投与後8～24時間のAUC

[b] 28日目投与前～投与後24時間のAUC

[c] 14日目投与後8時間から28日目投与後8時間のAUC

[d] 単回投与後168時間までのAUC

※調整中

表 10-2　サル血漿、肝臓及び胆汁中ジルコプラン及び代謝物の定量

被験物質：ジルコプラン

試験番号	TR-0129
試験情報	反復皮下投与（20076807）をしたときのカニクイザル血漿、肝臓及び胆汁中ジルコプラン及び代謝物の定量
動物種	カニクイザル
性別／動物数	主試験：雄性 3 例、雌性 3 例　回復期：雄性 2 例、雌性 2 例
摂餌条件	摂食
溶媒／投与形態	リン酸緩衝生理食塩水
投与方法	皮下
投与量（mg/kg/day）	0、0.25、1、2 及び 10（13 週間）
分析対象物質	ジルコプラン、RA102758 及び RA103488
アッセイ	LC-MS/MS

濃度平均値（投与後 24 時間値）

分析対象物質	マトリックス	0.25mg/kg（91 日目）	1mg/kg（91 日目）	2mg/kg（91 日目）	2mg/kg 回復期（119 日目）	10mg/kg（91 日目）	10mg/kg 回復期（119 日目）
ジルコプラン	血漿（ng/mL）	3912	7988	15,340	BQL	97,320	BQL
	肝臓（ng/g）	BQL	367	2090	BQL	9805	BQL
	胆汁（ng/mL）	BQL	43	45	BQL	502	BQL
	肝臓平均値／血漿平均値（%）	0	5	14	NA	10	NA
RA102758	血漿（ng/mL）	382	1622	5200	BQL	44,610	9
	肝臓（ng/g）	294	377	742	BQL	5635	29
	胆汁（ng/mL）	2288	9877	17,833	242	61,750	931
	肝臓平均値／血漿平均値（%）	77	23	14	NA	13	NA

表 10-2　サル血漿、肝臓及び胆汁中ジルコプラン及び代謝物の定量　被験物質：ジルコプラン

試験番号	TR-0129
試験情報	反復皮下投与（20076807）をしたときのカニクイザル血漿、肝臓及び胆汁中ジルコプラン及び代謝物の定量
動物種	カニクイザル
性別／動物数	主試験：雄性 3 例、雌性 3 例　回復期：雄性 2 例、雌性 2 例
摂餌条件	摂食
溶媒／投与形態	リン酸緩衝生理食塩水
投与方法	皮下
投与量（mg/kg/day）	0、0.25、1、2 及び 10（13 週間）
分析対象物質	ジルコプラン、RA102758 及び RA103488
アッセイ	LC-MS/MS

PK パラメータ平均値（91 日目）

分析対象物質	PK パラメータ	0.25mg/kg	1mg/kg	2mg/kg	10mg/kg
ジルコプラン	$AUC_{0\text{-}24h}$（μg·h/mL）	122	284	573	3270
	C_{max}（μg/mL）	6.15	15.8	34.0	167
RA102758	$AUC_{0\text{-}24h}$（μg·h/mL）	9.90	42.8	120	1040
	C_{max}（μg/mL）	0.450	2.01	5.79	49.3
	RA102758／未変化体の $AUC_{0\text{-}24h}$ 平均値比（%）	8.11	15.1	20.9	31.8
RA103488[a]	$AUC_{0\text{-}24h}$（μg·h/mL）	22.4	NM	NM	178
	C_{max}（μg/mL）	1.05	NM	NM	8.71
	RA103488／未変化体の $AUC_{0\text{-}24h}$ 平均値比（%）	18.4	NM	NM	5.44

BQL=定量下限未満（計算では0とみなす）、LC-MS/MS=液体クロマトグラフィータンデム質量分析、NM=測定せず

[a] RA103488の組織中濃度は、0.25及び10mg/kg投与群でのみ測定した

表 10-3　ラットにおける *in vivo* 代謝

被験物質：ジルコプラン

試験番号	17560
動物種	ラット
性別／動物数	投与後の各尿及び糞サンプリング時間に雄性 3 例（16863）、投与後の各血液サンプリング時間に雄性 1 例（16863）、投与後の各組織サンプリング時間に雄性 5 例（17674）
摂餌条件	摂食
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝生理食塩水
投与方法	皮下
投与量（mg/kg）	6［^{14}C-ジルコプラン 6mg/kg（90μCi/kg）を単回皮下投与］
分析方法	放射能測定器付き LC-MS

表 10-3　ラットにおける *in vivo* 代謝

被験物質：ジルコプラン

化合物	修飾	0-168h 血漿	0-96h 尿 [a]	0-96h 糞 [b]	0-96h 尿及び糞	24h 肝臓	168h 肝臓 [c]
		% AUC[d]	% Dose	% Dose	% Dose	% Radioactivity	% Radioactivity
ジルコプラン	未変化体	59.45	0.13	1.79	1.92	NA	NA
RA102758	加水分解	20.93	3.32	6.86	10.18	NA	NA
パルミチン酸	加水分解	1.31	ND	1.22	1.22	2.29	8.61
トリパルミチン酸グリセリル	加水分解／グリセロールとのエステル化	NA	NA	NA	NA	11.42	17.52

※調整中

表 10-3　ラットにおける *in vivo* 代謝

被験物質：ジルコプラン

化合物	修飾	0-168h 血漿	0-96h 尿 [a]	0-96h 糞 [b]	0-96h 尿及び糞	24h 肝臓	168h 肝臓 [c]
		% AUC[d]	% Dose	% Dose	% Dose	% Radioactivity	% Radioactivity
M1657/1	RA102758 の単酸化	2.48	2.79	1.27	4.06	NA	NA
M1796/1	加水分解／単酸化	ND				NA	NA
M1712/1	RA102758 のアラニン抱合	ND	0.17	1.11	1.28	NA	NA
M2169/1	加水分解	5.59				NA	NA
合計		89.76	6.41	12.25	18.66	13.71	26.13

追記：未変化体に加えて、[^{14}C]ジルコプランの 6mg/kg（90μCi/kg）を単回皮下投与したラットの種々のマトリックスの放射能ピークと一致する 7 種類の代謝物が検出された。未変化体は主要な循環血中成分の 1 つであり、血漿中総放射能 $AUC_{0\text{-}168h}$ の約 59.45%を占めていた。RA102758 は 0～96 時間のラット排泄試料中で最も多量の代謝物であり、尿中に投与量の 3.32%及び糞中に投与量の 6.86%存在した。肝組織中放射能の大部分を占める肝抽出物のヘキサン分画は、TLC を用いて対照標準物質を参照することにより特徴づけられた。トリパルミチン酸グリセリルは、24 及び 168 時間の肝臓中総放射能のそれぞれ 11.42%及び 17.52%を占めていた。肝臓中放射性成分は、アルカリ加水分解した 24 時間肝試料中にパルミチン酸のみが観察されたことから、全てがパルミチン酸由来であることが判明した。

結論として、ラットに皮下投与したとき代謝がジルコプランの消失の主要な役割を果たした。関係する主要代謝経路は、加水分解、単酸化、アラニン抱合及びグリセロール又は他の内在性成分とのエステル化である。

LC-MS=液体クロマトグラフィー質量分析、ND=未検出、NA=該当なし、TLC=薄層クロマトグラフィー

[a] 投与量の8.29%

[b] 投与量の16.7%

[c] TLCの放射能プロファイルからの肝試料中放射能分布。672時間肝試料の分布は放射能濃度が低いため定量できなかった

[d] $AUC_{0\text{-}168h}$の総放射能濃度率（%）

表 10-4　サル血漿中ジルコプランの代謝プロファイル　被験物質：ジルコプラン

試験番号	17649
動物種	サル
試料	血漿プール：投与前 雌雄各 1 例、56 日目投与後 8 時間 雌性 1 例、91 日目投与後 24 時間 雌雄各 1 例（20076807）
摂餌条件	摂食
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝生理食塩水
投与方法	皮下
投与量（mg/kg）	10
分析方法	LC-HRMS

表 10-4　サル血漿中ジルコプランの代謝プロファイル　被験物質：ジルコプラン

化合物	荷電状態（+3）		荷電状態（+4）	
	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）[a]	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）[a]
ジルコプラン	6,131,849,071	8.00	12,530,510,344	61.94
RA102758	49,256,673,492	64.27	1,929,695,970	9.54
RA103488	1,481,297,507	1.93	3,556,716,781	17.58
RA103056	225,892,076	0.29	779,733,145	3.85
RA106009	362,139,885	0.47	695,493,501	3.44
M1657/1	15,083,882,545	19.68	274,424,972	1.36
M1780/1	1,141,008,179	1.49	79,776,265	0.39

表 10-4　サル血漿中ジルコプランの代謝プロファイル

被験物質：ジルコプラン

化合物	荷電状態（+3）		荷電状態（+4）	
	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）[a]	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）[a]
M1796/1	655,537,864	0.86	27,957,700	0.14
M2040/1	232,956,078	0.30	28,647,739	0.14
M2169/1	1,800,516,547	2.35	234,341,616	1.16
M2356/1	271,790,246	0.35	93,621,879	0.46
Total	76,643,543,490	100.00	20,230,919,912	100.00

LC-HRMS=液体クロマトグラフィー高分解能質量分析

[a]　パルミチン酸は負イオンモードで検出し、相対存在量は算出しなかった

※調整中

表 10-5　ヒト血漿中ジルコプランの代謝プロファイル

被験物質：ジルコプラン

試験番号	18512
動物種	ヒト
試料	代謝プロファイル検討のため、12 週目の被験者 7 例から投与後 24 時間の血漿試料を採取しプールした。1 日目の投与前血漿試料を対照試料としてプールした（Clinical Study PNH002）
摂餌条件	摂食
溶媒／投与形態	塩化ナトリウム含有リン酸ナトリウム緩衝液
投与方法	皮下
投与量（mg/kg）	0.3
分析方法	LC-HRMS

LC-HRMS=液体クロマトグラフィー高分解能質量分析

表 10-5　ヒト血漿中ジルコプランの代謝プロファイル

被験物質：ジルコプラン

化合物	荷電状態（+2）		荷電状態（+3）		荷電状態（+4）	
	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）[a]	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）[a]	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）[a]
ジルコプラン	95,895,621	3.50	645,352,122	10.3	1,390,997,859	66.2
RA102758	1,880,710,456	68.6	3,706,356,645	59.3	182,407,827	8.69
RA103488	17,768,818	0.65	172,468,265	2.76	410,351,777	19.5
RA103056	ND	NA	5,392,474	0.09	33,086,031	1.58
M1222/1	1,082,845	0.04	ND	NA	ND	NA
M1274/1	33,267,476	1.21	78,121,861	1.25	ND	NA

※調整中

表 10-5　ヒト血漿中ジルコプランの代謝プロファイル

被験物質：ジルコプラン

化合物	荷電状態（+2）		荷電状態（+3）		荷電状態（+4）	
	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）[a]	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）[a]	HRMS ピーク面積	HRMS 総面積に対する比率（%）[a]
M1409/1	804,723	0.03	144,883	0.00	ND	NA
M1513/1	4,917,113	0.18	2,613,195	0.04	ND	NA
M1538/1	4,416,377	0.16	1,478,830	0.02	ND	NA
M1657/1	551,990,914	20.1	1,294,847,964	20.7	21,798,193	1.04
M1701/1	100,950,219	3.68	40,997,677	0.66	ND	NA
M1780/1	12,428,728	0.45	42,770,869	0.68	2,729,694	0.13
M1796/1	14,243,730	0.52	57,054,163	0.91	1,386,559	0.07
M1877/1	16,760,738	0.61	107,630,798	1.72	19,102,856	0.91
M2040/1	ND	NA	6,355,204	0.10	441,037	0.02
M2169/1	5,266,614	0.19	50,377,737	0.81	5,187,378	0.25
M2356/1	ND	NA	24,178,662	0.39	4,865,586	0.23
M3194/1	ND	NA	19,065,678	0.30	27,511,823	1.31
Total	2,740,504,372	100	6,255,207,027	100	2,099,866,620	100
追記：RA106009 はヒト血漿中に検出されなかった。						

LC-HRMS=液体クロマトグラフィー高分解能質量分析、NA=該当なし、ND=未検出

[a]　パルミチン酸は負イオンモードで検出し、相対存在量は算出しなかった

※調整中

表 10-6　*In vivo* 代謝：M1657 の構造

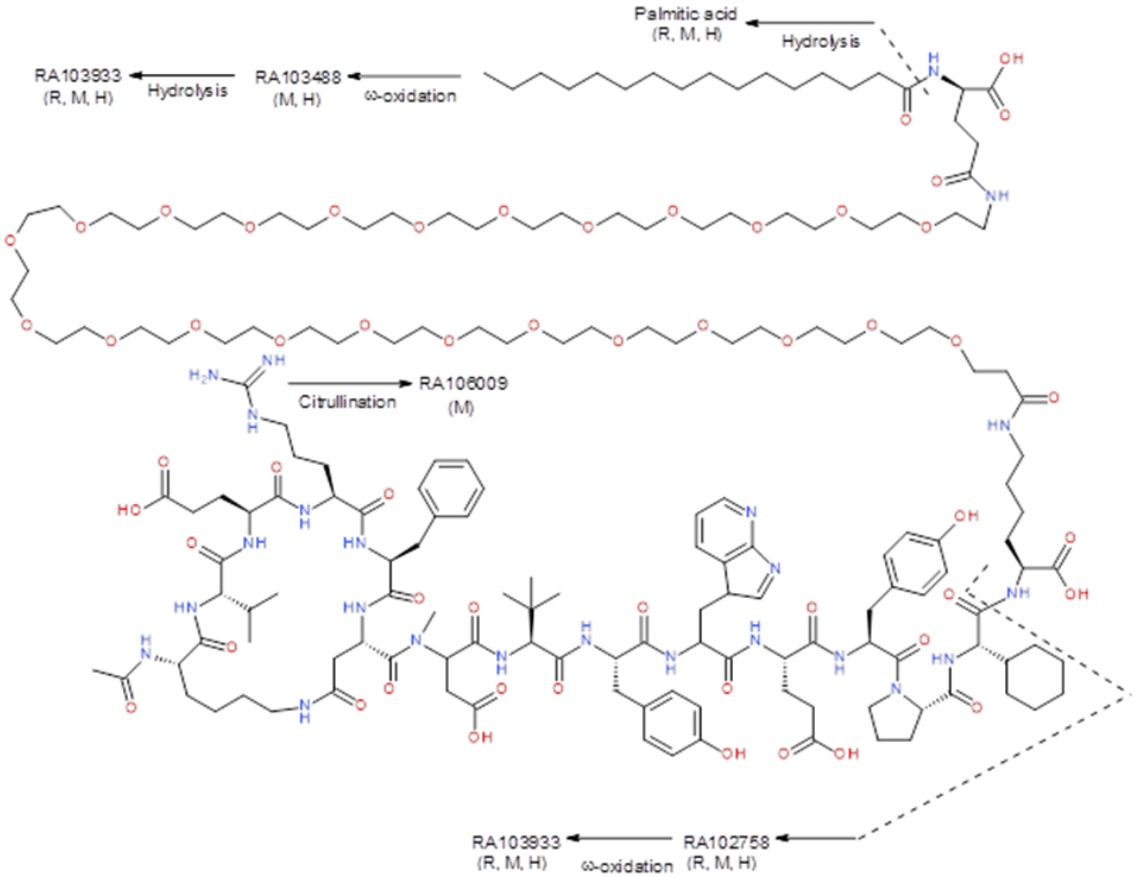
被験物質：RA103933

試験番号	NCD-TR-001
試験情報	ラット血漿、尿及び糞（17560）、サル（17649）及びヒト（18512）血漿中の共通の代謝物である M1657 の構造決定を行った。
試験系	ラット血漿、尿及び糞、サル及びヒト血漿の代謝プロファイリングで使用した HPLC-MS 条件と類似した方法を RA103933 標準品の分析に適用した。
結果の要約	HPLC 保持時間、HRMS データ及び MS/MS スペクトルの比較によって、代謝物 M1657 は RA102758 の ω-酸化物である RA103933 と同定された。

HPLC-MS=高速液体クロマトグラフィー質量分析、HRMS=高分解能質量分析、MS/MS=タンデム質量分析

11. 薬物動態試験：推定代謝経路

被験物質：ジルコプラン



R: Rat, M: Monkey; H: Human

※調整中

12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

表 12-1　ヒト CYP アイソザイム阻害　被験物質：ジルコプラン、RA102758

試験番号	TR-0102、18RAPHP3 及び 20RAPHP3					
試験情報	*In vitro* におけるジルコプラン又は RA102758 のヒトシトクロム P450（CYP）酵素への潜在的阻害能					
試験系	ヒト肝ミクロソームを用いてジルコプラン又は RA102758 の CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、3A 及び 4F に対する潜在的阻害効果を 100μM までの濃度で評価した。潜在的阻害能評価に使用したプローブ基質は、フェナセチン（CYP1A2）、ブプロピオン（CYP2B6）、アモジアキン（CYP2C8）、ジクロフェナク（CYP2C9）、S-メフェニトイン（CYP2C19）、ブフラロール（CYP2D6）、テストステロン及びミダゾラム（CYP3A）及びロイコトリエン B4（CYP4F）である。					
酵素	ジルコプラン（TR-0102、18RAPHP3 及び 20RAPHP3）			RA102758（20RAPHP3）		
	可逆的阻害	時間依存的阻害		可逆的阻害	時間依存的阻害	
	プレインキュベーション 0 分	NADPH 非存在下プレインキュベーション 30 分	NADPH 存在下プレインキュベーション 30 分	プレインキュベーション 0 分	NADPH 非存在下プレインキュベーション 30 分	NADPH 存在下プレインキュベーション 30 分
	IC_{50}（μM）	IC_{50}（μM）	IC_{50}（μM）	IC_{50}（μM）	IC_{50}（μM）	IC_{50}（μM）
CYP1A2	79	41.7	34.0	66.6	65.1	60.0
CYP2B6	94	37.4	31.3	57.1	52.8	47.6
CYP2C8	>100	>100	80.7	62.3	86.7	67.3
CYP2C9	阻害なし	>100	>100	>100	>100	>100
CYP2C19	阻害なし	>100	>100	>100	>100	>100
CYP2D6	>100	>100	88.6	84.3	77.2	78.1
CYP3A（ミダゾラム）	88	55.5	53.7	55.8	52.8	53.1

※調整中

表 12-1　ヒト CYP アイソザイム阻害　被験物質：ジルコプラン、RA102758

酵素	ジルコプラン（TR-0102、18RAPHP3 及び 20RAPHP3）			RA102758（20RAPHP3）		
	可逆的阻害	時間依存的阻害		可逆的阻害	時間依存的阻害	
	プレインキュベーション 0 分	NADPH 非存在下プレインキュベーション 30 分	NADPH 存在下プレインキュベーション 30 分	プレインキュベーション 0 分	NADPH 非存在下プレインキュベーション 30 分	NADPH 存在下プレインキュベーション 30 分
	IC_{50}（μM）	IC_{50}（μM）	IC_{50}（μM）	IC_{50}（μM）	IC_{50}（μM）	IC_{50}（μM）
CYP3A（テストステロン）	>100	76.0	59.0	62.7	62.3	63.7
CYP4F	>100	評価せず	評価せず	>100	評価せず	評価せず

CYP=シトクロムP450、IC_{50}=50%阻害濃度

※調整中

表 12-2　UGT 阻害

被験物質：ジルコプラン

試験番号	TR-0102						
試験情報	*In vitro* におけるジルコプランのヒト主要 UGT 酵素阻害剤としての評価						
試験系	プローブ基質及びウリジン5’-二リン酸グルクロン酸存在下、1A1、1A3、1A4、1A6、1A9、2B7及び2B15を含む遺伝子組換え型ヒトUGT酵素に対するジルコプラン（最大100μM）の潜在的阻害効果を評価した。潜在的阻害を評価するために使用したプローブ基質として、UGT1A1、1A3、1A6、1A9、2B7及び2B15では7-ヒドロキシ-4-トリフルオロメチルクマリン、UGT1A4ではトリフルオペラジンを用いた。						
酵素	UGT1A1	UGT1A3	UGT1A4	UGT1A6	UGT1A9	UGT2B7	UGT2B15
IC_{50}（μM）	12	48	>100	>100	>100	>100	>100

IC_{50}=50%阻害濃度、UGT=ウリジン5’-二リン酸グルクロン酸転移酵素

※調整中

表 12-3　ヒト CYP アイソザイム誘導

被験物質：ジルコプラン

試験番号	20RAPHP5R3（CYP1A2、2B6 及び 3A4）
試験情報	*In vitro* において、ドナー3 例より得られた凍結保存ヒト初代肝細胞を用いてジルコプランがヒトシトクロム P450（CYP）酵素を誘導する可能性の評価を行った。
試験系	培養ヒト肝細胞を溶媒対照、フルマゼニル（10μM、陰性対照）、ジルコプラン、又は CYP 酵素誘導剤を添加し 3 日間培養した（1 日 1 回被験物質を含む培地を交換）。CYP 酵素誘導剤として CYP1A2 に対してオメプラゾール（50μM）、CYP2B6 に対してフェノバルビタール（1000μM）、CYP3A4 に対してリファンピン（50μM）を用いた。インキュベーション後、CYP の mRNA レベルを qPCR アッセイで評価した。細胞毒性は 20μM までの濃度で検討した。

ドナー[a]	ジルコプラン濃度（μM）	1A2		2B6		3A4	
		変化倍率平均値	陽性対照に対する割合（%）[b]	変化倍率平均値	陽性対照に対する割合（%）[b]	変化倍率平均値	陽性対照に対する割合（%）[b]
1	2	0.437	0	1.55	4.57	0.335	0
	6	0.363	0	1.70	5.85	1.63	0.402
	20	0.333	0	1.52	4.38	1.02	0.0120
2	2	0.781	0	0.996	0	2.07[c]	0.395
	6	0.686	0	0.387	0	1.25	0.0211
	20	0.642	0	1.19	0.619	0.451	0
3	2	0.374	0	0.444	0	0.368	0
	6	0.376	0	0.403	0	0.0221	0
	20	0.338	0	0.793	0	0.0332	0

追記：ジルコプランは20μMまで細胞毒性を示さなかった。ジルコプラン濃度は、ヒト肝細胞への24時間曝露後、ドナー3例の肝細胞で0～52.2%の範囲で減少した。

CYP=シトクロムP450、qPCR=定量的ポリメラーゼ連鎖反応

[a] 肝細胞は異なるドナーに由来する

[b] 陽性誘導剤処理細胞と比較したmRNAの倍率変化割合（%）。負値は0として取り扱った

[c] 陰性対照はCYP3A4のmRNA量の3.41倍の変化を示した

※調整中

13. 薬物動態試験：排泄

表 13-1 ラットにおけるマスバランス

被験物質：ジルコプラン

試験番号	16863
試験情報	[^{14}C]ジルコプランを Long-Evans ラットに単回皮下投与したときのマスバランス
動物種	Long-Evans ラット
性別／動物数	雄性 3 例
摂餌条件	摂食
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝生理食塩水
投与方法	皮下
投与量（mg/kg）	6
放射性核種	^{14}C（標識位置：パルミトイル側鎖）
比放射能	32.6μCi/mL（投与溶液中）
分析対象物質	放射活性
アッセイ	液体シンチレーションカウンター（LSC）
サンプリング時間	尿の 1 日目のサンプリング時間（0～8 時間及び 8～24 時間）以外は、すべてのサンプルで投与後 168 時間まで 24 時間間隔

表 13-1　ラットにおけるマスバランス

間隔	平均投与量比（%）					
	尿		糞		ケージ洗浄液	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
0-8h	0.66	0.17	NA	NA	NA	NA
0-24h	4.48	0.23	8.24	0.53	1.03	0.43
0-48h	6.96	0.44	14.27	0.76	1.70	0.68
0-72h	7.94	0.46	16.02	0.69	1.98	0.75
0-96h	8.29	0.48	16.70	0.67	2.16	0.80
0-120h	8.44	0.49	17.04	0.68	2.21	0.82
0-144h	8.53	0.49	17.23	0.69	2.27	0.84
0-168h	8.59	0.50	17.35	0.71	2.94	0.93
追記：[^{14}C]ジルコプラン由来放射能の 28.88%が 168 時間までに排泄され、放射能の主要排泄経路は糞中であった。						

Mean=平均値、NA=該当なし、SD=標準偏差

※調整中

表 13-2　ラットにおけるマスバランス

被験物質：ジルコプラン

試験番号	C18038
試験情報	[^{14}C]ジルコプランを Long-Evans ラットに単回皮下投与したときのマスバランス
動物種	Long-Evans ラット
性別／動物数	雄性 3 例
摂餌条件	摂食
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝生理食塩水
投与方法	皮下
投与量（mg/kg）	6
放射性核種	^{14}C（標識位置：末端リジン残基標識）
比放射能	27.1μCi/mL（投与溶液中）
分析対象物質	放射活性
アッセイ	液体シンチレーションカウンター（LSC）
サンプリング時間	尿の 1 日目のサンプリング時間（0～8 時間及び 8～24 時間）以外は、すべてのサンプルで投与後 288 時間まで 24 時間間隔

表 13-2　ラットにおけるマスバランス

間隔	平均投与量比（%）					
	尿		糞		ケージ洗浄液	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
0-8h	5.94	0.48	NA	NA	NA	NA
0-24h	17.97	2.06	5.05	0.73	3.12	0.51
0-48h	25.88	2.97	10.13	0.80	4.73	0.89
0-72h	31.63	3.75	12.34	0.85	5.92	1.06
0-96h	36.27	3.91	13.56	0.76	6.74	1.09
0-120h	39.23	3.62	14.39	0.86	7.22	1.10
0-144h	41.70	3.86	14.94	0.93	7.87	1.16
0-168h	43.53	3.91	15.32	1.00	8.41	1.27
0-192h	45.11	3.91	15.61	1.02	8.80	1.26
0-216h	46.31	3.95	15.87	1.05	9.02	1.29
0-240h	47.29	3.90	16.11	1.06	9.18	1.31
0-264h	48.09	3.95	16.28	1.08	9.41	1.37
0-288h	48.83	3.92	16.46	1.10	11.33	1.60
追記：[^{14}C]ジルコプラン由来放射能の 76.62%が 288 時間までに排泄され、放射能の主要排泄経路は尿中であった。						

Mean=平均値、NA=該当なし、SD=標準偏差

※調整中

14. 薬物動態試験：胆汁中排泄

表 14-1　サルにおける胆汁及び尿中排泄

被験物質：ジルコプラン

試験番号	TR-0126（8323966）
試験情報	胆管カニュレーションを施したサルに単回静脈内投与したときのジルコプラン及び RA102758 の胆汁及び尿中排泄
動物種	カニクイザル
性別／動物数	雄性 2 例
摂餌条件	摂食
溶媒／投与形態	リン酸緩衝生理食塩水
投与方法	静脈内
投与量（mg/kg）	3
分析対象物質	ジルコプラン及び RA102758
アッセイ	LC-MS/MS

血漿

分析対象物質	C_{max} (μg/mL)	t_{max} (h)	AUC_{0-t} (μg·h/mL)	AUC_{inf} (μg·h/mL)	$t_{½}$ (h)	CL (mL/h/kg)	V_{ss} (mL/kg)	AUC_{0-t}の代謝物／未変化体比率
ジルコプラン	64.6	0.250	1060	1160	64.9	2.59	147	NA
RA102758	1.32	24.0	115	122	33.5	NA	NA	0.110[a]

分析対象物質	胆汁		尿	
	総排泄量（mg）	投与量比（%）	総排泄量（mg）	投与量比（%）
ジルコプラン	0.0116	0.0850	0.00	0.00
RA102758	0.240	3.86[b]	0.139	2.24[b]

追記：サル糞中ジルコプラン又は RA102758 濃度は定量下限を下回っていた。

※調整中

LC-MS/MS=液体クロマトグラフィータンデム質量分析、NA=該当なし

[a] 分子量補正した場合の未変化体に対する代謝物の割合は0.239である

[b] 投与量に対する排泄量（%）=分子量補正した総排泄量／投与量

※調整中

15. 薬物動態試験：薬物相互作用

表 15-1　ヒト主要代謝物との相互作用

被験物質：ジルコプラン、RA102758

トランスポーター	ジルコプラン（TR-0100、TR-0101、TR-0145 及び RaPharma-12-23Jan2018）		RA102758（TR-0145 及び RaPharma-16-22Aug2019）	
	基質	IC_{50}（μM）	基質	IC_{50}（μM）
MRP3	No	0.51	評価せず	評価せず
MATE1	評価せず	阻害なし[a]	評価せず	10.82
MATE2-K	評価せず	阻害なし[a]	評価せず	阻害なし[b]
NTCP	評価せず	阻害なし[a]	評価せず	評価せず
OATP1B1	No	2.36（30 分間プレインキュベーション）	No	3.97（30 分間プレインキュベーション）
OATP1B3	No	2.12（30 分間プレインキュベーション）	No	6.58（30 分間プレインキュベーション）
OAT1	評価せず	>50	評価せず	>50
OAT3	評価せず	阻害なし[a]	評価せず	>50
OCT1	評価せず	>50	評価せず	12.49
OCT2	評価せず	阻害なし[a]	評価せず	>50
追記：双方向透過性測定において、RA103488 は基底膜から頂側膜方向及び頂側膜から基底膜方向で類似の透過性を示し P-gp 又は BCRP の基質でないことが示された（TR-0145）。また、*in vitro* においてジルコプランのラット及びサルトランスポーター阻害能も試験した（TR-0101）。				

BCRP=乳がん耐性たん白質、BSEP=胆汁酸排泄ポンプ、Caco=ヒト結腸癌由来細胞、CCK-8=コレシストキニンオクタペプチド、CHO=チャイニーズハムスター卵巣、$E_2$17βG=エストラジオール-17β-グルクロニド、E3S=3-硫酸エストロン、HEK293=ヒト胎児由来腎臓（細胞）、IC_{50}=50%阻害濃度、MATE=多剤排出輸送体、MDCK=イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来、MDR=多剤耐性、MRP=多剤耐性関連たん白質、NMQ=N-メチルキニジン、NTCP=Na+タウロコール酸共輸送ポリペプチド、OAT=有機アニオントランスポーター、OATP=有機アニオン輸送ポリペプチド、OTC=有機カチオントランスポーター、PAH=4-アミノ場尿酸、P-gp=P-糖たん白質、Sf9=ツマジロクサヨトウ

[a], [b]　ジルコプランは50μM、RA102758は40μMの最高濃度で阻害は観察されなかった

※調整中

表 15-2　シクロスポリンとの薬物相互作用

被験物質：ジルコプラン

試験番号	TR-0135					
試験情報	ジルコプランとシクロスポリン A（CsA）との薬物相互作用の評価					
動物種	カニクイザル					
性別／動物数	雄性 2 例					
摂餌条件	摂食					
溶媒／投与形態	ジルコプラン：50mM リン酸緩衝生理食塩水（pH 7.0）；　CsA：Sandimmune Injection (Novartis)					
投与方法	皮下					
投与量（mg/kg）	ジルコプラン：2mg/kg を 4、18 及び 36 日目に投与；　CsA：15mg/kg を 1、4、33 及び 36 日目に投与					
分析対象物質	ジルコプラン及び CsA					
アッセイ	LC-MS/MS					
PK パラメータ平均値						
ジルコプラン	C_{max} (ng/mL)		AUC_{inf} (ng·h/mL)		Ratio (Zilu + CsA)/Zilu	
	Zilu	Zilu + CsA	Zilu	Zilu + CsA	C_{max}	AUC_{inf}
	15,200	11,800	782,000	838,000	0.809	1.07
CsA	C_{max} (ng/mL)		AUC_{inf} (ng·h/mL)		Ratio (Zilu + CsA)/CsA	
	CsA	Zilu + CsA	CsA	Zilu + CsA	C_{max}	AUC_{inf}
	323	500	8110	10,100	1.54	1.25
追記：CsA 及びジルコプランの併用投与は忍容性が良好であり、血清学的パラメータに明確な影響はなかった。						

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、CsA=シクロスポリンA、LC-MS/MS=液体クロマトグラフィータンデム質量分析、Zilu=ジルコプラン

※調整中

表 15-3　胎児性 Fc 受容体阻害剤との薬物相互作用

被験物質：ジルコプラン

試験番号	20167109					
試験情報	サルにおけるジルコプランの PK に対する胎児性 Fc 受容体阻害剤の影響の評価					
動物種	カニクイザル					
性別／動物数	雄性 3 例／群					
摂餌条件	摂食					
溶媒／投与形態	ジルコプラン：リン酸緩衝生理食塩水 DX-2507：クエン酸、NaCl、トレハロース及びTween-80					
投与方法	皮下					
投与量（mg/kg）	ジルコプラン：2mg/kg DX-2507：20mg/kg					
分析対象物質	ジルコプラン					
アッセイ	LC-MS/MS					
PK パラメータ平均値						
ジルコプラン	C_{max} (ng/mL)		AUC_{last} (ng·h/mL)		AUC_{inf} (ng·h/mL)	
	Zilu	Zilu + DX-2507	Zilu	Zilu + DX-2507	Zilu	Zilu + DX-2507
	24,300	24,200	974,000	1,160,000	1,000,000	1,210,000
追記：免疫グロブリン G（IgG）濃度は DX-2507 投与後有意に低値となり、DX-2507 による薬理作用が確認された。DX-2507 及びジルコプランの併用は忍容性が高く、被験薬に関連する臨床所見はみられなかった。						

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、LC-MS/MS=液体クロマトグラフィータンデム質量分析、Zilu=ジルコプラン

※調整中

16.　薬物動態試験：その他

表 16-1　ジルコプラン単回投与後の薬物動態及び薬力学

被験物質：ジルコプラン

試験番号	ECP-136		
試験情報	雄性サルにおける血漿、脳及び脳脊髄液中の薬物動態特性の評価		
動物種	カニクイザル		
性別／動物数	雄性 4 例		
摂餌条件	絶食		
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝液（pH 7.4）		
投与方法	皮下		
投与量（mg/kg）	1		
分析対象物質	ジルコプラン		
アッセイ	HPLC-MS/MS（多重反応モニタリングモード）		
PK パラメータ（平均値±標準誤差）			
	透析液	血漿	脳脊髄液
C_{max} (ng/mL)	241.04±59.24	18,625.00±2123.04	74.60
t_{max} (h)	3	2	2
動物数	4	4	1

C_{max}=最高血漿中濃度、HPLC-MS/MS=高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析

※調整中

表 16-2　ジルコプラン反復投与後の薬物動態及び薬力学

被験物質：ジルコプラン

試験番号	C5-EXPK-2019-0002
試験情報	ジルコプラン反復皮下投与時のサル脳脊髄液中薬物動態及び薬力学の評価
動物種	カニクイザル
性別／動物数	雄性 3 例
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝液、76mM NaCl（pH 7.0）
投与方法	皮下
投与量（mg/kg）	1（6 日間）
分析対象物質	ジルコプラン
アッセイ	LC-MS/MS

動物 ID	時間（day）	血漿 (ng/mL)				脳脊髄液 (ng/mL)
		ジルコプラン	RA102758	RA103488	RA106009	ジルコプラン
1001	0	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
1001	0.083	9360	18.6	95.3	BQL	11.2
1001	3	6560	799	1670	72.7	29.2
1001	5.083	17,500	1340	2780	104	22.7
1001	8	4650	1140	2290	42.5	10.9
1001	10	2710	417	1960	12	BQL
1002	0	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
1002	0.083	10,800	28.5	142	85.2	BQL
1002	3	4950	772	1490	272	BQL
1002	5.083	16,400	1300	2400	146	BQL
1002	8	3840	1030	2230	62	BQL

※調整中

表 16-2　ジルコプラン反復投与後の薬物動態及び薬力学

被験物質：ジルコプラン

試験番号	C5-EXPK-2019-0002
試験情報	ジルコプラン反復皮下投与時のサル脳脊髄液中薬物動態及び薬力学の評価
動物種	カニクイザル
性別／動物数	雄性 3 例
溶媒／投与形態	50mM リン酸緩衝液、76mM NaCl（pH 7.0）
投与方法	皮下
投与量（mg/kg）	1（6 日間）
分析対象物質	ジルコプラン
アッセイ	LC-MS/MS

動物 ID	時間（day）	血漿 (ng/mL)				脳脊髄液 (ng/mL)
		ジルコプラン	RA102758	RA103488	RA106009	ジルコプラン
1002	10	2080	302	1440	22.7	BQL
11003	0	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
11003	0.083	8600	19	107	26.6	BQL
11003	3	8120	836	1840	71.4	23
11003	5.083	17,600	1590	3190	154	29.9
11003	8	7080	1570	3850	68.3	29.9
11003	10	3990	781	2950	29.8	10.9

追記：代謝物 RA102758、RA103488 及び RA106009 の濃度は、脳脊髄液中ではいずれの測定時点においても定量不可能であった。脳脊髄液中の補体 C5 濃度とジルコプランとの明確な関係は、サンプル数が少なく確認できなかった。一部の血漿サンプルでは、補体活性阻害作用を評価した。すべての動物で、投与開始後 8 日間まで 90%を超える溶血阻害が認められた。溶血阻害作用は投与開始後 10 日目に低下したが、それでも平均阻害率は 75%を超えていた（溶血率として 22.2%）。

BQL=定量下限未満、LC-MS/MS=液体クロマトグラフィータンデム質量分析

重要な GLP 試験の一部として実施されたトキシコキネティクス試験を含むその他の PK 試験は、M2.6.6.3 項に記述する。

※調整中