ロナファルニブに関する資料

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

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

アンジェス株式会社

目次

略語一覧表 5
2.6.4 薬物動態試験の概要文 7
2.6.4.1 まとめ 7
2.6.4.2 分析法 13
2.6.4.2.1 投与液中のロナファルニブの測定 13
2.6.4.2.2 生体試料中のロナファルニブの測定 14
2.6.4.3 吸収 17
2.6.4.3.1 *In vitro* 透過性 17
2.6.4.3.2 単回投与 17
2.6.4.3.3 反復投与 20
2.6.4.4 分布 25
2.6.4.4.1 血漿タンパク結合率 25
2.6.4.4.2 組織分布 26
2.6.4.5 胎盤通過試験 29
2.6.4.5.1 妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の胎盤通過試験 29
2.6.4.6 代謝 31
2.6.4.6.1 *In vitro* 代謝試験 31
2.6.4.6.2 *In vivo* 代謝試験 36
2.6.4.6.3 薬物代謝酵素の誘導及び阻害 41
2.6.4.7 排泄 45
2.6.4.7.1 ラットにおける排泄試験 45
2.6.4.7.2 サルにおける排泄試験 46
2.6.4.7.3 授乳ラットにおける乳汁排泄 47
2.6.4.8 薬物動態学的薬物相互作用 47
2.6.4.8.1 ヒトトランスポーターに対する阻害評価 47
2.6.4.8.2 ヒトトランスポーターに対する基質評価 49
2.6.4.9 考察及び結論 50
2.6.4.10 図表 53
2.6.4.11 参考文献一覧 53

表一覧

表 2.6.4.1-1 ロナファルニブの吸収、分布、代謝及び排泄に関する試験の概要 11
表 2.6.4.2-1 ロナファルニブの投与液の分析法 14
表 2.6.4.2-2 血漿中ロナファルニブ測定法 16
表 2.6.4.3-1 ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の血漿中放射能濃度の PK パラメータ 18
表 2.6.4.3-2 妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の血漿中及び血中放射能濃度の PK パラメータ 19
表 2.6.4.3-3 サルにおけるロナファルニブ経口及び静脈内投与後の血漿中ロナファルニブ濃度の PK パラメータ 19
表 2.6.4.3-4 サルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の血漿中放射能濃度の PK パラメータ 20
表 2.6.4.3-5 ラット 3 箇月間反復経口投与毒性試験の血漿中ロナファルニブ濃度の TK パラメータ. 21
表 2.6.4.3-6 ラット 6 箇月間反復経口投与試験における血漿中ロナファルニブ濃度の TK パラメータ 22
表 2.6.4.3-7 ウサギ胚・胎児発生に関する試験における血漿中ロナファルニブ濃度の TK パラメータ 22
表 2.6.4.3-8 サル 3 箇月間反復経口投与試験における血漿中ロナファルニブ濃度の TK パラメータ 23
表 2.6.4.3-9 サル 1 年間反復経口投与試験における血漿中ロナファルニブ濃度の TK パラメータ 24
表 2.6.4.4-1 [^{14}C]-ロナファルニブの血漿タンパク結合率 25
表 2.6.4.4-2 ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の主要組織中放射能濃度 27
表 2.6.4.4-3 カニクイザルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の組織中放射濃度 28
表 2.6.4.5-1 妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の母動物及び胎児の主要組織中放射能濃度－放射能分析 30
表 2.6.4.5-2 妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の母動物及び胎児の主要組織中放射能濃度－全身オートラジオグラフィー 31
表 2.6.4.6-1 マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞とのインキュベーション後の[^{14}C]-ロナファルニブの代謝物 33
表 2.6.4.6-2 ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP450 supersome と共にインキュベートした時のロナファルニブ代謝物 36
表 2.6.4.6-3 ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の胆汁中代謝物 39
表 2.6.4.6-4 ロナファルニブによる CYP mRNA 及び酵素活性の誘導 42
表 2.6.4.6-5 ヒト肝ミクロソームにおけるロナファルニブによる CYP 活性の阻害 43
表 2.6.4.6-6 ヒト肝ミクロソームにおけるロナファルニブによる CYP 活性の阻害 44
表 2.6.4.7-1 授乳ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の血漿及び乳汁中放射能濃度 47

表 2.6.4.8-1 ロナファルニブによるヒトトランスポーター阻害 49

図一覧

図 2.6.4.2-1 [^{14}C]-ロナファルニブの構造 14
図 2.6.4.6-1 ロナファルニブの側鎖ピペリジン環 32
図 2.6.4.6-2 ロナファルニブ代謝物の構造 34
図 2.6.4.6-3 ロナファルニブのラットにおける生体内推定代謝経路 38
図 2.6.4.6-4 ロナファルニブのサルにおける生体内推定代謝経路 40

略語一覧表

略語／用語	定義	日本語
AAG	Alpha1-acid glycoprotein	α_1酸性糖タンパク質
ADME	Absorption, distribution, metabolism, excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
AUC_{last}	Area under the concentration versus time curve from time zero until the last time-point measured	投与後 0 時間から最終測定時点までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area under the concentration versus time curve from time zero over the dosing interval t (h)	投与後 0 時間から投与間隔時間 t までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BID	Twice daily	1 日 2 回
BSEP	Bile sale export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
C2BBe1	Caco-2 brushed border expressing 1	Caco-2 brushed border expressing 1
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P	シトクロム P
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
F（%）	Absolute bioavailability	絶対的バイオアベイラビリティ
FPT	Farnesyl protein transferase	ファルネシルプロテイントランスフェラーゼ
FTI	Farnesyl transferase inhibitor	ファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬
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
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HPLC-UV	High performance liquid chromatography with ultraviolet detection	UV 検出高速液体クロマトグラフィー
HPβCD	Hydroxypropyl-β-cyclodextrin	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
HSA	Human serum albumin	ヒト血清アルブミン
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry	高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法
LC-MS／ラジオメトリー	Liquid chromatography-mass spectrometry and radiometry	液体クロマトグラフィー-質量分析法及びラジオメトリー
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限値
LSS	Liquid scintillation spectrometry	液体シンチレーションスペクトロメトリー
MC	Methylcellulose	メチルセルロース
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト種

略語／用語	定義	日本語
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting protein	有機アニオン輸送タンパク質
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク質
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RP-HPLC	Reverse-phase high-performance liquid chromatography	逆相高速液体クロマトグラフィー
SLC	Solute carrier	溶質キャリア
$t_{1/2}$	Half-life	半減期
TK	Toxicokinetics	トキスコキネティクス
t_{max}	Time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
ULOQ	Upper limit of quantification	定量上限値
V_d	Volume of distribution	分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

ロナファルニブの吸収、分布、代謝、排泄（ADME）の特性を明らかにすることを目的とした *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を実施した。これらの試験には、ヒト血漿、肝ミクロソーム、肝細胞を用いて血漿結合、シトクロム P450（CYP450）代謝、並びにロナファルニブが代謝機序を介して薬物相互作用に関与する可能性を明らかにした *in vitro* 試験が含まれている。加えて、ロナファルニブが取込み及び排出トランスポーターへの影響を介して薬物相互作用に関与する可能性を評価するための *in vitro* 試験を実施した。

ラット及びサルを用いて、単回又は反復投与による *in vivo* の薬物動態（PK）試験及びトキシコキネティクス（TK）試験を実施した。このほかに、妊娠ウサギを用いた TK 試験も実施した。これらの試験での投与には、ヒトにおける予定投与経路であることから、主として経口投与を用いた。加えて、PK パラメータをさらに検討するため、及び経口バイオアベイラビリティを算出するために、ラット及びサルの双方で補足的な単回静脈内投与試験を実施した。実施した試験の概要を表 2.6.4.1-1 に示す。

吸収

In vitro 透過性

- ロナファルニブは、Caco-2 brushed border expressing 1（C2BBe1）細胞の単層培養系において高い透過性を示した。

単回投与

- [^{14}C]-ロナファルニブは、ラット及びサルに経口投与後、それぞれ投与後 2～4 時間及び 4 時間に最高血漿中濃度に到達した。ロナファルニブをサルに投与した試験では、最高血漿中濃度への到達が遅く、投与後 6～8 時間であった。
- ロナファルニブは、ラット及びサルに経口投与後、どちらの動物種においても薬物由来放射能及びロナファルニブの経口バイオアベイラビリティは高かったが、どちらも性差が認められた。ラットでは、バイオアベイラビリティ（%）は雌の方が雄より高かった（薬物由来放射能はそれぞれ 150%及び 92.5%、ロナファルニブはそれぞれ 167%及び 77.6%）。サルでは、ロナファルニブのバイオアベイラビリティは雄の方が雌より高かったが（それぞれ 91.4%及び 66.4%、または、それぞれ 107%及び 68.3%）、薬物由来放射能には性差は認められなかった。
- ラットでは、[^{14}C]-ロナファルニブの経口投与後の曝露量は雄と比較して雌で約 5.5 倍大きかったが、サルでは雌雄間で曝露量は同程度であった（2 倍未満の差）。
- 妊娠ラットに経口投与後、胎児血液中に放射能が検出され、胎児の薬物由来放射能曝露量

は母動物の約 10%であった。

反復投与（トキシコキネティクス）

- ロナファルニブの反復経口投与後、ラット（3 箇月間及び 6 箇月間の反復投与）、ウサギ（妊娠 7～19 日目の投与）、サル（3 箇月及び 1 年間の反復投与）において用量と関連した曝露量の増加が認められた。試験したすべての動物種で、これらの曝露量の増加はおおむね用量と比例した水準を上回っていた。
- ラットにおける 3 箇月間及び 6 箇月間の反復経口投与試験では、曝露量は雄よりも雌で顕著に大きかった。サルではこのような所見は認められず、曝露量は雌雄で同程度か、むしろ雄でわずかに大きかった（10 mg/kg/日又は 20 mg/kg/日の 1 年間反復経口投与後で 1.38～2.4 倍）。
- 蓄積は、試験した最高用量（180 mg/kg/日）を投与したラットでのみ一貫して認められ、サルでは血漿中ロナファルニブ濃度はおおむね投与期間とともに低下した。
- ロナファルニブをサルに反復経口投与したときの血漿中ロナファルニブ濃度は、Day 177 及び Day 363 より Day 1 の方が高かった。

分布

血漿タンパク結合率

- [^{14}C]-ロナファルニブ（0.5～40 μg/mL の濃度）の *in vitro* 血漿タンパク結合率は極めて高く（99.0%～99.7%）、ラット、サル及びヒトの血漿中でいずれも同程度であった。
- α_1 酸性糖タンパク質（AAG）に対する[^{14}C]-ロナファルニブの結合率はロナファルニブの濃度に依存していた。しかし、ヒト血清アルブミン（HSA）への結合率は HSA 濃度には依存していたが、ロナファルニブ濃度には依存していなかった。HSA/AAG の組み合わせについては、ロナファルニブの結合率はすべての HSA 濃度で一致していたことから、HSA 濃度が低い病態生理学的条件下ではロナファルニブの総タンパク結合率は影響を受けない可能性が示唆された。

組織分布

- 雌雄のラットに[^{14}C]-ロナファルニブを単回経口投与したとき、肝臓、副腎、膵臓、胆管及び腎臓で最も高い放射能濃度が認められた。
- ロナファルニブを雄性ラットに 30～90 mg/kg の用量で 1 日 2 回（BID）8 日間反復経口投与後、ロナファルニブの低～中等度の脳への透過が認められた。血漿に対する脳の AUC 比は約 6.5%であった。
- [^{14}C]-ロナファルニブを妊娠ラットに 30 mg/kg の用量で単回経口投与後、薬物由来放射能は吸収され、血液及び組織中に広く分布した。胎児血液及び組織中に放射能が検出された

ことから、妊娠ラットへの投与後にロナファルニブ関連物質が胎盤を介して胎児に移行したことが示唆された。母動物及び胎児の血液及び組織における薬物由来放射能濃度は、最高濃度に到達後に低下し、薬物由来放射能の長時間の滞留はないことが示唆された。

- [^{14}C]-ロナファルニブ（15 mg/kg）を雌雄のサルに単回経口投与し、投与後 168 時間の時点で薬物由来放射能の広範な組織への分布が認められた。分布に性差はほとんど認められず、全般的に肝臓、眼、小腸に最も高い分布率が認められた。胆汁への分布率も高く、この経路を介して排泄されることが示唆されたが、胆汁への分布率を測定したのは雌性サルのみであった。それ以降の時点では（投与 768 時間後及び投与 1344 時間後）、分析した組織のほとんどで放射能が明らかに減少し、投与 1344 時間後には定量下限値（LLOQ）に近かった。褐色脂肪、リンパ節、皮膚では、放射能の経時的な明らかな減少は認められなかった。
- [^{14}C]-ロナファルニブ（30 mg/kg）を雄性サルに単回経口投与後、薬物由来放射能は投与後 4 時間以内に広範囲の組織に分布していた。投与後 28 日目の網膜、肝臓、消化管壁、リンパ節、副腎、腎臓、胆嚢、皮膚、唾液腺、脾臓、骨髄、ハーダー腺、心筋及び胃壁における薬物由来放射能の濃度から、これらの組織では[^{14}C]-ロナファルニブ由来放射能が長時間滞留することが示された。対側眼のミクロオートラジオグラフィーのデータから、網膜の全層に粒状物質（すなわち薬物由来放射能）が含まれていることが示された。

代謝

CYP450 反応表現型解析

- ロナファルニブはラット及びサルの肝細胞により広範に代謝され、それほど広範ではないがマウス及びヒトの肝細胞でも代謝された。[^{14}C]-ロナファルニブをマウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞とインキュベートした後、合計 32 種類の代謝物の特徴を決定した。最もよくみられた代謝経路は酸化、脱水素化、又はこれら 2 つの過程の複合であり、すべての動物種を通じて代謝物の大部分は側鎖ピペリジン環領域の変化を伴っていた。ヒトに特異的な代謝物は検出されなかった。
- ヒト肝ミクロソーム（HLM）では、ロナファルニブの $t_{1/2}$ は 10 分未満と測定され、クリアランス率は 0.223 mL/min/mg protein であった。
- 組換えヒト CYP450 酵素及びヒト肝ミクロソームを使用した評価により、ロナファルニブは主に CYP3A の作用を介して速やかに代謝されることが示唆されたが、CYP1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2E1 を含む他のいくつかの CYP 分子種が関与している可能性がある。
- ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP450 supersome を用いた *in vitro* 代謝試験の結果、ロナファルニブの 2 種類の主要代謝物（M25 及び M33）及び 2 種類の微量代謝物（M8 及び M26）は CYP3A4 及び CYP3A5 を介して生成され、別の微量代謝物 M10 は CYP2C8 を介して生成されることが明らかになった。

***In vivo* 単回投与代謝物プロファイリング**

- ロナファルニブはラット及びサルに経口又は静脈内投与後に広範に代謝され、血漿、尿及び糞便中で代謝物が確認された（尿中での代謝物プロファイルはラットのみで実施した。なお、サルでの尿中累積排泄率は投与量の 1.62%未満であった）。これらの代謝物は、主に側鎖ピペリジン環の構造変化の結果として生成された。最も多くみられた代謝変換は酸化及び脱水素化であった。
- ラット血漿中では、生成された代謝物の種類に性差はなかったが、ロナファルニブ及び代謝物の相対量に差が認められた。糞便中では、一方の性では認められたが他方の性では認められなかった代謝物がいくつか存在した（RM2a 及び RM3 は雄性ラットの糞便中でのみ検出され、RM2b は雌性ラットの糞便中でのみ検出された）。サルでは、血漿中及び糞中のいずれにおいても代謝プロファイルは雌雄間及び投与経路間で類似していた。

薬物代謝酵素の誘導及び阻害

- ロナファルニブは CYP1A2 の誘導剤である可能性は低いが、CYP2B6 及び CYP3A4 の誘導には顕著なばらつきが認められ、影響の可能性を除外することができなかった。
- ロナファルニブに対する IC_{50} 値は、CYP2C19、CYP3A（ミダゾラム）及び CYP3A（テストステロン）でそれぞれ 15、5.2 及び 11 μmol/L であった。
- CYP2C19 の阻害は時間に依存する可能性は低いが、CYP3A の阻害は時間に依存する可能性が高い。
- ロナファルニブは CYP2C8 の可逆的阻害剤であるが、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9 及び CYP2D6 の可逆的阻害剤ではないと考えられており、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2D6 の時間依存的阻害剤ではない。

排泄

- ラットへの単回経口投与後、排泄は速やかであり、雌雄ともにほぼ全量が排泄された。糞便での回収率は雄で投与量の 102%、雌で 99.2%であった。単回静脈内投与後の排泄は速やかであったが、総回収率は経口投与後より低かった。糞便での回収率は雄で投与量の 86.9%、雌で 86.7%であった。
- 妊娠ラットへの単回経口投与後の排泄物中の放射能の総回収率は約 85%であった。経口投与量の合計 83.3%が糞便中に、0.110%が尿中及びケージ洗浄液中に排泄された。
- 非絶食下のサルでは、排泄物中の放射能の総回収率は約 90%であり、単回経口投与及び静脈内投与のいずれにおいても雌雄で同程度であった。絶食下のサルでは、経口投与後の放射能の総回収率は投与量の 77.7%にすぎなかった。ラットと同様に、非絶食及び絶食下の

サルに経口投与、静脈内投与、あるいは両経路による投与後の排泄の大部分は糞便を介して生じた。

- 糞便及び胆嚢中に大量の放射能が存在したことから、ラット及びサルのいずれにおいても胆汁中の排泄、分泌、あるいはその両方がロナファルニブ、代謝物、あるいはその両方の重要な排泄経路であることが示唆された。
- 授乳ラットに[^{14}C] ロナファルニブ単回経口投与した乳汁移行性試験では、投与後 2～12 時間における血漿中放射能濃度に対する乳汁中放射能濃度の比は 1.23～1.51 とほぼ一定で、乳汁中放射能濃度は血漿中放射能濃度と平行に推移していると考えられ，投与後 24 時間で 0.353 となり速やかに乳汁から消失することから、乳汁中への残留性はないと考えられた。

薬物動態学的薬物相互作用

トランスポーターに関連する薬物相互作用の可能性

- ロナファルニブは、12 μmol/L では取り込みトランスポーターである OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 を顕著に阻害することはなかったが（それぞれ 34.1%、11.3%、0%及び 7.05%の阻害）、OATP1B1、BCRP 及び P-gp は 50%を超えて阻害した（それぞれ 62.5%、93.9%、95.3%の阻害）。
- OATP1B1、BCRP 及び P-gp に対する IC_{50} は、それぞれ 6.69、1.45 及び 0.740 μmol/L であった。
- ロナファルニブは BSEP に対する阻害活性を示さなかったが、OCT1 を阻害し、IC_{50} は 0.797 μmol/L であった。
- ロナファルニブは OATP1B1、OATP1B3 及び BCRP の基質ではないが、P-gp の限界基質の可能性が高い。

表 2.6.4.1-1　ロナファルニブの吸収、分布、代謝及び排泄に関する試験の概要

試験の種類	試験系	投与方法	試験番号
吸収			
In vitro 透過性	C2BBe1 細胞単層	*In vitro*	14EIGEP1
単回投与 PK（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）又は静脈内	SN96557
単回投与 PK（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Long Evans）	経口（強制）	SN96558
単回投与 PK（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	SN00508
単回投与 PK	サル（カニクイ）	経口（強制）又は静脈内	SN02196

試験の種類	試験系	投与方法	試験番号
単回投与 PK（[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）又は静脈内	SN96559
3 箇月毒性／TK	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	SN96030
6 箇月毒性／TK	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	SN96034
胚・胎児発生毒性／TK	ウサギ（NZW）	経口（強制）	SN96046
3 箇月毒性／TK	サル（カニクイ）	経口（強制）	SN96612
1 年毒性／TK	サル（カニクイ）	経口（強制）	SN96036
分布			
血漿タンパク結合率（[^{14}C]-ロナファルニブ）	血漿（ラット、サル、ヒト）	*In vitro*	SN98139
血漿タンパク結合率（[^{14}C]-ロナファルニブ）	血漿（ヒト）	*In vitro*	SN98276
組織内分布（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Long Evans）	経口（強制）	SN96558
血漿：脳内分布（ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	SN04935
胎児胎盤移行（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	SN00508
全身オートラジオグラフィー（[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）	SN96559
全身オートラジオグラフィー（[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）	SN00039
代謝			
代謝物プロファイリング（[^{14}C]-ロナファルニブ）	マウス（CD-1）、ラット（Sprague Dawley）、サル（カニクイ）、ヒトの肝細胞	*In vitro*	SN99118
CYP450 反応表現型解析	組換えヒト CYP、ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	15EIGEP1
CYP450 反応表現型解析	組換えヒト CYP、ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	SN98277
代謝物構造解明	組換えヒト CYP3A4	*In vitro*	SN01080
In vivo 単回投与代謝物プロファイリング（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）又は静脈内	SN96557
In vivo 単回投与代謝物プロファイリング（[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）又は静脈内	SN96559
CYP450 の誘導	ヒト肝細胞	*In vitro*	14EIGEP1_Study6

試験の種類	試験系	投与方法	試験番号
CYP450 の阻害	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	14EIGEP1_Study3 14EIGEP1_Study4 14EIGEP1_Study5 CYP1838 R3
排泄			
In vivo 単回投与（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）又は静脈内	SN96557
In vivo 単回投与（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	SN00508
In vivo 単回投与（[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）又は静脈内	SN96559
In vivo 単回投与（[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）	SN00039
In vivo 単回投与（[^{14}C]-ロナファルニブ）	授乳ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	SN00499
薬物動態学的薬物相互作用			
In vitro トランスポーター阻害（ロナファルニブ）、（[^{14}C]-ロナファルニブ）	HEK293 細胞、C2BBe1 細胞単層、膜小胞	*In vitro*	14EIGEP1 CYP1838 R2B CYP1838 R1
In vitro トランスポーター誘導	HEK293 細胞、C2BBe1 細胞単層	*In vitro*	14EIGEP1 CYP1838 R2A

2.6.4.2 分析法

投与液の分析及び血液又は血漿試料の生体試料中濃度分析を目的とした非臨床試験に用いた分析法の要約を、それぞれ表 2.6.4.2-1 及び表 2.6.4.2-2 に示す。

2.6.4.2.1 投与液中のロナファルニブの測定

[^{14}C]-ロナファルニブを用いて実施した非 GLP 下での単回投与 ADME 試験において、投与液中のロナファルニブ関連放射能濃度を、放射能については液体シンチレーションスペクトロメトリー（LSS）により測定し、放射化学的純度及び比活性については UV 検出高速液体クロマトグラフィー（HPLC-UV）により測定した。ロナファルニブを用いて実施した GLP 試験では、経口投与液中のロナファルニブ濃度を HPLC-UV により測定した。その方法を表 2.6.4.2-1 に要約する。各投与液中のロナファルニブ濃度は、ロナファルニブ濃度と既知標準品の UV 反応の線形回帰分析を用いて測定した。

表 2.6.4.2-1　ロナファルニブの投与液の分析法

溶媒	定量範囲	該当する試験（試験番号）
生理食塩水（PSS）[a]	5～2500 ng/mL	イヌ摘出心臓プルキンエ線維における活動電位（SN02160）
0.4%（w/v）HPMC	NA	ロナファルニブのサル単回経口投与 PK 試験（SN02196）
0.4%（w/v）MC	1～100 mg/mL	ラット 3 箇月反復経口投与毒性試験（SN96030 Appendix C）
0.4%（w/v）MC	1～100 mg/mL	サル 3 箇月反復経口投与毒性試験（SN96612 Appendix C）
0.4%（w/v）MC	2～12 mg/mL	ラット 6 箇月反復経口投与毒性試験（SN96034 Appendix 10）
0.4%（w/v）MC	2～12 mg/mL	サル 1 年間反復経口投与毒性試験（SN96036 Appendix 10）
0.4%（w/v）MC	0～120 mg/mL	ウサギ胚・胎児発生毒性試験（SN96046 Appendix 2）

[a] 生理食塩水における組成（単位：mmol/L）：NaCl;125、KCl;4、$CaCl_2$;1.8、$MgCl_2$;1.0、NaH_2PO_4;1.2、$NaHCO_3$;25 及び D-グルコース;5.5

NA = [redacted] の試験報告書には記載されていない。

2.6.4.2.2　生体試料中のロナファルニブの測定

2.6.4.2.2.1　放射能の測定法

[^{14}C]-ロナファルニブを用いて実施した ADME 試験において、ラット及びサルの血液、血漿、尿、糞、胆汁及び組織中の放射能の定量には、放射化学的方法も用いた。放射標識した炭素の位置を含む、[^{14}C]-ロナファルニブの構造を図 2.6.4.2-1 に示す。 [^{14}C]-ロナファルニブの安定性は、ラット単回経口投与試験により確認されている（SN96533）。

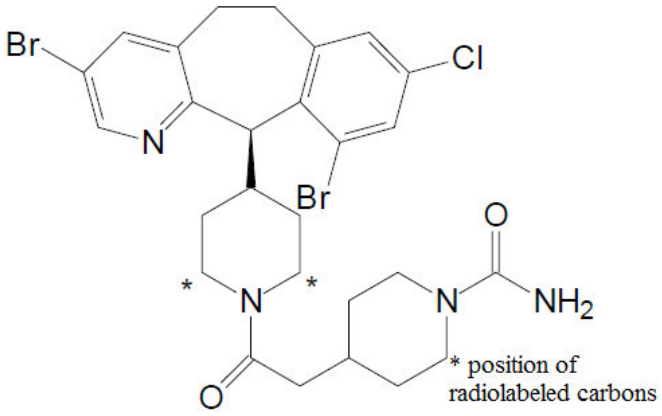


図 2.6.4.2-1　[^{14}C]-ロナファルニブの構造

LSS を用いて、血液、尿、糞便、胆汁、屠体及び特定組織中のロナファルニブ由来物質の放射能濃度を算出した。燃焼法を用いた。また、外部の標準化技術及び計器に保存されたクエンチ曲線を用いて、計数効率について各試料の放射能を補正した。

2.6.4.2.2.2 ロナファルニブの定量法

開発初期は UV 検出高速液体クロマトグラフィー（HPLC-UV）を使用して、ラット（SN96616）及びサル（SN96401）血漿中のロナファルニブを定量した。その後、液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法（LC-MS/MS）を用いて、ヘパリンナトリウム処理した血漿中のラット（SN96560）、ウサギ（SN02180）及びサル（SN01407）のロナファルニブを定量した。すべての分析法は、バリデートされており、単回投与 PK 試験及び反復投与 TK 試験における血漿試料の分析に用いた。HPLC-UV 法では試料（200 µL）の抽出にメタノールを用いた固相抽出を採用し、波長 280 nm で UV 検出器を用いて定量化を行った。これらの分析はラット及びサル血漿中のロナファルニブの定量において 100～8000 ng/mL の濃度範囲で十分な真度及び精度を有し、定量下限値（LLOQ）は 100 ng/mL であった。LC-MS/MS を用いてメタノールによる固相抽出を利用して試料（100 µL）の抽出を行い、ラット、ウサギ及びサルの血漿中のロナファルニブの定量において、10～5000 ng/mL の濃度範囲で十分な真度及び精度を示した（LLOQ 10 ng/mL）。これら生体試料中濃度分析法は、該当する濃度範囲を通じて十分な特異性、精度、真度、再現性及び直線性を示した。非臨床における血漿試料の生体試料中濃度分析におけるロナファルニブの測定に用いた方法の要約を表 2.6.4.2-2 に示す。試験番号 SN96557 及び SN96559 の試験で得られた血漿、尿及び糞便試料は、ロナファルニブ及びその代謝物を液体クロマトグラフィー-質量分析法及びラジオメトリー（LC-MS／ラジオメトリー）により分析した。

表 2.6.4.2-2　血漿中ロナファルニブ測定法

マトリクス（試験番号）	分析対象物	LLOQ（ng/mL）	ULOQ（ng/mL）	分析法	精度	真度	安定性
ラット血漿（SN96616）	ロナファルニブ	100	8000	HPLC-UV	4.0～8.4	−3.3～3.4	凍結融解／−70℃（血漿）：3 サイクル 室温（血漿抽出物）：24 時間 冷蔵／4℃（血漿抽出物）：95 日間 冷凍−70℃（血漿）：319 日間
ラット血漿（SN96560）	ロナファルニブ	10	5000	LC-MS/MS	2.3～5.3	−5.3～−1.8	凍結融解／−70℃（血漿）：3 サイクル 室温（血漿）：4 時間 室温（血漿抽出物）：40 時間及び 93 時間 [a] 冷凍／−70℃（血漿）：16 箇月間
ウサギ血漿（SN02180）	ロナファルニブ	10	5000	LC-MS/MS	2.31～5.62	−4.50～1.00	凍結融解／−70℃（血漿）：3 サイクル 室温（血漿）：26 時間 室温（血漿抽出物）：90 時間 冷凍／−70℃（血漿）：104 日間）
サル血漿（SN96401）	ロナファルニブ	100	8000	HPLC-UV	2.8～7.9	−3.5～1.1	凍結融解／−70℃（血漿）：3 サイクル 室温（血漿抽出物）：24 時間 冷蔵／4℃（血漿抽出物）：95 日間 冷凍／−70℃（血漿）：295 日間）
サル血漿（SN01407）	ロナファルニブ	10	5000	LC-MS/MS	0.803～2.09	0.667～2.00	凍結融解／−70℃（血漿）：3 サイクル 室温（血漿）：26 時間 室温（血漿抽出物）：87.5 時間 冷凍／−70℃（血漿）：4 日間 [b]

[a] 血漿抽出物を 93 時間室温におき、固相抽出液により再調整した。

[b] 本試験では、短期的な凍結安定性の結果のみが試験報告書に記載されている。

2.6.4.3 吸収

ロナファルニブの単回経口投与における PK パラメータをラット及びサルで検討した。これらの試験の結果を 2.6.4.3.2 項に要約する。Sprague Dawley ラット及びカニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験でロナファルニブの TK パラメータを検討した。これらの試験の TK の結果を 2.6.4.3.3 項に要約する。反復投与毒性試験のその他の詳細は、モジュール 2.6.6 毒性試験の概要文に示す。

2.6.4.3.1 *In vitro* 透過性

Caco-2 brushed border expressing 1（C2BBe1）細胞単層においてロナファルニブの *in vitro* 透過性を評価した（14EIGEP1）。0.647、6.47 及び 12 µmol/L の[^{14}C]-ロナファルニブで双方向透過性を評価した。その結果、[^{14}C]-ロナファルニブを細胞単層の頂端膜側又は基底外側膜側のいずれかに添加した後、C2Bbe1 細胞とともにインキュベートし、経細胞流をモニタリングした。ロナファルニブはこの試験条件下で高い吸収透過性を示し、P_{app} は約 40×10^{-6} cm/s であった。なお、この試験では、ロナファルニブが排出トランスポーターの基質となる可能性についても検討しており、その結果を 2.6.4.8.2 項で考察する。

2.6.4.3.2 単回投与

2.6.4.3.2.1 ラットにおけるロナファルニブ又は[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の血漿中ロナファルニブ濃度並びに放射能濃度

[^{14}C]-ロナファルニブを単回経口（30 mg/kg）又は静脈内（5 mg/kg）投与した非絶食下の Sprague Dawley ラット（n=3/性/時点）（SN96557）、並びに[^{14}C]-ロナファルニブを単回経口投与（30 mg/kg）した絶食下の Long Evans ラット（n=3/性/時点）（SN96558）において、ロナファルニブの PK プロファイルを評価した。溶媒は、経口投与では 0.4%（w/v）MC とし、静脈内投与ではジメチルスルホキシド（DMSO）の 20%（w/v）ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（HPβCD）溶液［2：3（v/v）の比］とした。経口投与したラットから投与後 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、18、24、48、72 及び 168 時間（SN96557）又は投与後 1、4、12、24、48、72 及び 168 時間（SN96558）の時点で採血した。静脈内投与したラットから、投与後 0.083、0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24、48、72、96 及び 168 時間の時点で採血した。その結果、Sprague Dawley ラットへの経口投与後、薬物由来放射能の C_{max} は雄で 2.89 µg eq./g、雌で 6.65 µg eq./g であり、ロナファルニブの血漿中濃度は雄で 1.66 µg/mL、雌で 5.47 µg/mL であった（t_{max} は雄で 2 時間、雌で 4 時間）。ロナファルニブの消失半減期は雄で 1.09 時間、雌で 1.92 時間であり、ロナファルニブの血漿中濃度は雄で投与後 12 時間、雌で投与後 24 時間まで定量可能であった。一方、薬物由来放射能は雌雄ともに投与後 72 時間まで検出可能であった。Long Evans ラットに経口投与後にも同程度の最大曝露量が認められ、雄雌で t_{max} は 4 時間となり、その後、薬物由来放射能濃度（<18～24 ng eq./mL）は、投与後 168 時間に定量限界値未満（BLQ）になるまで一定の速度で低下した。Sprague Dawley ラットにおけるロナファルニブのバイオアベイラビリティ（F）は雄で

92.5%、雌で 150%であった。Sprague Dawley ラットへの静脈内投与後、薬物由来放射能の C_{max} は雄で 2.93 μg eq./g、雌で 2.90 μg eq./g となり、ロナファルニブの血漿中濃度は雄で 2.48 μg/mL、雌で 2.58 μg/mL であった。雄及び雌におけるロナファルニブの $t_{1/2}$ はそれぞれ 1.54 時間及び 2.38 時間であり、総クリアランスは雄の方が雌より 2.66 倍高かった（2039 mL/h/kg 及び 767 mL/h/kg）。経口及び静脈内投与後の曝露量は、雄より雌でそれぞれ 5.58 倍及び 2.59 倍大きかった。Long Evans ラットでは、経口投与後に同様の PK プロファイルが認められた（SN96558）。経口及び静脈内投与時の PK パラメータを表 2.6.4.3-1 にまとめた。

表 2.6.4.3-1 ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の血漿中放射能濃度の PK パラメータ

系統	投与経路	C_{max} (μg eq./g)		t_{max} (時間)		AUC_{last} (μg eq.·h/g)		F (%)	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Sprague Dawley	経口 (30 mg/kg) ［SN96557］	2.89	6.65	2	4	22.8	68.8	92.5	150
	静脈内 (5 mg/kg) ［SN96557］	2.93	2.90	0.083	0.083	5.23	9.74	NA	NA
Long Evans	経口 (30 mg/kg) ［SN96558］	4.40	4.13	4	4	34.8	44.4	-	-

注：値は、ロナファルニブについて 3 匹/時点の平均値を示す。

NA = 該当せず、"-" = 評価せず

2.6.4.3.2.2 妊娠ラットにおける [^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与による血漿並びに血液中放射能濃度

妊娠 18 日目の絶食下の妊娠 Sprague Dawley ラットに[^{14}C]-ロナファルニブ（30 mg/kg）の 0.4%（w/v）HPMC 溶液を単回経口投与し、ロナファルニブの PK プロファイルを評価した（SN00508）。母動物（n=3/時点）及び胎児（n=6/母動物/時点）から、投与後 2、6、8、12、24 及び 48 時間に採血した。その結果、胎児血液中に放射能が検出されたことから、ロナファルニブを妊娠ラットに経口投与した時、胎児が薬物由来放射能に曝露することが確認された。また、胎児における薬物由来放射能への曝露量（AUC_{0-48}）は、母動物の曝露量の約 10%であった。胎児における薬物由来放射能の C_{max} は母動物の約 14%であり、胎児では母動物と比較して 2 時間遅れて最高濃度に達した。母動物の血漿及び血中 PK パラメータ並びに胎児の血中 PK パラメータを表 2.6.4.3-2 に示す。

表 2.6.4.3-2　妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の血漿中及び血中放射能濃度の PK パラメータ

群	C_{max}（μg eq./g）	t_{max}（時間）	AUC_{0-48}（μg eq.·h/g）
母動物（血漿）	2.65	6	29.4
母動物（血液）	2.07	6	23.1
胎児（血液）	0.283	8	2.30

注：数値は母動物については 3 匹/時点、胎児については 6 匹/母動物/時点の平均値を表す。

2.6.4.3.2.3　サルにおけるロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の血漿中ロナファルニブ濃度

ロナファルニブを 15 mg/kg の用量で非絶食下のカニクイザル（雌雄各 n=4）に単回経口投与し、7 日間の休薬期間後に 5 mg/kg の用量で静脈内投与し、ロナファルニブの血漿中 PK プロファイルを評価した（SN02196）。なお、本試験は GLP 試験として実施した。溶媒として経口投与には 0.4%（w/v）HPMC を、静脈内投与には DMSO の 20%（w/v）HPβCD 溶液［2：3（v/v）の比］を使用した。ロナファルニブを経口投与したサルから、投与前並びに投与後 0.25、0.5、1、2、4、6、8、10、12、18、24、48 及び 72 時間の時点で血液試料を採取した。ロナファルニブを静脈内投与したサルから、投与前並びに投与後 0.083、0.25、0.5、1、2、4、6、8、10、12、18、24、48 及び 72 時間の時点で採血した。その結果、経口投与後の AUC_{last} 及び C_{max} に基づいた曝露量は、雌雄でおおむね同程度であった（雄で最大 1.8 倍）。ロナファルニブの吸収は緩徐であり、雄で平均 6 時間後、雌で平均 8 時間後に C_{max}（雄で 2.47 μg/mL、雌で 1.54 μg/mL）に達した。ロナファルニブの $t_{1/2}$ は雌雄で同程度で、2.96～4.39 時間の範囲であった。また、投与後 48 時間にはロナファルニブの濃度は LLOQ を下回っていた（<10 ng/mL）。ロナファルニブのバイオアベイラビリティは雄で 107%、雌で 68.3%であった。静脈内投与後に雌雄間に有意差はなかった。雌雄どちらのサルでも、ロナファルニブの C_{max} は 0.083 時間であった。分布容積は 1980 mL/kg（雌雄合算 V_d）であり、ロナファルニブが血漿外に分布することを示している。$t_{1/2}$ は約 2.09 時間であり、経口投与時より短く、クリアランスは 665 mL/h/kg であった。経口及び静脈内投与時の PK パラメータを表 2.6.4.3-3 にまとめた。

表 2.6.4.3-3　サルにおけるロナファルニブ経口及び静脈内投与後の血漿中ロナファルニブ濃度の PK パラメータ

投与経路	C_{max}（μg/mL）		t_{max}（時間）		AUC_{last}（μg·h/mL）		$t_{1/2}$（時間）		F（%）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
経口（15 mg/kg）	2.47	1.54	6.0	8.0	25.6	14.0	3.75[a]	3.36[b]	107[a]	68.3
静脈内（5 mg/kg）	3.66	3.79	0.083	0.083	8.61	6.95	2.38	1.88	NA	NA

注：特に記載のない限り、n=4/性/群（ただし静脈内投与群の雄は n=3）

[a] n=3

[b] n=2

2.6.4.3.2.4 サルにおけるロナファルニブ又は[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の血漿中ロナファルニブ濃度並びに放射能濃度

ロナファルニブを非絶食下のカニクイザル（n=3/性）に単回経口（15 mg/kg）又は静脈内投与（5 mg/kg）し、ロナファルニブの PK プロファイルを評価した（SN96559）。溶媒として経口投与では 0.4% MC（w/v）を、静脈内投与では DMSO の 20%（w/v）HPβCD 溶液［2：3（v/v）の比］を使用した。ロナファルニブを経口投与したサルから、投与前並びに投与後 1、2、4、8、12、24、48、72、96、144、192、264、336、408、480、552、624、696、768、840、912、984、1056、1128、1200、1272 及び 1344 時間に採血した。ロナファルニブを静脈内投与したサルから、投与前並びに投与後 0.083、0.5、1、4, 8、12、24、48、72、96、144、192、264、336、408、480、552、624、696、768、840、912、984、1056、1128、1200、1272 及び 1344 時間に採血した。その結果、経口投与後、薬物由来放射能及びロナファルニブの C_{max} は雌雄で同程度であり（雌雄を合わせた C_{max} はそれぞれ 5.02 µg eq./mL 及び 2.44 µg/mL）、雄では投与後 4 時間、雌では投与後 5.33 時間及び 4 時間で C_{max} に達した。ロナファルニブの AUC_{last} は雄で 19.9 µg·h/mL、雌で 15.0 µg·h/mL であり、バイオアベイラビリティは雄で 91.4%、雌で 66.4%であった。静脈内投与後も、薬物由来放射能及びロナファルニブの C_{max} は雌雄で同程度であった（雌雄を合わせた C_{max} はそれぞれ 4.32 µg eq./mL 及び 3.63 µg/mL）。薬物由来放射能及びロナファルニブの AUC_{last} も雌雄で同程度であった（雌雄を合わせた AUC_{last} はそれぞれ 24.9 µg eq.·h/mL 及び 7.38 µg·h/mL）。血漿中放射能のクリアランスは速やかであり、静脈内及び経口投与後それぞれ 96 時間及び 264 時間までに実質的に完了していた。経口及び静脈内投与時の PK パラメータを表 2.6.4.3-4 にまとめた。

表 2.6.4.3-4 サルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の血漿中放射能濃度の PK パラメータ

投与経路	C_{max}（µg eq./mL）		t_{max}（時間）		AUC_{last}（µg eq.·h/mL）		F（%）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
経口（15 mg/kg）	5.49	4.55	4	5.33	85.5	75.3	105	110
静脈内（5 mg/kg）	4.16	4.47	0.083	0.083	27.0	22.8	NA	NA

NA = 該当せず

2.6.4.3.3 反復投与

2.6.4.3.3.1 ラット 3 箇月間反復経口投与毒性試験

GLP 下で実施した 3 箇月間反復経口投与毒性試験において、ロナファルニブの 0.4%（w/v）MC 溶液を非絶食下の Sprague Dawley ラット（n=2/性/群/時点）に 0（溶媒）、30、90 又は 180 mg/kg/日の用量で 57 日間経口（5 mL/kg）投与し、TK プロファイルを評価した（SN96030）。Day 1 及び Day 57 の投与後 2、6、14、18 及び 24 時間に採血し、バリデートされた HPLC での分析法を用いて血漿中ロナファルニブ濃度を測定した。その結果、30 mg/kg/日では、雄及び雌において血漿中ロナファルニブ濃度は低く、それぞれ投与後 6 時間及び 14 時間まで定量可能であった。90 mg/kg/日及び 180 mg/kg/日の用量では、ロナファルニブ濃度は高くなり、投与後 24 時間ま

で定量可能であった（投与後 14 時間まで定量可能であった 90 mg/kg/日群の雄を除く）。また、Day 1 及び Day 57 に、雌雄ともに 30～180 mg/kg/日の範囲で曝露量（AUC_{0-24}）の用量依存的な増加が認められた。Day 1 での曝露量の増加は、雌雄ともに 30～90 mg/kg/日まで用量比を上回っていた。90～180 mg/kg/日の範囲では、雄では用量比を下回っており、雌では用量に比例していた。Day 57 では、雌雄ともにすべての用量で用量比を上回っていた。曝露量は、Day 1 及び Day 57 ともに雌の方が大きかった（それぞれ 2.1～6.0 倍及び 2.1～2.5 倍）。曝露量は Day 1 より Day 57 でわずかに大きかったが、30 mg/kg/日の雄（AUC_{0-24}：3.8 倍）を除き、蓄積は認められなかった（蓄積比<2）。ロナファルニブを雌雄ラットに 3 箇月間反復経口投与した時の TK パラメータの要約を表 2.6.4.3-5 に示す。

表 2.6.4.3-5　ラット 3 箇月間反復経口投与毒性試験の血漿中ロナファルニブ濃度の TK パラメータ

用量（mg/kg/日）	性別	Day 1			Day 57		
		C_{max}（μg/mL）	t_{max}（時間）	AUC_{0-24}（μg·h/mL）	C_{max}（μg/mL）	t_{max}（時間）	AUC_{0-24}（μg·h/mL）
30	雄	0.79	2	4.53	2.14	6	17.1
	雌	2.98	6	27.4	3.78	6	36.7
90	雄	8.83	6	71.3	8.84	6	76.9
	雌	11.7	6	156	17.0	6	196
180	雄	7.76	2	109	14.6	6	181
	雌	17.4	6	295	31.6	6	428

2.6.4.3.3.2　ラット 6 箇月間反復経口投与毒性試験

GLP 下で実施した 6 箇月間反復経口投与毒性試験において、ロナファルニブの 0.4%（w/v）MC 溶液を非絶食下の Sprague Dawley ラット（n=3/性/群/時点）に 0（溶媒）、15、30 又は 60 mg/kg/日の用量で 176 日間経口（5 mL/kg）投与し、TK プロファイルを評価した（SN96034）。Day 1 及び Day 176 の投与前並びに投与後 2、6、12 及び 24 時間に採血し、バリデートされた LC-MS/MS での分析法を用いて血漿中ロナファルニブ濃度を測定した。その結果、投与後 2～6 時間で血漿中濃度が最高値に達した。Day 1 及び Day 176 に、ロナファルニブの血漿中濃度は用量依存的な上昇が認められ、雌雄ともに用量比を上回っていた。血漿中濃度は一貫して雌の方が高く、曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）は雄より雌の方が 2～8 倍大きかった。曝露量は Day 1 より Day 176 の方が大きかったが、30 mg/kg/日の用量で投与した雄性ラット（C_{max} 3.5 倍、AUC_{last} 4.7 倍）を除き、有意な蓄積は認められなかった（蓄積比<2）。Day 1 と比較して Day 176 の血漿中濃度がわずかに高かったことから、反復投与後に吸収、クリアランス、又はその両方が変化する可能性が示唆された。ロナファルニブを雌雄ラットに 6 箇月間（176 日間）反復経口投与した時の TK パラメータの要約を表 2.6.4.3-6 に示す。

表 2.6.4.3-6　ラット 6 箇月間反復経口投与試験における血漿中ロナファルニブ濃度の TK パラメータ

用量（mg/kg/日）	性別	Day 1			Day 176		
		C_{max}（μg/mL）	t_{max}（時間）	AUC_{last}（μg·h/mL）	C_{max}（μg/mL）	t_{max}（時間）	AUC_{last}（μg·h/mL）
15	雄	0.281	2.00	1.37	0.509	6.00	2.31
	雌	1.49	6.00	10.9	1.64	6.00	14.1
30	雄	0.832	2.00	4.03	2.92	6.00	19.0
	雌	4.06	6.00	31.5	6.34	6.00	46.1
60	雄	4.23	6.00	30.0	4.83	6.00	38.5
	雌	12.4	6.00	132	10.9	6.00	136

2.6.4.3.3.3　ウサギ胚・胎児発生に関する試験

GLP 下で実施した胚・胎児発生に関する試験において、ロナファルニブの 0.4%（w/v）MC 溶液を非絶食下の雌性ニュージーランドホワイトウサギ（n=3 又は 4/群）に 0（溶媒）、10、40 又は 120 mg/kg/日の用量で妊娠 7～19 日目まで 1 日 1 回経口投与し（2 mL/kg）、TK プロファイルを評価した（SN96046）。投与後 1、2、4、8、12 及び 24 時間に採血し、バリデートされた LC-MS/MS での分析法を用いて血漿中ロナファルニブ濃度を測定した。その結果、ロナファルニブ曝露量の用量依存的な増加が認められ、その増加は用量比を上回っていた。ロナファルニブは吸収後、速やかに消失し、t_{max} はおおむね 2～4 時間であった。投与後 24 時間の血漿中濃度は C_{max} の 0.85%～15%であったことから、1 匹を除き蓄積はわずかであった。ロナファルニブをウサギに対して妊娠 7～19 日目に反復投与した時の TK パラメータの要約を表 2.6.4.3-7 に示す。

表 2.6.4.3-7　ウサギ胚・胎児発生に関する試験における血漿中ロナファルニブ濃度の TK パラメータ

用量（mg/kg）	C_{max}（μg/mL）	T_{max}（時間）	AUC_{0-24}（μg·h/mL）
10	1.87	2.67	11.7
40	16.6[a]	3.00[a]	85.1[a]
120	91.4	6.00	1021

注：特に明記しない限り、すべてのデータについて n=3

[a] n=4

2.6.4.3.3.4　サル 3 箇月間反復経口投与毒性試験

GLP 下で実施した 3 箇月間反復経口投与毒性試験において、ロナファルニブの 0.4%（w/v）MC 溶液を非絶食下のカニクイザル（n=4/性/群）に 0（溶媒対照）、15、30 又は 60 mg/kg/日の用量で経口投与し（5 mL/kg）、TK パラメータを評価した（SN96612）。Day 1 及び Day 57 の投与後 4、8、12、18、24 時間及び生存動物では Day 91 の投与前、投与後 2、4 及び 8 時間に採血した。バリデートされた HPLC での分析法を用いて、血漿中ロナファルニブ濃度を測定した。その結果、Day 1 及び Day 57 の両日において、15～60 mg/kg/日の範囲で用量依存的な血漿中濃度の上昇が認

められた。また、Day 1 では、15～60 mg/kg/日の範囲で、AUC_{0-24} に基づいた曝露量が用量比を上回って増加した。Day 57 では、15～30 mg/kg/日の範囲で、曝露量がほぼ用量に比例して増加し、30～60 mg/kg/日の範囲では用量比を下回っていた。Day 91 では、血漿中濃度は Day 57 と同程度であった。なお、Day 57 及び Day 91 の血漿中濃度は Day 1 より低かった。測定したいずれのパラメータにも性差は認められなかった。ロナファルニブを雌雄のサルに 3 箇月間反復経口投与した時の TK パラメータの要約を表 2.6.4.3-8 に示す。

表 2.6.4.3-8　サル 3 箇月間反復経口投与試験における血漿中ロナファルニブ濃度の TK パラメータ

用量（mg/kg/日）	性別	Day 1			Day 57		
		C_{max}（μg/mL）	t_{max}（時間）	AUC_{0-24}（μg•h/mL）	C_{max}（μg/mL）	t_{max}（時間）	AUC_{0-24}（μg•h/mL）
15	雄	2.61	4	25.0	1.91	4	18.2
	雌	2.85	4	17.9	2.72	4	17.7
30	雄	6.23	4	60.2	5.17	4	43.4
	雌	4.85	8	50.9	6.09	4	40.2
60	雄	11.1	8	154	6.26	4	68.2
	雌	10.8	8	150	6.22	4	55.8

注：Day 91 に血液試料を採取し、血漿中ロナファルニブ濃度を測定したが、TK 評価は、Day 1 及び Day 57（及び Day 91 の限られた時点）の血漿中ロナファルニブ濃度についてのみ実施した。

2.6.4.3.3.5　サル 1 年間反復経口投与毒性試験

GLP 下で実施した 1 年間反復経口投与毒性試験において、ロナファルニブの 0.4%（w/v）MC 溶液を非絶食下のカニクイザル（n=4/性/群）に 0（溶媒対照）、10、20 又は 40 mg/kg/日の用量で経口投与し（5 mL/kg）、TK パラメータを評価した（SN96036）。Day 1、Day 177 及び Day 363 の投与後 2、6、12 及び 24 時間に採血した。バリデートされた LC-MS/MS での分析法を用いて、血漿中ロナファルニブ濃度を測定した。その結果、10～40 mg/kg/日の範囲で、曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）の用量依存的な増加が認められ、その増加は用量比を上回っていた。10 mg/kg/日及び 20 mg/kg/日の用量レベルでは、曝露量レベルは雌より雄で 1.38～2.4 倍大きかったが、40 mg/kg/日では同程度であった。投与後 2～6 時間に C_{max} に達し、ロナファルニブは投与後 12～24 時間まで定量可能であった。血漿中濃度は、概して Day 1 の方が Day 177 及び Day 363 より高かった。全用量を通じて個々の蓄積比は 0.419～1.95 であった。ロナファルニブを雌雄サルに 1 年間反復経口投与した時の TK パラメータの要約を表 2.6.4.3-9 に示す。

表 2.6.4.3-9　サル 1 年間反復経口投与試験における血漿中ロナファルニブ濃度の TK パラメータ

用量（mg/kg/日）	性別	Day 1			Day 177			Day 363		
		C_{max}（μg/mL）	t_{max}（時間）	AUC_{0-24}（μg•h/ mL）	C_{max}（μg/mL）	t_{max}（時間）	AUC_{0-24}（μg•h/ mL）	C_{max}（μg/mL）	t_{max}（時間）	AUC_{0-24}（μg•h/ mL）
10	雄	2.34	4.00	23.6	2.09	4.00	21.2	1.63	5.00	25.2
	雌	1.42	6.00	13.6	1.16	4.00	10.8	1.31	5.00	13.0
20	雄	6.47	6.00	76.9	5.40	5.00	57.6	6.36	5.00	82.5
	雌	5.20	4.67	55.6	3.05	4.00	29.3	3.35	4.00	34.4
40	雄	12.8	6.00	170	7.43	5.00	86.3	10.8	5.00	146
	雌	16.6	6.00	205	8.77	6.00	96.0	10.9	6.00	142

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 血漿タンパク結合率

[^{14}C]-ロナファルニブ（濃度 0.5～40 μg/mL）の血漿タンパク結合率を、ラット（雄 Sprague Dawley）、サル（カニクイ）、ヒト（健常人男性）の血漿において限外濾過法により評価した（SN98139）。結合に対する抗凝固剤（ヘパリン）、冷凍／融解の潜在的影響を評価するため、10 μg/mL の[^{14}C]-ロナファルニブを用いてラット、サル及びヒト血清の対照試料も調製した。[^{14}C]-ロナファルニブのラット、サル及びヒトの血漿タンパクとの結合率は高く、それぞれ 99.0%～99.5%、99.2%～99.6%及び 99.2%～99.7%であった。また、各動物種の結合率は濃度と無関係であった。ラット、サル及びヒトにおける 10 μg/mL の[^{14}C]-ロナファルニブの血清タンパク結合率はそれぞれ 99.5%、99.4%及び 99.5%であり、対応する血漿タンパク結合率（それぞれ 99.3%、99.5%及び 99.4%）と同程度であったことから、結合率は抗凝固剤（ヘパリン）や血漿の凍結／融解サイクルの明らかな影響は受けなかったと考えられた（表 2.6.4.4-1）。

表 2.6.4.4-1 [^{14}C]-ロナファルニブの血漿タンパク結合率

濃度（μg/mL）	結合率 [a]		
	ラット（Sprague Dawley）	サル（カニクイ）	ヒト（健常人男性）
0.5	99.3	99.6	99.7
1	99.5	99.6	99.6
2	99.4	99.6	99.6
5	99.4	99.5	99.5
10	99.3	99.5	99.4
10	99.5[b]	99.4[b]	99.5[b]
20	99.2	99.4	99.4
40	99.0	99.2	99.2

[a] 特に明記しない限り、血漿タンパク結合率（%）の平均値（n=3）

[b] 血清タンパク結合率（%）の平均値（n=3）

また、 [^{14}C]-ロナファルニブの血漿タンパク結合率をヒト血漿でも超遠心法を用いて評価し、ヒト血清アルブミン（HSA）、α_1-酸性糖タンパク質（AAG）、HSA と AAG との組み合わせに対する結合率を求めた（SN98276）。0.4 μg/mL 及び 2.0 μg/mL のロナファルニブの結合率を、HSA（4%）及び AAG（0.1%）の名目生理的濃度、並びに HSA（4%）及び AAG（0.1%）の組み合わせで評価した。低アルブミン血症状態に近い状態でも結合率を評価した（2%及び 3%の HSA のみ、並びに 0.1% AAG との組み合わせ）。ロナファルニブの結合率は HSA 濃度に依存していたが、ロナファルニブの 2 濃度で同程度であった。HSA 濃度が 2%、3%及び 4%のとき、結合率の範囲は、それぞれ 94.0%～94.5%、96.2%～96.5%及び 96.9%～97.3%であった。AAG に対するロナファルニブの結合率はロナファルニブ濃度に依存し、ロナファルニブの濃度が 2.0 μg/mL 及び 0.4 μg/mL のと

き、結合率の範囲はそれぞれ 92.5%～95.5%及び 95.7%～97.6%であった。HSA と AAG の様々な組み合わせにおけるロナファルニブの結合率（95.1%～98.4%）は、HSA 又は AAG 単独との結合率（93.7%～97.6%及び 92.5%～97.6%）と比較して高かった。2%及び 3%の HSA と 0.1%の AAG との組み合わせにおけるロナファルニブの結合率の範囲は、4%の HSA と 0.1%の AAG との組み合わせのそれと重なっていたことから（96.4%～98.4%及び 95.1%～98.3%）、HSA 濃度が正常値よりも低い特定の病態生理学的条件下では、ロナファルニブの総結合率は影響を受けないことが示唆された。

2.6.4.4.2 組織分布

2.6.4.4.2.1 有色ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の組織分布

[^{14}C]-ロナファルニブの 0.4%（w/v）MC 溶液を絶食下の Long Evans ラットに 30 mg/kg の用量で単回経口投与後、ロナファルニブの組織分布を測定した（SN96558）。投与後 1、4、12、24、48、72 及び 168 時間に組織中の放射能を LSS により測定した（3 匹/性/試料採取時点）。その結果、腎周囲脂肪、脊髄（投与後 1 時間）、ハーダー腺（投与後 12 時間、雌のみ）を除くすべての組織で、投与後 4 時間までに最高濃度に達し、その後は組織中の放射能濃度は徐々に低下した（表 2.6.4.4-2）。投与後 4 時間に放射能濃度が最も低かった組織は、脳、脊髄、腎周囲脂肪及び精巣であった。雌では、t_{max} 後の放射能濃度が雄よりわずかに高かった。雌雄どちらでも肝臓、副腎、膵臓、胆管及び腎臓で放射能濃度が最も高くなった（消化管を除く）。投与後 4 時間では、投与量の 5%～8%が肝臓に存在し、残りの組織の中で投与量の 1%を超える量が含まれていたのは骨格筋及び非有色皮膚のみであった。組織／血漿比は、雌雄ともに肝臓及び副腎で最も高かった。有色組織への明らかな結合は認められなかった。雄性ラットにおける投与後 24 時間の有色及び非有色皮膚中の放射能濃度は、それぞれ 0.207 µg eq./g 及び 0.170 µg eq./g であった。雌では、それぞれ 0.579 µg eq./g 及び 0.392 µg eq./g であった。有色及び非有色皮膚の放射能濃度は、雌雄ともに投与後 168 時間までに BLQ となった。全身オートラジオグラフィーに基づくオートラジオグラフィー分布データは、試験の組織切除部に見られた[^{14}C]-ロナファルニブ由来放射能の分布傾向と一致していた。

表 2.6.4.4-2 ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の主要組織中放射能濃度

組織	放射能濃度（μg eq./g）[a]		組織：血漿比	
	雄	雌	雄	雌
肝臓	64.7	45.5	14.7	11.2
副腎	33.1	37.9	7.49	8.89
膵臓	23.0	31.2	5.30	7.73
胆管	21.2	15.9	4.91	3.91
腎臓	17.1	17.3	3.90	4.06
腎周囲脂肪	1.11	1.26	0.258	0.270
精巣	0.605	NA	0.139	NA
脊髄	0.201	0.203	0.046	0.041
脳	0.200	0.247	0.046	0.060

NA = 該当せず

a 投与後 4 時間

2.6.4.4.2.2 ラットにおけるロナファルニブ反復経口投与後の脳／血漿比

ロナファルニブを非絶食下の雄性 Sprague Dawley ラットに 0（0.4% w/v HPMC）、30、60 又は 90 mg/kg の用量レベルで 1 日 2 回、8 日間反復経口投与し、ロナファルニブの脳／血漿濃度比を求めた（SN04935）。その結果、Day 8 の投与前、投与後 2 及び 8 時間にラット（n=5/時点）から血液及び脳試料を採取した。その結果、血漿及び脳中のロナファルニブ濃度は、30～60 mg/kg の範囲で用量依存的に上昇したが、60～90 mg/kg の範囲では同程度であった。ロナファルニブの脳透過性は低～中等度であった。AUC の脳／血漿比は、各用量で約 6.5%であった。

2.6.4.4.2.3 サルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の組織分布

[^{14}C]-ロナファルニブの 0.4%（w/v）MC 溶液（15 mg/kg）を非絶食下のカニクイザルに単回経口投与後、ロナファルニブの組織分布を QWBA により測定した（SN96559）。投与後 168 時間（n=3/性）、768 時間後（n=1、雄）及び 1344 時間（n=1、雄）に組織内放射能を測定した。168 時間時点では、[^{14}C]-ロナファルニブは雌では評価したすべての組織に分布していたが、雄ではハーダー腺、大腸、骨格筋及び精巣で放射能濃度が BLQ となった。しかしながら、全体的には[^{14}C]-ロナファルニブの性特異的な分布はほとんどなかった。薬物由来放射能の分布は肝臓、小腸及び眼で最も高かった。雌では胆汁にも高濃度の放射能が認められたが、雄では認められなかった。肺及び骨格筋への分布は雌雄ともに少なかった。投与後 768 時間時点で評価した雄では、褐色脂肪、眼、唾液腺及びリンパ節を除くほとんどの組織で放射能濃度が低下していた。雄の大腸では投与後 168 時間時点では LLOQ を超える放射能は検出されなかったが、投与後 798 時間時点では認められた。投与後 1344 時間までに分析した 21 組織中 12 組織でロナファルニブは BLQ に低下しており、投与後 768 時間時点と比較して放射能の低下が認められなかった組織は、褐色脂肪、皮膚

及びリンパ節のみであった。評価した組織中放射能濃度の集計を表 2.6.4.4-3 に示す。

表 2.6.4.4-3　カニクイザルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の組織中放射濃度

組織	放射能濃度（ng eq./g）			
	雌 168 時間	雄 168 時間	雄 768 時間	雄 1344 時間
副腎	451	345	168	86.5
胆汁	3990	NI	461	71.7
骨髄	259	134	0	0
褐色脂肪	499	619	300	437
眼	2030	1020	1070	539
ハーダー腺	317	0	0	0
腎臓	565	523	102	41.0
大腸	235	0	438	0
肝臓	2600	3110	702	312
肺	151	117	0	0
リンパ節	466	569	809	736
心筋	286	189	0	0
膵臓	511	506	174	70.5
唾液腺	720	257	276	0
骨格筋	150	0	0	0
皮膚	1050	709	325	496
小腸	1460	2210	0	0
脾臓	317	230	78.5	0
胃	699	684	0	0
精巣	NA	0	64.9	0
胸腺	256	172	0	0
子宮	210	NA	NA	NA

NA = 該当せず、NI = 確認されず

注：BLQ（LLOQ = 41.0 ng eq./g）の濃度には値として 0 を割り当てた。

さらに、[^{14}C]-ロナファルニブの 0.4%（w/v）MC 溶液を 30 mg/kg で絶食下の雄性カニクイザル（n=2）に単回経口投与する組織分布試験を非 GLP 下で実施した（SN00039）。薬物由来放射能の定性的組織内分布及び滞留を、投与後 4 時間（n=1）及び 28 日間（n=1）に QWBA により評価した。投与後 4 時間時点で屠殺したサルのオートラジオグラフでは眼周囲に放射能の環状の限局が認められたため、対側の眼の切片をミクロオートラジオグラフィーで処理し、眼内細胞における

放射能分布位置の特徴を明らかにした。放射能の血液細胞への分布についても検討した。また、両動物から尿及び糞便を採取し、[^{14}C]-ロナファルニブの排泄経路を評価した。これらの結果については 2.6.4.7.2 項で考察する。

経口投与後、[^{14}C]-ロナファルニブは速やかに吸収され、薬物由来放射能は投与後 4 時間以内に広範囲の組織に分布した。放射能濃度が最も高かったのは、胆嚢、肝臓、胃壁、心筋、副腎、膵臓、腎臓及び小腸・胃内容物であった。他の組織のほとんど（網膜を含む）では、放射能濃度は中程度であり、例外として骨、脳、松果体及び脊髄では放射能濃度が低かった。眼（硝子体）では放射能濃度は検出されなかった。小腸に高濃度の放射能が認められたが、これは未吸収の[^{14}C]-ロナファルニブであった可能性が高い。投与後 28 日では中濃度の薬物由来放射能が網膜及び肝臓に残存しており、低濃度の放射能が副腎、骨髄、胆嚢、ハーダー腺、心筋、消化管壁、腎臓、リンパ節、唾液腺、皮膚、脾臓及び胃壁に認められたことから、[^{14}C]-ロナファルニブがこれらの組織で長期間滞留することが示された。投与後 4 時間のサルの対側眼のミクロオートラジオグラフィーのデータから、網膜の全層に粒状物質（すなわち薬物由来放射能）が含まれていることが示された。投与後 4 時間及び 28 日の血液／血漿比は、それぞれ 0.68 及び 0.74 であり、[^{14}C]-ロナファルニブ由来放射能の赤血球への分配が少ないことが示唆された。

2.6.4.5 胎盤通過試験

2.6.4.5.1 妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の胎盤通過試験

[^{14}C]-ロナファルニブ（30 mg/kg）の 0.4%（w/v）HPMC 溶液を、絶食下の妊娠 Sprague Dawley ラット（n=2～3/時点）に対して妊娠 18 日目に単回経口投与し、組織中のロナファルニブ由来の総放射能濃度を測定した（SN00508）。投与後 2、6、8、12、24 及び 48 時間に、組織切片中のロナファルニブ由来放射能を、放射能分析を用いて（n=3/時点）及び全身オートラジオグラフィー（n=2/時点）により測定した。その結果、経口投与後、放射能分析及び全身オートラジオグラフィーのどちらで測定しても[^{14}C]-ロナファルニブは吸収され、薬物由来放射能が組織に広く分布していた。全般的に、いずれの方法も雌性ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ由来放射能の吸収及び分布に同様の傾向が示された。胎児血液中の放射能濃度から、経口投与後に胎児の薬物由来物質への曝露が確認された（詳細は 2.6.4.3.2.2 項参照）。薬物由来放射能の大部分は親動物の消化管及び内容物に認められ、糞便を介して排泄された（詳細は 2.6.4.7.1 項参照）。放射能分析を用いた場合、母動物及び胎児のほとんどの組織で、それぞれ投与後 6 時間及び 8 時間までに最高放射能濃度に達した（表 2.6.4.5-1）。消化管を除くと、母動物の肝臓、腎臓、肺及び心臓で放射能濃度が最も高く、脳で最も低かった。母動物と同様に、胎児の肝臓、腎臓、肺、心臓及び脳に放射能が検出された。全身オートラジオグラフィーを用いた場合、ほとんどの組織中の薬物由来放射能は、母動物で投与後 2 時間、胎児で投与後 6 時間に最高濃度に達した（表 2.6.4.5-2）。母動物の肝臓、心臓、腎臓において放射能が最も高かった（消化管壁及び内容物を除く）。胎児では、副腎、肝臓、腎臓、肺、心臓及び脳に放射能が検出された。母動物の脳から回収された放射能濃度が低かったことから、薬物由来放射能の血液脳関門透過性は低かったことが示唆された。胎児血液及び臓器中の放射能濃度は母動物よりも低かったが、両方の方法で胎児の血液及び組織中で放射能が検出されたことから、ロナファルニブを妊娠ラットに単回経口投与後、ロナファルニブ

関連物質が胎盤を介して胎児に移行したことが示唆された。全般的に、胎児の組織中放射能濃度は母動物の組織よりも遅れて最高値に達したことから、薬物由来放射能は遅れて胎盤を通過することが示された。さらに、母動物及び胎児の血液及び組織中の薬物由来放射能は、いずれも最高濃度到達後に減少し、投与後 48 時間までに低下するか検出下限未満となったことから、薬物由来放射能の長時間の滞留はないことが示唆された。

表 2.6.4.5-1　妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の母動物及び胎児の主要組織中放射能濃度－放射能分析

組織	放射能濃度（ng eq./g）					
	2 時間	6 時間	8 時間	12 時間	24 時間	48 時間
肝臓	49,100	42,100	33,400	13,000	4970	2150
胎児肝臓	1210	1590	1550	555	115	38.2
肺	10,500	11,900	10,100	4180	799	333
胎児肺	523	622	623	228	20.4	0
腎臓	20,200	20,200	16,700	6040	1460	687
胎児腎臓	383	535	589	0	0	0
脳	235	344	325	59.3	0	0
胎児脳	337	351	409	160	18.7	0
心臓	13,000	12,800	10,400	3620	588	318
胎児心臓	0	86.0	108	0	0	0
血液	1810	2070	1540	568	104	33.2
胎児血液	200	239	283	68.1	0	0

表 2.6.4.5-2 妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の母動物及び胎児の主要組織中放射能濃度－全身オートラジオグラフィー

組織	放射能濃度（PSL/mm^2）					
	2 時間	6 時間	8 時間	12 時間	24 時間	48 時間
副腎	NI	NI	NI	NI	NI	NI
胎児副腎	10.4	11.0	5.37	NI	NI	NI
肝臓	247	187	85.4	68.4	23.7	9.57
胎児肝臓	7.80	8.08	4.45	4.65	2.50	BLQ
腎臓	79.9	55.4	29.1	20.2	6.89	3.22
胎児腎臓	3.91	7.04	3.31	NI	NI	NI
肺	40.1	35.9	18.8	14.3	4.42	2.35
胎児肺	4.63	6.26	NI	4.23	BLQ	NI
血液／心臓	18.9	14.8	7.24	7.77	2.58	1.86
胎児血液／心臓	3.65	6.19	2.95	2.47	NI	NI
脳	3.44	3.23	2.40	BLQ	BLQ	BLQ
胎児脳	3.68	5.12	3.20	2.63	2.00	NI

NI = 確認されず、PSL/mm^2 = 1 平方ミリメートル当たりの発光強度

2.6.4.6 代謝

2.6.4.6.1 *In vitro* 代謝試験

2.6.4.6.1.1 マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞を用いた代謝試験

マウス（CD-1）、ラット（Sprague Dawley）、サル（雄性カニクイザル）及びヒトの肝細胞におけるロナファルニブの代謝物プロファイルを検討した（SN99118）。本試験では、雄の肝臓組織から新たに採取したマウス及びラットの肝細胞、ゲルマトリックス（Vidacyte®ゲル）に含まれるラット及びサルの肝細胞、並びに凍結保存ヒト肝細胞を使用した。要約すると、[^{14}C]-ロナファルニブ（2 µmol/L 又は 50 µmol/L）をマウス、ラット、サル、ヒトの肝細胞（1×10^6 cell/mL）と共に 37°C で 5 時間インキュベートした。インキュベート後、急速冷凍（－80°C）で反応を停止させ、インキュベーション混合物を固相抽出し、薬物由来放射能の回収を LC-MS で測定した。その結果、ロナファルニブはラット及びサルの肝細胞により広範に代謝され、それほど広範ではないがマウス及びヒトの肝細胞でも代謝された。[^{14}C]-ロナファルニブをマウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞とインキュベートした後、合計 32 種類の代謝物を同定した。最も一般的な代謝経路は、酸化、脱水素化、あるいはこれら 2 つのプロセスの組み合わせであった。また、全動物種を通じて代謝物の大部分は、側鎖ピペリジン環領域の変化を伴っていた（図 2.6.4.6-1）。一部の代謝物では被験物質の他の部分にも変化が生じていた。ヒトに特異的な代謝物は検出されなかった。

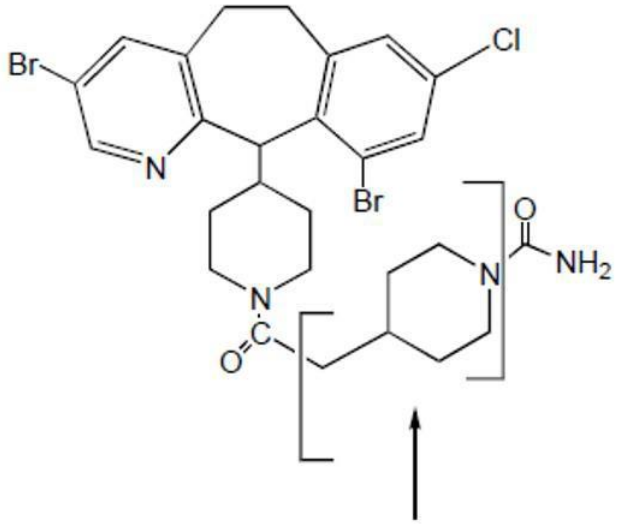


図 2.6.4.6-1　ロナファルニブの側鎖ピペリジン環

注：矢印は代謝酵素による修飾を最も受けやすい部位

なお、いくつかの薬物由来物質は検出されなかったが、クロマトグラム上で総放射能量の 2%を超える単一の未検出の代謝物はなかった。ラジオクロマトグラムの積分ピークの 5%を超える代謝物の一覧を表 2.6.4.6-1 に示し、対応する構造を図 2.6.4.6-2 に示す。その後、別の追跡調査試験（SN01080）で、SN99118 において代謝物として記載されていた M25 及び M32 が実際には試料分析のアーチファクトであることが実証された。これまで m/z 635 の代謝物と考えられていた M25 は、質量分析計のイオン源における M26（m/z 653）の簡易脱水により形成されたアーチファクトであることが代わりに明らかになった。さらに、M32 は、メタノールを使用した試料調製中に M26 から生成されるアーチファクトのメトキシル化化合物と判定された。また、確認された M-2 代謝物である M33 は M26 の脱水により試料処理中に形成されることがありえ、M26 及び M33 は試料処理時の水分の損失又は獲得により相互変換可能である。

表 2.6.4.6-1 マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞とのインキュベーション後の[^{14}C]-ロナファルニブの代謝物

化合物 [a]	保持時間 [b] (分)	m/z	Δ[c]	放射活性（%）				
				マウス	ラット [d]	ラット [e]	サル	ヒト
M8 [RM2, RM14; M10]	21.1	669	32	5.7	2.8	5.1	11.8	3.6
M10 [SCH 496528; RM4; MM12]	23.0	653	16	<1	6.3	5.5	7.2	2.4
M18 [RM1b, MM26, MM38a]	40.7	651	14	1.8	5.3	9.3	2.9	<1
M26 [SCH 629153; RM25; MM33]	51.4	653	16	19.2	22.1	16.7	15.1	12.5
ロナファルニブ	58.2	637	-	55.0	36.7	16.5	20.7	61.2
M33 [SCH 441746; RM30; MM38]	61.6	635	-2	3.8	5.9	2.7	3.1	4.9

[a] プロファイル-放射能の 5%を超える化合物。保持時間 31.7 分（653 m/z）に、最高 4.0%の濃度で M16（SCH 496530、RM12、MM24）が特定された

[b] 保持時間はサル肝細胞から得られたデータに基づいている

[c] ロナファルニブとの m/z の差

[d] 新たに採取した肝細胞

[e] ゲルマトリックス中の肝細胞

“-“= 評価せず

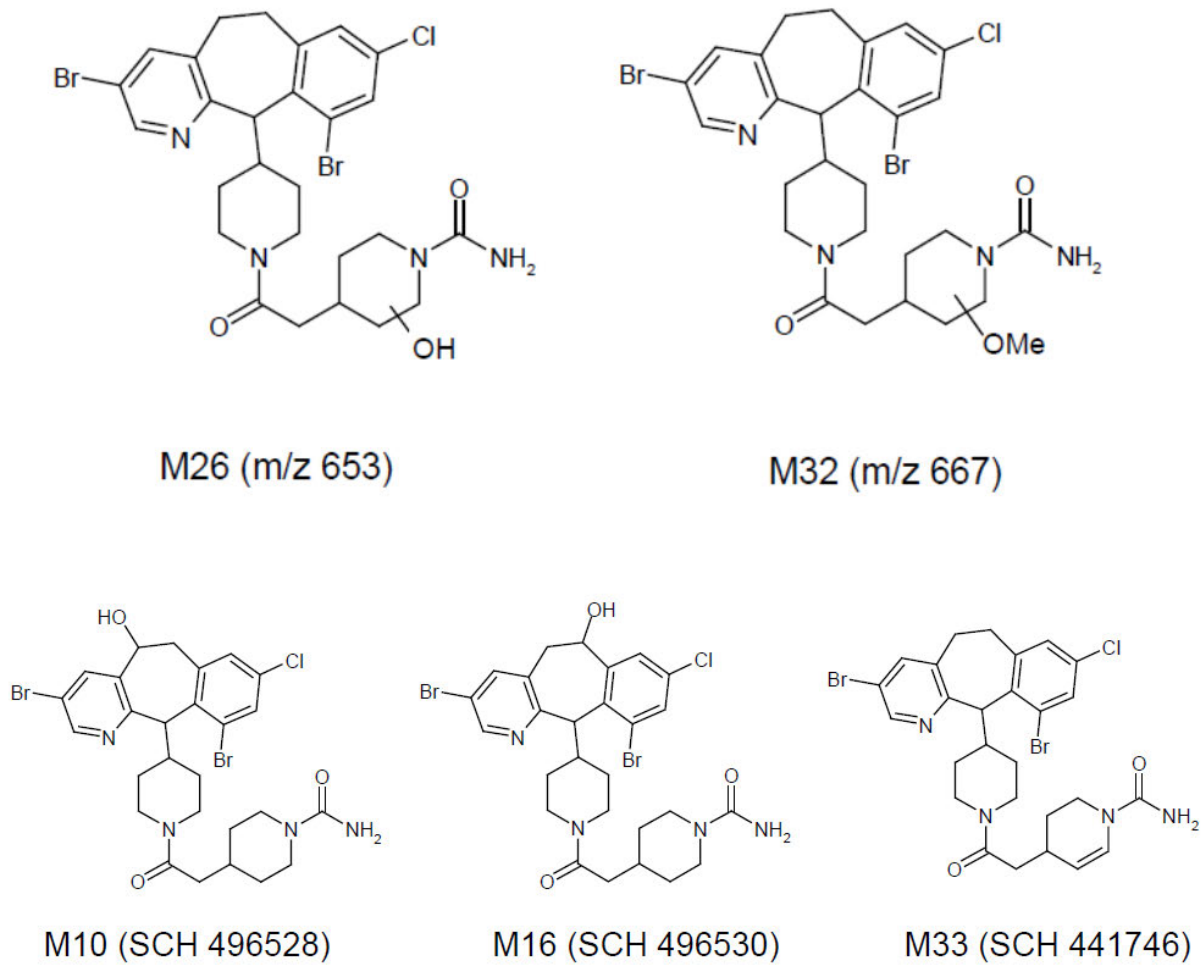


図 2.6.4.6-2　ロナファルニブ代謝物の構造

注：M26 は SCH 629153、RM25、MM33 に相当し、M10 は RM4、MM12 に相当する。M16 は RM12、MM24 に相当し、M33 は RM30、MM38 に相当する。

2.6.4.6.1.2　シトクロム P450 の表現型解析

ロナファルニブの代謝及びヒト代謝物の生成に関与する CYP450 を特定するため、いくつかの *in vitro* 反応表現型解析試験を実施した（15EIGEP1、SN98277）。それらの試験を以下に要約する。

非 GLP 試験において、組換えヒト CYP450 分子種を用いる方法、並びにヒト肝ミクロソームと CYP 選択的化学阻害剤を用いる方法の 2 通りの *in vitro* の方法を用い、ロナファルニブの代謝における CYP450 酵素（CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A）の役割を評価した（15EIGEP1）。

最初に、ヒト肝ミクロソーム（HLM）においてロナファルニブの代謝安定性を評価した。ロナファルニブ（1 µmol/L）を 0.5 mg/mL のプールした HLM と共にインキュベートし、0、10、20、30 及び 60 分時点で溶液の試料を採取し、HPLC で分析した。HLM においてロナファルニブの $t_{1/2}$

の実測値は 10 分未満であり、クリアランス率は 0.223 mL/min/mg protein であった。

組換えヒト CYP450 酵素を用いた CYP 反応表現型解析アッセイにおいて、ロナファルニブ（1 μmol/L）を一連の組換えヒト酵素（20 pmol/mL）と共にインキュベートした。0、5、10、30 及び 60 分時点で試料を採取し、HPLC で分析した。この方法による表現型解析では、CYP3A4（19 μL/min/mg liver protein、寄与率 43%）及び CYP2C9（14 μL/min/mg liver protein、寄与率 32%）がロナファルニブの代謝を担う主要な分子種であることが示唆されたが、CYP2C8（4.4 μL/min/mg liver protein、寄与率 10%）、CYP2C19（2.3 μL/min/mg liver protein、寄与率 5.3%）、CYP2E1（3.0 μL/min/mg liver protein、寄与率 6.9%）も寄与している可能性がある。別の CYP 反応表現型解析では、ロナファルニブ（1 μmol/L）を CYP 選択的阻害剤の存在下又は非存在下で HLM（0.5 mg/mL）と共にインキュベートした。0、5、10、30 及び 60 分時点で試料を採取し、HPLC で分析した。この方法による表現型解析から、HLM におけるロナファルニブの代謝が主に CYP3A によるものであることを示唆されたが、CYP1A2 及び CYP2A6 も寄与している可能性がある。これらの評価を合わせると、ロナファルニブが主に CYP3A の作用を介して速やかに代謝されることが示唆されたが、CYP1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2E1 を含む他のいくつかの CYP 分子種が関与している可能性がある。

別の非 GLP 試験では、HLM 及び組換えヒト YP450 supersome を用いてロナファルニブの *in vitro* 酸化代謝における CYP450 酵素の役割を評価し、代謝物の生成を評価した（SN98277）。HLM 及び組換えヒト CYP450 supersome と共にインキュベートしたときのロナファルニブ代謝物生成の要約を表 2.6.4.6-2 に示す。代謝と酵素活性の相関分析及び CYP450 選択的阻害の影響に基づき、ロナファルニブの 2 種類の主要代謝物（M25 及び M33）及び 2 種類の微量代謝物（M8 及び M26）は CYP3A4 及び CYP3A5 を介して生成され、別の微量代謝物 M10 は CYP2C8 を介して生成されることが、全体のデータから示唆された。

表 2.6.4.6-2　ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP450 supersome と共にインキュベートした時のロナファルニブ代謝物

代謝物	m/z	保持時間	Δ[a]	HLM	CYP450 酵素			
					CYP1A1	CYP2C8	CYP3A4	CYP3A5
M8 [RM2, RM14; MM10]	669	21.6	+32 (+2O)	+	-	-	微量	微量
M10 [SCH 496528; RM4; MM12]	653	23.1	+16 (+O)	+	-	+	微量	微量
M25	635	51.9	-2 (-2H)	+	-	-	+	+
M26 [SCH 629153; RM25; MM33]	653	51.9	+16 (+O)	+	-	-	-	-
M32	635	59.7	-2 (-2H)	-	-	-	+	+
M33 [SCH 441746; RM30; MM38]	635	61.6	-2 (-2H)	+	+	-	+	+

- = 代謝物なし、+ = 代謝物生成あり

[a] ロナファルニブとの m/z の差

注：その後、別の追跡調査試験（SN01080）で、SN99118 及び SN98277 において代謝物として記載されていた M25 及び M32 が実際には試料分析のアーチファクトであることが実証された。これまで m/z 635 の代謝物と考えられていた M25 は、質量分析計のイオン源における M26（m/z 653）の簡易脱水により形成されたアーチファクトであることが代わりに明らかになった。さらに、M32 は、メタノールを使用した試料調製中に M26 から生成されるアーチファクトのメトキシル化化合物と判定された。また、確認された M-2 代謝物である M33 は M26 の脱水により試料処理中に生成されることがありえ、M26 及び M33 は試料処理時の水分の損失又は獲得により相互変換可能である。

2.6.4.6.2　*In vivo* 代謝試験

2.6.4.6.2.1　ラットにおける代謝試験

非絶食下の Sprague Dawley ラットに、[^{14}C]-ロナファルニブを 0.4% MC 溶液に混合して 30 mg/kg の用量で単回経口投与又は DMSO の 20%（w/v）HPβCD 溶液［2：3（v/v）の比］に混合して 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与し、ロナファルニブの代謝プロファイルの特徴を明らかにした（SN96557）。選別した血漿、尿及び糞便試料を性別、時点及び投与経路別にプールし、LC-MS/MS 及び LC-MS／ラジオメトリーを用いて未変化体及び代謝物の有無を分析した。その結果、ロナファルニブは経口又は静脈内投与後に広範に代謝され、血漿、尿及び糞便中に合計 30 種類の代謝物が特定された。ほとんどの代謝物は側鎖ピペリジン環の構造変化の結果として生成されたものである。ロナファルニブのラットにおける生体内推定代謝経路を図 2.6.4.6-3 に示す。親薬物であるロナファルニブが血漿中総放射能の主な寄与因子であった（経口投与で 81%～91%、

静脈内投与で 62%～100%)。両投与経路間の代謝プロファイルに定性的差は認められなかった。最も多くみられた代謝変換は、RM4（M10、SCH 496528、MM12)、RM12（M16、SCH 496530、MM24)、RM25（M26、SCH 629153、MM33）の生成に至った酸化、並びに RM30（M33 とも呼ばれる)、SCH 441746、MM38 の生成に至った脱水素化であった。1 種類の代謝物（RM2）は、ジヒドロキシル化により生成された。また、血漿中に以前は検出されなかった代謝物（RM20a 及びRM26b）も一部特定された。生成された代謝物に性差はなかったが、ロナファルニブ及び代謝物の相対量に差が認められた。尿中で最も多くみられた生体内変化は酸化（RM4、RM10a、RM11、RM12）であった。いくつかの未知のピークが検出され、プロファイルの最大 17%を占めたが、この経路から排泄される薬物は微量であったため（経口投与で 0.18%、静脈内投与で 0.47%)、単一の代謝物が投与量の 0.47%を超えることはなかった。

単回経口投与後に糞便中に認められたロナファルニブの割合は、雄で投与量の 23.3%、雌で 45.4%であった。静脈内投与後に糞便中に認められたロナファルニブの割合は、雄で投与量の 10.9%、雌で 24.8%であった。全体では糞便中で 29 種類の代謝物が特定され、その大部分は酸化、脱水素化、あるいはそれら 2 つの何らかの組み合わせによる代謝を介して生成された。また、スルホン化もある程度認められた。糞便中に過去に検出されなかった代謝物が特定され、その内訳は RM2a、RM3a、RM10a、RM17a、RM17b、RM25a、RM26a、RM26b 及び RM26c であった。いくつかの物質は特徴を明らかにできなかったが、投与量の 1.84%を超えるものはなかった。代謝物プロファイルには投与経路と関連した差は認められなかったが、RM2a 及び RM3 は雄での糞便のみ検出され、RM2b は雌での糞便のみで検出されたように性別に関連した差が認められた。

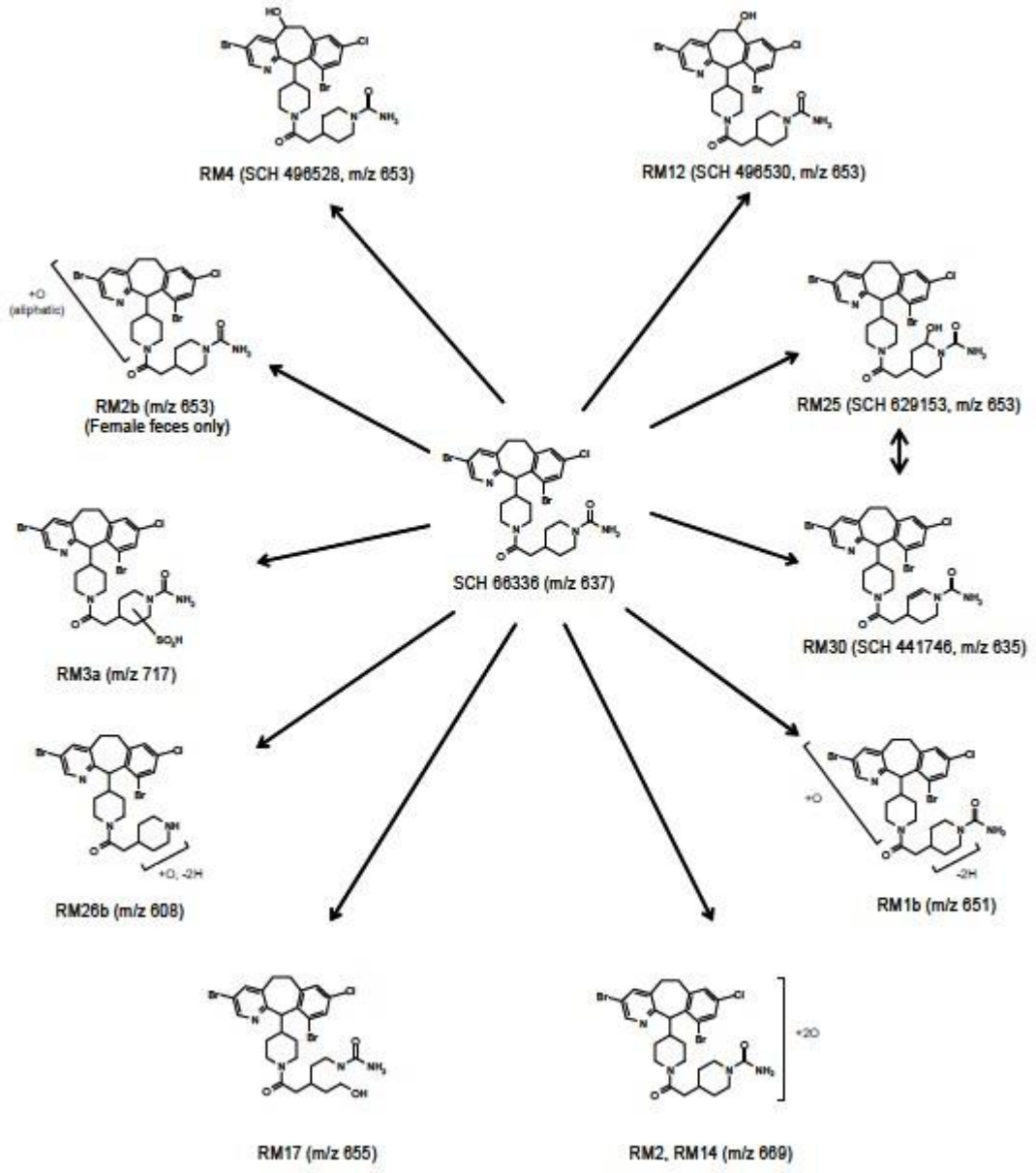


図 2.6.4.6-3　ロナファルニブのラットにおける生体内推定代謝経路

SCH 66336：ロナファルニブ

また、[^{14}C]-ロナファルニブの 0.4% MC 溶液を胆管カニューレ挿入 Sprague Dawley ラットに 30 mg/kg の用量で単回経口投与し、ロナファルニブの胆汁での代謝プロファイルの特徴を明らかにした（SN97428）。投与後 0～2、2～4、4～6、6～8、8～24 及び 24～48 時間の各間隔において胆汁を採取した。逆相高速液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）を用い、未処理の胆汁から薬物由来放射能の代謝物プロファイルを得た。その結果、インラインラジオメトリー検出器及び LC-MS による薬物由来物質の同時検出から、[^{14}C]-ロナファルニブは広範に代謝されることが示された。全体で 35 種類の代謝物が検出され、最も多く認められた生体内変化は、酸化（+O 又は +16）、脱水素化（-2H 又は-2）、あるいはそれら 2 種類のプロセスの組み合わせであった。投与放射能量の 1%超に相当する全代謝物から得られた LC-MS データを表 2.6.4.6-3 に要約する。ラット胆汁中の代謝物プロファイルに、性別と関連した顕著な差は認められなかった。結果は、

[^{14}C]-ロナファルニブを投与した胆管カニューレ挿入ラットを対象とした予備試験（SN98257）とおおむね一致している。

表 2.6.4.6-3　ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の胆汁中代謝物

化合物	保持時間 [a]（分）	m/z	Δ[b]	用量に対する割合（%）	
				雄	雌
不明	14.2～19.6	-	-	2.0	1.0
RBM2[c]	21.1	699	+32（+2O）	1.1	0.55
RBM4[c]	23.0	653	+16（+O）	1.3	2.1
RBM17[c]	41.4	651	+14（+O-2H）	2.0	1.1
RBM26[c]	51.5	635	-2（-2H）	3.5	3.8
ロナファルニブ	58.6	637	-	1.7	6.9
その他の微量代謝物 [d]	-	-	-	8.0	6.4

[a] 雄性ラット胆汁の LC-MS クロマトグラムから得られた保持時間

[b] 未変化体に対する質量対電荷比（m/z）の変化

[c] RBM はラット胆汁中代謝物を表している

[d] 全微量代謝物（それぞれ放射能投与量の 1%未満）の合計

2.6.4.6.2.2　サルにおける代謝試験

非絶食下のカニクイザルに、[^{14}C]-ロナファルニブを 0.4%（w/v）MC 溶液に混合して 15 mg/kg の用量で単回経口投与又は DMSO の 20%（w/v）HPβCD 溶液［2：3（v/v）の比］に混合して 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与し、ロナファルニブの代謝プロファイルの特徴を明らかにした（SN96559）。LC-MS/MS 及び LC-MS／ラジオメトリーを用いて、選別した血漿及び糞便試料における未変化体及び代謝物の有無を分析した。この経路で排泄された放射能量は投与量の 1.62%以下であったため、尿中代謝物のプロファイリングは行わなかった。その結果、ラットで特徴を明らかにしたプロファイルと同様に、最も多く認められた生体内変化経路は酸化、脱水素化、並びにそれらの過程の組み合わせであり、代謝物の大部分は側鎖ピペリジン環の構造変化によるものであった。サルにおけるロナファルニブの生体内推定代謝経路を図 2.6.4.6-4 に示す。血漿中及び糞便中のどちらでも代謝プロファイルは雌雄間及び投与経路間で類似していた。ロナファルニブがプロファイリングを実施した血漿中放射能の主要成分であった（経口及び静脈内投与後でそれぞれ 74%～80%及び 83%～91%）。最もよくみられた代謝変換は酸化（+O 又は+16）及び脱水素化（-2H 又は-2）であった。MM12（RM4、M10、SCH 496528）、MM24（RM12、M16、SCH 496530）、並びに MM33（RM25、M26、SCH 629153）からなる少なくとも 3 種類の代謝物は単独酸化により生成され、MM38（RM30、M33、SCH 441746）からなる 1 種類の代謝物は脱水素化により生成された。MM10 はジヒドロキシル化により生成された。糞便中では、ロナファルニブ及び共溶出する微量代謝物 MM35b（m/z 632）は、単回経口投与したサルの糞便抽出物の 11.4%（雄）及び 16.3%（雌）を占め、静脈内投与したサルの糞便抽出物の 7.51%（雄）及び 8.72%（雌）

を占めた。血漿と同様に、ほとんどの糞便中代謝物はロナファルニブの側鎖ピペリジン環領域における構造変化によるものであった。その他の生体内変化経路は、アミド開裂（MM28a）及び側鎖ピペリジン環の開環（MM7、MM12、MM16、MM27、MM40）であった。結果は、[^{14}C]-ロナファルニブを投与したサルを対象とした試験（SN98258）とおおむね一致している。

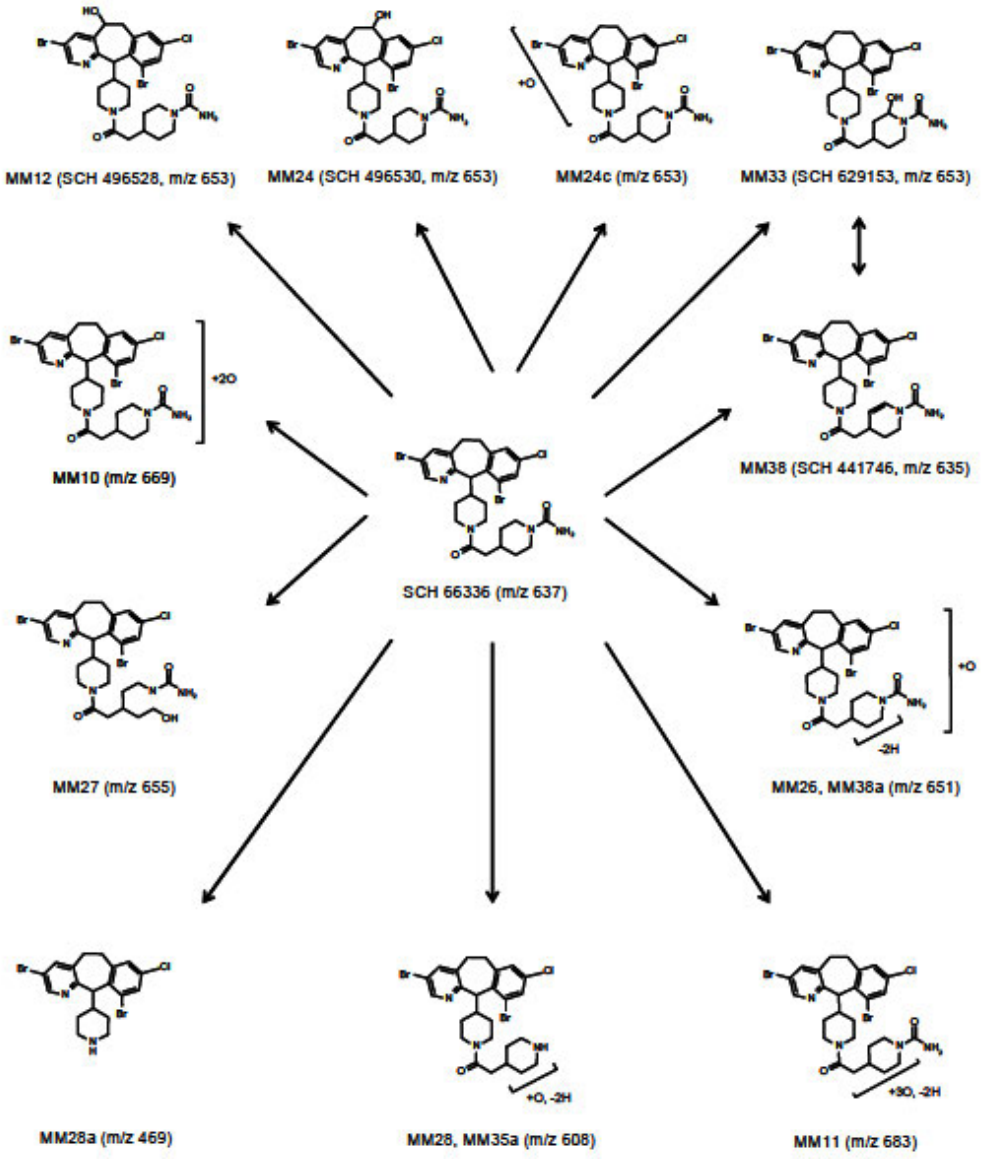


図 2.6.4.6-4　ロナファルニブのサルにおける生体内推定代謝経路

SCH 66336：ロナファルニブ

2.6.4.6.2.3　ヒトでの代謝試験

ヒトでは、未変化体のロナファルニブは、ロナファルニブ 100 mg の単回経口投与後 8 時間時点で、プロファイリングした血漿中に検出された放射能の約 50%を占めた（P00260 試験）。ヒトの血漿中で 2 種類の主要な代謝物 M26（MM33、RM25 及び SCH 629153）及び M33（MM38、RM30 及び SCH 441746）が同定された。側鎖ピペリジン環への酸素付加により生成される M26 及び脱水素化により生成される M33 は、ヒトで投与後 8 時間にプロファイリングされた血漿中に検出さ

れた放射能のそれぞれ 15.1%及び 13.9%であった。

2.6.4.6.3 薬物代謝酵素の誘導及び阻害

2.6.4.6.3.1 ロナファルニブによるシトクロム P450 酵素の誘導

ヒト肝細胞を用いて、ロナファルニブが CYP 分子種の CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A の酵素活性及び mRNA 発現を誘導する可能性を非 GLP 試験で評価した（14EIGEP1_Study 6）。最初の試験では、単一ドナーから採取した肝細胞を用いて、5 濃度（0.674、2.02、6.74、20.2 及び 67.4 µmol/L）のロナファルニブの細胞毒性を評価した。その結果、MTS アッセイによって細胞生存率を測定したところ、67.4 µmol/L のロナファルニブにおいて強い細胞毒性が認められた。さらに、CYP 酵素の誘導を評価するために、ドナー3 名から得られた肝細胞を 3 濃度（0.674、6.74 及び 20.2 µmol/L）のロナファルニブ及び CYP プローブ基質と共にインキュベートした。各 CYP 分子種の既知の誘導剤を陽性対照として使用し、溶媒対照の処置を同時に行い、LC-MS/MS により測定したプローブ基質の代謝物の生成量により CYP 活性を求めた。その結果、肝細胞ドナー1 及び 2 において、ロナファルニブは、検討したどの濃度でも CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A の酵素活性及び mRNA 発現を増加させなかった（溶媒と比較して 2 倍未満の変化、陽性対照の 20%未満）。肝細胞ドナー3 では、ロナファルニブの処置により CYP 酵素活性は上昇しなかったが、6.74 µmol/L で CYP2B6 の mRNA 発現が増加し（3.1 倍の誘導）、6.74 µmol/L 及び 20.2 µmol/L で CYP3A4 の mRNA 発現が増加した（それぞれ 14 倍及び 5.3 倍の誘導）。20.2 µmol/L のロナファルニブでは、肝細胞ドナー1 及び 2 の CYP 酵素分子種の酵素活性及び mRNA 発現が有意に減少した。ドナー3 でも同様の減少が認められたが、CYP1A2 についてのみであった（表 2.6.4.6-4）。この減少はロナファルニブの細胞毒性又は低い溶解性によるものではなく、CYP mRNA のダウンレギュレーション又は抑制、あるいは酵素活性の阻害、あるいはその両方の結果と考えられる。
これらのデータから、ロナファルニブが検討した濃度で CYP1A2 を誘導する可能性は低いことが示唆されるが、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA の誘導についてはドナー間のばらつきが大きく、本試験の条件下ではその可能性を除外することはできない。ロナファルニブは 20.2 µmol/L まで著しい細胞毒性はないことが示された。

表 2.6.4.6-4 ロナファルニブによる CYP mRNA 及び酵素活性の誘導

CYP 分子種	ドナー	ロナファルニブ濃度（μmol/L）	mRNA の誘導倍率 [a]	酵素活性の誘導倍率 [b]	生細胞率（%）[c]
CYP1A2	1	0.674	0.74±0.09	0.87	125
		6.74	1.0±0.47	0.49	94
		20.2	0.10±0.11	0.09	100
	2	0.674	0.69±0.04	0.87	132
		6.74	0.31±0.08	0.96	118
		20.2	0.02±0.01	0.48	111
	3	0.674	0.55±0.07	0.57	122
		6.74	0.51±0.16	0.76	125
		20.2	0.26±0.06	0.38	113
CYP2B6	1	0.674	0.96±0.17	1.4	107
		6.74	1.1±0.16	1.2	88
		20.2	0.07±0.003	0.36	90
	2	0.674	1.0±0.01	1.8	128
		6.74	0.91±0.21	1.5	119
		20.2	0.16±0.01	0.73	108
	3	0.674	0.87±0.08	0.78	111
		6.74	3.1±0.53	1.4	118
		20.2	1.5±0.19	0.96	97
CYP3A4	1	0.674	1.4±0.18	0.50	95
		6.74	1.7±0.26	0.35	83
		20.2	0.22±0.05	0.09	67
	2	0.674	1.4±0.29	0.38	111
		6.74	1.0±0.15	0.24	106
		20.2	0.25±0.03	0.14	86
	3	0.674	1.9±0.17	0.85	100
		6.74	14±0.41	0.84	115
		20.2	5.3±0.57	0.82	67

[a] mRNA の誘導倍率は溶媒対照で処置した細胞と比較したときのロナファルニブ処置細胞の正規化 mRNA レベルから算出した（n=3）。

[b] 酵素活性の誘導倍率は、溶媒対照処置細胞に対するロナファルニブ処置細胞の標準化酵素活性（3 回の測定から得られたプローブ基質代謝物の生成率）の比から算出した。

[c] 溶媒対照と比較した MTS の吸光度（%）

2.6.4.6.3.2 ロナファルニブによるシトクロム P450 酵素の阻害

In vitro 試験において、ヒト肝ミクロソーム（HLM）を用いて、10 μmol/L のロナファルニブが

CYP450 活性（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A）を阻害する可能性を評価した（14EIGEP1_Study3）。インキュベーション後、LC-MS/MS により測定した CYP プローブ代謝物生成量により CYP 酵素活性を測定した。その結果、ロナファルニブの阻害作用は CYP3A（プローブ基質のミダゾラムで測定した場合に 62%、テストステロンで測定した場合に 57%）及び CYP2C19（50%）に対して最も大きかった。その後の追跡調査試験において、HLM を、8 濃度（0～100 µmol/L）のロナファルニブ、さらには CYP3A 及び CYP2C19 の代謝のプローブ基質と共にインキュベートした（14EIGEP1_Study4）。ロナファルニブに対する IC_{50} 値は、CYP2C19、CYP3A（ミダゾラム）及び CYP3A（テストステロン）でそれぞれ 15、5.2 及び 11 µmol/L であった。最後に、これらの分子種の阻害の時間依存性を、IC_{50} のシフトのアプローチにより評価した（14EIGEP1_Study5）。8 濃度（0～100 mol/L）のロナファルニブを、NADPH の存在下及び非存在下で HLM と共に 30 分間プレインキュベートした。その後、上記と同様にミダゾラム、テストステロン、S-メフェニトインをプローブ基質として用いて CYP 酵素活性試験を実施し、代謝物を LC-MS/MS で定量した。CYP2C19、CYP3A（ミダゾラム）、CYP3A（テストステロン）について、IC_{50} シフト値はそれぞれ 0.59、16 及び 65 超と算出された。CYP2C19 に対するロナファルニブの IC_{50} のシフトは 1.5 未満であったことから、この分子種に対する阻害が時間依存的である可能性は低いと考えられたが、CYP3A に対する阻害は時間依存的である可能性が高く、そのため、ロナファルニブの代謝を介した阻害であると考えられる。ロナファルニブによる CYP 分子種に対する CYP 活性阻害の概要を表 2.6.4.6-5 に示す。

表 2.6.4.6-5 ヒト肝ミクロソームにおけるロナファルニブによる CYP 活性の阻害

CYP	プローブ基質	代謝物	阻害率（%）[a]	IC_{50}（µmol/L）[b]
CYP1A2	フェナセチン	アセトアミノフェン	11	>10
CYP2B6	ブプロピオン	OH ブプロピオン	17	>10
CYP2C8	アモジアキン	デスエチルアモジアキン	25	>10
CYP2C9	ジクロフェナク	4’-OH ジクロフェナク	28	>10
CYP2C19	S-メフェニトイン	4’-OH メフェニトイン	50	15
CYP2D6	ブフラロール	1’-OH ブフラロール	10	>10
CYP3A	ミダゾラム	1’-OH ミダゾラム	62	5.2
	テストステロン	6β-OH テストステロン	57	11

[a] n=2 の平均値。阻害率（%）の負の値は 0 として処理した。

[b] CYP2C19、CYP3A4（ミダゾラム）、CYP3A4（テストステロン）について、ロナファルニブを 0～100 µmol/L で試験し、IC_{50} 値を求めた。

同様に、別の CYP450 阻害試験において、HLM を、6 濃度（0～500 µmol/L）のロナファルニブ、さらには CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 代謝のプローブ基質と共にインキュベートした（SN00030）。その結果、CYP1A2、CYP2C19 及び CYP2D6 に対するロナファルニブの IC_{50} 値は 178 µmol/L 以上であった。ロナファルニブは CYP2C9 を阻害し、IC_{50} 値は 25 µmol/L であったが、この阻害作用はロナファルニブの代謝を介するものではないと判断された。ロナフ

ファルニブは CYP3A4（テストステロン）を阻害し、IC_{50} 値は 16 μmol/L であった（Ki=3.6 μmol/L）。また、ロナファルニブは、本試験で CYP3A4 に対してロナファルニブの代謝を介した阻害を示すことも明らかになった（Ki=2 μmol/L）（表 2.6.4.6-6）。

表 2.6.4.6-6　ヒト肝ミクロソームにおけるロナファルニブによる CYP 活性の阻害

CYP	プローブ基質	代謝物	IC_{50}（μmol/L）
CYP1A2	7-エトキシレゾルフィン	レゾルフィン	≥500
CYP2C9	ジクロフェナク	4’-OH ジクロフェナク	25
CYP2C19	S-メフェニトイン	4’-OH メフェニトイン	178
CYP2D6	デキストロメトルファン	O-デメチルデキストロメトルファン	234
CYP3A	テストステロン	6β-OH テストステロン	16

さらに、ロナファルニブ（0.2～50 μmol/L）が、HLM においてシトクロム P450 分子種 CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2D6 の可逆的、時間依存的又は可逆的かつ時間依存的な阻害剤となる可能性を検討した（CYP1838 R3）。本試験では、3 種類の実験条件下で（NADPH の存在下又は非存在下で 30 分間又は 0 分間のプレインキュベーション）、ロナファルニブ又は溶媒を HLM と共にプレインキュベートした。プレインキュベーション終了時に、CYP450 分子種に特異的なプローブ基質を添加し、残留 CYP450 活性を測定した。反応終了後、LC-MS/MS で代謝物のモニタリングを行い、溶媒対照と比較したときの代謝物生成量の減少を用いて各試験条件の IC_{50} 値を算出した。その結果、ロナファルニブは CYP2C8 の可逆的阻害剤であるが、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9 及び CYP2D6 の可逆的阻害剤ではないと考えられ、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2D6 の時間依存的阻害剤ではないことが示された。

2.6.4.6.3.3　ラットにおけるロナファルニブ反復投与後の薬物代謝酵素の誘導及び阻害

ロナファルニブを非絶食下の Sprague Dawley ラットに 30、90 又は 180 mg/kg/日の用量で 3 箇月間反復経口投与し、その後 5 週間の回復期間を設け、肝酵素誘導／阻害を評価した（SN96030）。主要群では雌雄各 8～15 匹、回復群では雌雄各 5 匹のラットについて、安楽死させた後に肝臓を摘出し、水分を除去して重量を測定し、各肝臓の切片を作成した。各群雌雄それぞれ 4 つの肝臓切片から得られたミクロソームを用いて、ミクロソームのタンパク質及び CYP450 含有量、並びにベンズフェタミン N-脱メチル化酵素、7-エトキシクマリン O-脱エチル化酵素、7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化酵素、7-ペントキシレゾルフィン O-脱アルキル化酵素の活性を測定した。その結果、雄では検討した全用量でミクロソームのタンパク質含有量が有意に増加し、90 mg/kg/日及び 180 mg/kg/日での相対肝重量の増加と相関していた。90 mg/kg/日及び 180 mg/kg/日での投与後にシトクロム P450 含有量が増加した。全用量で、ベンズフェタミン N-脱メチル化酵素及び 7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化酵素活性の非有意な上昇が認められた。また、全用量で 7-エトキシクマリン O-脱メチル化酵素及び 7-ペントキシレゾルフィン O-脱アルキル化酵素活性の有意な上昇が認められた。しかし、雌では、ミクロソームタンパク質

含有量、並びに肝臓の絶対重量及び相対重量が、180 mg/kg/日のみで有意に増加した。全群でCYP450 含有量が異常に少なく、対照値が既存の値をはるかに下回っていた（0.18±0.06 及び 0.53±0.11 nmol/mg microsomal protein）。それにもかかわらず、30 mg/kg/日では CYP450 含有量の有意な減少が認められ、180 mg/kg/日では有意な増加が認められた。シトクロム P450 の低値は、比較的低いミクロソーム酵素活性として現れた。30、90 及び 180 mg/kg/日では、ベンズフェタミン N-脱メチル化酵素及び 7-エトキシクマリン O-脱エチル化酵素活性の有意な上昇が認められた（30 mg/kg/日では 7-エトキシクマリン O-脱エチル化酵素のみ）。7-ペントキシレゾルフィン O-脱アルキル化酵素及び 7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化酵素の両酵素の活性は、30 mg/kg/日及び 90 mg/kg/日ではわずかに（非有意に）低下したが、180 mg/kg/日では有意に上昇した。全体的に、得られた結果は、雄では全用量で誘導反応を示唆しており、雌では混合誘導／阻害反応を示唆している。これらの作用は 5 週間の回復期間後に可逆性を示した。

2.6.4.6.3.4 サルにおけるロナファルニブ反復投与後の薬物代謝酵素の誘導及び阻害

ロナファルニブを非絶食下のカニクイザルに 15、30 及び 60 mg/kg/日の用量で 3 箇月間反復経口投与し、肝酵素の誘導／阻害を評価した（SN96612）。投与終了時に各群雌雄それぞれ 4 匹のサルについて、安楽死させた直後に肝臓を摘出し、水分を除去して重量を測定し、各肝臓の切片を作成した。各群雌雄それぞれ 4 つの肝臓切片から得られたミクロソームを用いて、ミクロソームのタンパク質及び CYP450 含有量、並びにベンズフェタミン N-脱メチル化酵素、7-エトキシクマリン O-脱エチル化酵素、7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化酵素、7-ペントキシレゾルフィン O-脱アルキル化酵素の活性を測定した。その結果、ロナファルニブの投与により混合型の誘導／阻害プロファイルが生じることが示された。全用量で、肝臓の絶対重量及び相対重量、ミクロソームのタンパク質及びシトクロム P450 含有量、並びにベンズフェタミン N-脱メチル化酵素及び 7-エトキシクマリン O-脱エチル化酵素活性の増加／上昇が認められた。30 mg/kg/日及び 60 mg/kg/日では、7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化酵素活性及び 7-ペントキシレゾルフィン O-脱アルキル化酵素活性の低下が認められた。30 mg/kg/日及び 60 mg/kg/日のロナファルニブの血漿中濃度の低下は、CYP450 誘導に加えて肝重量が増加したことの直接的な結果と考えられる（TK の詳細については 2.6.4.3.3.4 項参照）。

2.6.4.7 排泄

2.6.4.7.1 ラットにおける排泄試験

[^{14}C]-ロナファルニブを、非絶食下の Sprague Dawley ラット（n=3/性）に対して 0.4%（w/v）MC 溶液に混合して 30 mg/kg の用量で単回経口投与又は DMSO の 20%（w/v）HPβCD 溶液［2：3（v/v）の比］に混合して 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与した（SN96557）。また、絶食下の Long Evans ラットに対して 0.4%（w/v）MC 溶液に混合して 30 mg/kg の用量で単回経口投与し（SN96558）、その排泄を評価した。Sprague Dawley ラット及び Long Evans ラットに投与後、尿及び糞便を 0～8 時間、8～24 時間、その後 24 時間間隔で投与後 168 時間まで採取した。[^{14}C]-ロナファルニブと関連した放射能は LSS により測定した。その結果、Sprague Dawley ラット及び Long

Evans ラットに単回経口投与後、雌雄ともに速やかに排泄され、実質的に全てが排泄された。薬物由来放射能の糞便中排泄率は、Sprague Dawley ラットの雄で 102%、雌で 99.2%及び Long Evans ラットの雄で 103%、雌で 95.4%であった。回収率は尿中で 0.22%未満、屠体中で 0.3%未満であった。なお、Sprague Dawley ラットを用いた予備試験（SN98257）でも同様の結果が認められた。Sprague Dawley ラットに単回静脈内投与した後の排泄も速やかであったが、総回収率は単回経口投与時より低かった。投与した放射能の回収率は雄で 87.7%、雌で 87.4%であった。糞便での回収率は雄で投与量の 86.9%、雌で 86.7%であった。単回静脈内投与後に糞便中に薬物由来放射能が大量に存在したことから、胆汁中排泄、腸による分泌、あるいはその両方がロナファルニブ、代謝物、あるいはその両方の重要な排泄経路であることが示唆される。尿中及び屠体中の回収率は、いずれも 0.5%未満であった。

また、[^{14}C]-ロナファルニブ（0.4% HPMC 溶液中で 30 mg/kg）を絶食下の妊娠 Sprague Dawley ラット（n=3/時点）に妊娠 18 日目に単回経口投与し、その排泄を評価した（SN00508）。投与後 0～24 時間及び 24～48 時間に尿及び糞を採取し、投与後 48 時間にケージ洗浄液を採取した。その結果、排泄物中の放射能の総回収率は約 85%であった。経口投与量の合計 83.3%が糞便中に、0.110%が尿中及びケージ洗浄液中に排泄された。これらのデータに加え、消化管で高濃度の放射能が観察されたことから（2.6.4.4.2.3 項参照）、単回経口投与後の[^{14}C]-ロナファルニブの主な排泄経路が胆汁中排泄であることが示唆された。

2.6.4.7.2 サルにおける排泄試験

[^{14}C]-ロナファルニブを非絶食下のカニクイザル（雌雄 n=3/性）に 0.4%（w/v）MC に混合して 15 mg/kg の用量で単回経口投与するか、DMSO の 20%（w/v）HPβCD 溶液［2：3（v/v）の比］に混合して 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与して、その排泄を評価した（SN96559）。投与前、投与後 0～8 時間、8～24 時間、その後投与後 696 時間まで 24 時間間隔で、さらに投与後 1344 時間まで 72 時間間隔で尿及び糞便を採取した。[^{14}C]-ロナファルニブと関連した放射能は LSS により測定した。その結果、排泄物中の放射能の総回収率は約 90%であり、雌雄及び投与経路を通じて同程度であった。ラットと同様に、両投与経路で排泄の大部分は糞便によるものであった。ここでも糞便中に多量の放射能が存在したことから、胆汁中の排泄、分泌、あるいはその両方がロナファルニブ、代謝物、あるいはその両方の重要な排泄経路であることが示唆された。尿中回収率は投与放射能量の 1.62%以下であった。

また、[^{14}C]-ロナファルニブを絶食下の雄性カニクイザルに 30 mg/kg の用量で単回経口投与し、[^{14}C]-ロナファルニブ及び関連する放射能の排泄経路を検討した（SN00039）。投与後 28 日間にわたり 24 時間ごとに採取した試料から、放射能の尿及び糞便中排泄を測定した。その結果、排泄物中の放射能の総回収率は約 77.7%であった。経口投与量の合計 76.5%が糞便中に、1.2%が尿中に排泄された。排出された放射能の約 90%が投与後 7 日目までに糞便中に排泄されたため、投与後 28 日目に消化管壁に中濃度の薬物由来放射能が認められたことから腸肝再循環が少ないことが示唆された。以上のデータに加え、投与後 4 時間時点で胆嚢に高濃度の放射能が認められたことを考え合わせると（2.6.4.4.2.3 項参照）、単回経口投与後の[^{14}C]-ロナファルニブの主要排泄経路

は胆汁中排泄であることが示唆される。

2.6.4.7.3 授乳ラットにおける乳汁排泄

[^{14}C]-ロナファルニブを非絶食下の Sprague Dawley 授乳雌性ラット（雌 n=3）に 0.4%（w/v）MC に混合して 30 mg/kg の用量で単回経口投与し、その乳汁移行性を評価した（SN00499）。投与後 2、6、8、12、24 及び 48 時間の時点で試料を採取した。[^{14}C]-ロナファルニブと関連した放射能は LSS により測定した。その結果、授乳ラットの乳汁中放射能濃度は，最初の採取時点である投与後 2 時間で最も濃度が高く、その後減少し，投与後 48 時間には放射能は検出されなかった。投与後 2～12 時間における血漿中放射能濃度に対する乳汁中放射能濃度の比は 1.23～1.51 とほぼ一定で、乳汁中放射能濃度は血漿中放射能濃度と平行に推移していると考えられ，投与後 24 時間で 0.353 となり速やかに乳汁から消失することから、乳汁中への残留性はないと考えられた（表 2.6.4.7-1）。

表 2.6.4.7-1 授乳ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の血漿及び乳汁中放射能濃度

試料採取時点	放射能濃度（ng eq./mL）		放射能濃度比（乳汁/血漿）
	乳汁	血漿	
投与後 2 時間	5420	4430	1.24
投与後 6 時間	3920	3220	1.23
投与後 8 時間	3250	2410	1.36
投与後 12 時間	1470	1030	1.51
投与後 24 時間	125	157	0.353
投与後 48 時間	0	45.9	0

2.6.4.8 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.8.1 ヒトトランスポーターに対する阻害評価

In vitro 試験において、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1、OATP1B3、有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT 3、有機カチオントランスポーター（OCT）2、乳癌耐性プロテイン（BCRP）及び P 糖タンパク質（P-gp）からなるヒトトランスポーターの阻害剤としてのロナファルニブを評価した（14EIGEP1）。ロナファルニブが取り込みトランスポーターを阻害する可能性を評価するため、対象のトランスポーター（OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2）を導入したヒト胎児腎臓（HEK）293 細胞に、12 μmol/L のロナファルニブの存在下又は非存在下でインキュベートした。LC-MS/MS で定量化したプローブ基質の取り込みにより阻害を評価した。50%を超える阻害が認められた場合は、様々なロナファルニブ濃度でのトランスポーター阻害を評価し、IC_{50} を求めた。ロナファルニブによる排出トランスポーター（BCRP 及び P-gp）の阻害は、LC-MS/MS で定量化した、ロナファルニブの存在下及び非存在下で C2BBe1 細

胞単層を通過する適切な基質プローブの双方向輸送により評価した。50%を超える阻害が認められた場合は、単一方向アプローチ（基底外側膜から頂端膜側）により様々な濃度のロナファルニブのトランスポーター阻害を評価し、IC_{50} 値を求めた。その結果、ロナファルニブは、12 µmol/L では取り込みトランスポーターである OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 を顕著に阻害することはなかったが（それぞれ 34.1%、11.3%、0%、7.05%の阻害）、OATP1B1 を 50%以上阻害した（62.5%）。評価した排出トランスポーターである BCRP 及び P-gp は、いずれも 12 µmol/L で 50%を超える阻害を示した（それぞれ 93.9%及び 95.3%）。OATP1B1、BCRP 及び P-gp に対する IC_{50} は、それぞれ 6.69、1.45 及び 0.740 µmol/L であった。

さらに、別の *in vitro* 試験では、ロナファルニブのヒト取り込みトランスポーターOCT1 及び胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）阻害を評価した（CYP1838 R2B）。OCT1 を導入した HEK293 細胞及び BSEP を発現させた膜小胞を用い、プローブ基質の存在下で試験系を 0.03、0.1、0.3、1、3 及び 10 µmol/L のロナファルニブと共にインキュベートした。OCT1 については LSS により、BSEP については LC-MS/MS によりプローブ基質の取り込みを定量化し、輸送を介した取り込み率を求め、それを対照輸送活性と比較して IC_{50} 値を求めた。その結果、ロナファルニブは BSEP に対する阻害活性を示さなかったが、OCT1 を阻害し、IC_{50} は 0.797 µmol/L であった。

さらに、ヒト SLC 輸送体 MATE1 及び MATE2-K を導入した HEK293 細胞を用いて、ロナファルニブがそれらを阻害する可能性を評価した（CYP1838 R1）。放射標識したプローブ基質（[^{14}C]-メトホルミン及び[^{14}C]-テトラエチルアンモニウム）を、ロナファルニブ（0.03、0.1、0.3、1、3 及び 10 µmol/L）の非存在下及び存在下で SLC トランスポーター発現 HEK293 細胞及び対照細胞の両方と共にインキュベートした。その結果、ロナファルニブは MATE1 及び MATE2-K を介したプローブ基質の輸送を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 1.91 µmol/L 及び 2.55 µmol/L であった。ハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群及びプロセシング不全性のプロジェロイド・ラミノパチー患者の治療用量及びヒト曝露データを考慮し（115 mg/m^2 BID では C_{max}=1770 ng/mL 又は 2.77 µmol/L、150 mg/m^2 BID では C_{max}=2760 ng/mL 又は 4.32 µmol/L、Gordon et al, 2012）、0.01 に等しい fu 値を用いると、[C_{max}, u]/IC_{50} 比の評価から、ロナファルニブが MATE1（比=0.01–0.02）又は MATE2-K（比=0.01–0.017）トランスポーターの阻害を介して臨床で重大な DDI を引き起こす可能性は低いことが示された。結果の概要を表 2.6.4.8-1 に示す。

ロナファルニブは P-gp の基質であり（*in vitro*）また、ロナファルニブは P-gp、OCT1 及び MATE1 に対して阻害作用を示したことから、これらのトランスポーターにより輸送される他の薬剤の血中濃度に影響を与える可能性がある（*in vitro*）。

表 2.6.4.8-1　ロナファルニブによるヒトトランスポーター阻害

トランスポーター	試験系	プローブ基質	ロナファルニブ濃度（μmol/L）	ロナファルニブの最高濃度での阻害（%）	IC_{50}（μmol/L）
OATP1B1	HEK293細胞	アトルバスタチン	0.0494～12	62.5	6.69
OATP1B3			12	34.1	>12
OAT1		PAH	12	11.3	>12
OAT3		フロセミド	12	0[a]	>12
OCT1		[^{14}C]-テトラエチルアンモニウム	0.03～10	94.1	0.797
OCT2		1-メチル-4-フェニルピリジニウム・ヨージド	12	7.05	>12
MATE1		[^{14}C]-メトホルミン	0.03～10	90.7	1.91
MATE2-K		[^{14}C]-テトラエチルアンモニウム	0.03～10	72.1	2.55
BCRP	C2BBe1単層	クラドリビン	0.0494～12	93.9	1.45
P-gp		ジゴキシン		95.3	0.74
BSEP	膜小胞	タウロコール酸	0.03～10	0[a]	>10

[a] 阻害率（%）の負の値は、0 と設定した。

2.6.4.8.2　ヒトトランスポーターに対する基質評価

In vitro 試験において、ロナファルニブがヒト取り込みトランスポーターである OATP1B1 及び OATP1B3 の基質となる可能性を評価した（14EIGEP1）。HEK293 細胞に OATP1B1 及び OATP1B3 を導入し、細胞取り込みアッセイにおいてロナファルニブの基質性を評価した。導入細胞及びベクター対照を 3 濃度（0.647、6.47 及び 12 μmol/L）のロナファルニブと共に 2、5 及び 10 分間インキュベートした。その結果、ロナファルニブの取り込みは、すべての濃度でトランスポーター導入細胞とベクター対照導入細胞間でほぼ同一であったことから、ロナファルニブは OATP1B1 や OATP1B3 の基質ではないことが示された。

同様に *in vitro* 試験において、C2BBe1 細胞単層において双方向アプローチを用いて、ロナファルニブが排出トランスポーターの基質として作用する可能性を評価した。その結果、輸送阻害剤の非存在下では、頂端膜側から基底外側膜側（A-to-B）方向の[^{14}C]-ロナファルニブ移行の透過係数（P_{app}）は、0.647、6.47 及び 12 μmol/L でそれぞれ $19.9\pm3.1\times10^{-6}$、$24.5\pm0.4\times10^{-6}$ 及び $27.3\pm0.9\times10^{-6}$ cm/s であった。基底外側膜側から頂端膜側（B-to-A）方向での P_{app} 値は、0.647、6.47 及び 12 μmol/L でそれぞれ $41.4\pm13.2\times10^{-6}$、$48.3\pm5.7\times10^{-6}$ 及び $38.6\pm6.3\times10^{-6}$ cm/s であった。以上の結果より、これらの試験条件下でロナファルニブが高い受動的透過性を有することが示された。各濃度で得られた排出比は、それぞれ 2.08、1.97 及び 1.41 であった。次に、排出トランスポーターの P-gp 及び BCRP の阻害剤である valspodar 及び Ko143 の存在下でロナファルニブ（6.47 μmol/L）の透過性を評価した。Valspodar 及び Ko143 の存在下で A-to-B の P_{app} 値はそれぞ

れ 26.9±2.3×10^{-6} 及び 26.2±1.1×10^{-6} cm/s であり、B-to-A の P_{app} 値はそれぞれ 35.1±6.1×10^{-6} cm/s 及び 48.4±3.1×10^{-6} cm/s であった。得られた排出比は、P-gp の阻害時に 1.30、BCRP の阻害時に 1.85 であった。

ロナファルニブの排出比はちょうどトランスポーター基質とみなす閾値（>2）にあり、P-gp 阻害剤の valspodar の存在下ではこの比が有意に低下するが、BCRP 阻害剤の Ko143 の存在下では低下しない。全体として、これらの結果から、ロナファルニブは BRCP の基質ではなく、P-gp の限界基質であることが示唆された。

さらに、別の *in vitro* 試験（CYP1838 R2A）において、HEK293 細胞を用いて、ロナファルニブがヒト SLC トランスポーターの OCT1 の基質となる可能性を評価した。その結果、ロナファルニブ（1、10、50、100 μmol/L 及び基準阻害剤の存在下で 1 μmol/L 及び 10 μmol/L）を、SLC トランスポーター発現 HEK293 細胞及び陰性対照の HEK293 細胞の両方と共に 2 分間及び 20 分間インキュベートした。ロナファルニブの取り込みを LC-MS/MS で定量化し、得られた値を用いて取り込み比を求めた。なお、ロナファルニブと並行して実施したインキュベーションから基準阻害剤の存在下及び非存在下での陽性対照基質の取り込み比を求め、その結果、*in vitro* 試験系が輸送された基質を検出できることを確認した。その結果、ロナファルニブは OCT1 の基質ではないことが示唆された。

2.6.4.9 考察及び結論

ロナファルニブの吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）及び薬物相互作用の可能性を評価するために一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。

ロナファルニブ（30 mg/kg）は、Sprague Dawley ラットに単回経口投与後に速やかに吸収され（t_{max} 約 2～4 時間）、雄では 1.09 時間及び雌では 1.92 時間の $t_{1/2}$ で排泄された。雌性ラットにおける C_{max} 及び AUC_{last} 値は、雄性ラットと比較してそれぞれ 3.3 倍及び 5.6 倍高かった。この差は、雄動物ではクリアランスが速く［静脈内投与（5 mg/kg）後で約 2.66 倍］、消失半減期が短かったためと考えられる。静脈内投与後（5 mg/kg）、ロナファルニブの血漿中濃度にラットの雌雄間の差は認められなかったが、消失半減期は雌性ラットの方が雄性ラットより長く（それぞれ 2.38 時間及び 1.54 時間）、その結果として AUC_{last} に基づいた曝露量がやや大きくなったが、その変化はおおむね 2 倍未満であった。[^{14}C]-ロナファルニブを Long Evans ラットに経口投与したときも、同様のプロファイルが観察された。

ロナファルニブ（15 mg/kg）をサルに単回経口投与したところ、曝露量に有意な性差は認められなかった。雌雄ともに投与後約 4 時間時点で最高血漿中濃度に達し、クリアランスは速やかであった。静脈内投与後（5 mg/kg）、PKパラメータは雌雄で同程度であり、クリアランスは速やかであった。カニクイザルを用いた別の試験では、[^{14}C]-ロナファルニブの経口投与（15 mg/kg）及び静脈内投与（5 mg/kg）を実施した。本試験では、薬物動態パラメータは雌雄で同程度であったが（AUC_{last} が雄で 1.8 倍大きかった）、ロナファルニブの吸収は経口投与後の方が緩徐であり（t_{max} は 6～8 時間）、以前の試験と比較して消失半減期は長くなった（2.96～4.39 時間）。ロナフ

ファルニブの静脈内投与後の V_d は 1980 mL/kg であり、サルの典型的な血漿量を 45 mL/kg とすると、ロナファルニブは血漿外に広く分布することが示唆された。経口投与時の絶対的バイオアベイラビリティは両動物種ともに高く、それは C2BBe1 細胞単層で観察されたロナファルニブの高い吸収透過性（40×10^{-6} cm/s）によるものと考えられた。

ロナファルニブの TK パラメータは、ラットで最長 6 箇月間、サルで最長 1 年間、ウサギで妊娠 7 日目から 19 日目までの反復経口投与毒性試験で検討した。曝露量は概して、すべての動物種で用量比を上回って用量依存的に増加した。ラットでは曝露量は雌の方が雄より顕著に大きく、単回経口投与 PK 試験の結果と一致しており、サルでは曝露量は雌雄間で同程度であり、単回投与試験の結果と一致していた。検討した最高用量で雌性ラットに軽微な蓄積が認められた以外は、いずれの動物種及び用量でもロナファルニブの蓄積は認められなかった。サルを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験では、Day 1 の血漿中濃度は Day 177 及び Day 363 よりも高値であった。

[^{14}C]-ロナファルニブ（0.5～40 μg/mL の濃度）の *in vitro* 血漿タンパク結合率は極めて高く（99.0%～99.7%）、ラット、サル及びヒトの血漿中でいずれも同程度であった。[^{14}C]-ロナファルニブのヒト血漿タンパク質の AAG 及び HSA との結合も *in vitro* 試験で評価した。結合率は両タンパク質ともに高く（>92.5%）、AAG についてはロナファルニブ濃度に、HSA については HSA 濃度に依存していた。しかし、HSA 及び AAG の双方の存在下でロナファルニブをインキュベートしたとき、HSA のすべての濃度で結合率は一貫していたことから（95.1%～98.4%）、HSA 濃度が低い病態生理学的条件下においてロナファルニブの総結合率は影響を受けないことが示唆された。

雌雄のラットに[^{14}C]-ロナファルニブを単回経口投与したとき、肝臓、副腎、膵臓、胆管及び腎臓で特に高い放射能濃度が認められた。カニクイザルへの単回経口投与（15 mg/kg）後、ロナファルニブの高い V_d 値と合致して、[^{14}C]-ロナファルニブは雌性サルでは評価した全組織に広く分布したが、雄性サルのハーダー腺、大腸、骨格筋及び精巣では LLOQ を下回った。分布はロナファルニブの吸収及び代謝に関連する臓器（小腸及び肝臓）並びに眼で最も高く、肺及び骨格筋で最も低かった。放射能は大部分の組織で投与後 1344 時間後までに LLOQ 付近又はそれ未満にまで減少したが、褐色脂肪、皮膚及びリンパ節では放射能がなおも認められ、これら 3 組織では投与後 798 時間から 1344 時間までの間には減少していないようであった。

組換えヒト CYP450 酵素及びヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* アッセイから、ロナファルニブの代謝は主に CYP3A を介して生じることが示唆されたが、CYP1A2、CYP2A6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2E1 を含むいくつかの他の CYP 分子種も関与している可能性がある。

ロナファルニブはラット及びサルで広範に代謝される。Sprague Dawley ラットに[^{14}C]-ロナファルニブを単回経口（30 mg/kg）及び静脈内（5 mg/kg）投与したとき、血漿、尿及び糞便中に計 30 種類の代謝物が特定された。これらの大半は側鎖ピペリジン環の構造変化の結果として生成された代謝物であった。血漿中では、認められた代謝変換の大部分が酸化及び脱水素化によるものであった。尿中で認められた生体内変換は主に酸化であり、糞便中ではほとんどが酸化、脱水素化及びこれら 2 つの組み合わせであった。糞便中の代謝物プロファイルには投与経路による差は認められなかったが、性別による差が認められ、RM2a 及び RM2 は雄の糞便のみ、RM2b は雌の糞便のみで検出された。ラットの場合と同様に、カニクイザルに放射標識体を経口（15 mg/kg）及

び静脈内（5 mg/kg）投与したとき、血漿中及び尿中には側鎖ピペリジン環の構造変化の結果として生じた代謝物が検出され、主な代謝プロセスは酸化、脱水素化及びこれらの組み合わせであった。また、ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験の結果により、ロナファルニブは CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 又は CYP2D6 を阻害しないが、CYP2C19 及び CYP3A に対してある程度の阻害作用（IC_{50}値はそれぞれ 15 μmol/L 及び 5.2 μmol/L 超）を示す可能性が示された。ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験では、ロナファルニブは 3 名の肝細胞ドナーのうち 2 名で CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の酵素活性も mRNA レベルも上昇させなかったが、1名のドナーで CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 発現を増加させた。したがって、ロナファルニブが検討した CYP 分子種を誘導する可能性は低いと考えられるが、ドナー間でばらつきが認められたことから、CYP2B6 及び CYP3A4 を誘導する可能性は否定できない。

ラットに単回経口及び静脈内投与したマスバランス試験では、ロナファルニブの排泄は迅速かつほぼ完全であることが示されたが、静脈内投与では経口投与に比較して回収率がやや低かった。いずれの投与方法でも、排泄は主に糞便を介して生じ、いずれの場合も尿中及び死体からの回収率は投与量の 0.5%未満であった。同様に、サルでも[^{14}C]-ロナファルニブ経口投与後の放射能は主に糞便中に回収され、尿中への回収率は投与放射能の 1.62%未満であった。いずれの動物種においても経口投与時及び静脈内投与時ともに糞便中に大量の放射能が認められたことから、胆汁中排泄及び／又は腸管分泌がロナファルニブ及びその代謝物の主要な排泄経路であることが示唆された。また、授乳ラットに[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与した乳汁移行性試験では、乳汁中への残留性はないと考えられた。

In vitro 試験で、ロナファルニブがトランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす又は受ける可能性を評価した。ロナファルニブは、評価したトランスポーター（OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、BCRP、P-gp 及び BSEP）のうち、OATP1B1、OCT1、BCRP 及び P-gp を阻害し、IC_{50}値はそれぞれ 6.69、0.797、1.45 及び 0.740 μmol/L であった。ロナファルニブは、OATP1B1、OATP1B3 及び BCRP の基質とはならず、P-gp に対してごくわずかな基質活性を示すのみであったことから、トランスポーターを介した薬物相互作用を受ける可能性は低いと考えられる。

全体として、ラット及びサルのいずれにおいてもロナファルニブの単回及び反復経口投与後の曝露量は用量の増加に伴って増加した。ラットでの曝露量は雌の方が雄よりも大きかったが、サルでは雌雄で同程度であった。経口投与したロナファルニブは速やかに吸収され、高いバイオアベイラビリティを示し、組織に広く分布し、酸化及び脱水素化によって広範に代謝されることが明らかになった。ラットでは、絶対的バイオアベイラビリティは雄よりも雌で高かったが、サルでは逆であり、吸収又は消失の機序には種特異的な性差があることが示唆された。ラットでは高用量で反復投与後に蓄積が認められたが、サルでは用量にかかわらず反復投与後の蓄積のエビデンスはなかった。ロナファルニブは主に胆汁及び糞便中に排泄される。

2.6.4.10 図表

図表は本文中の適切な場所に記載した。

2.6.4.11 参考文献一覧

Gordon LB, Kleinman ME, Miller DT, et al. Clinical trial of a farnesyltransferase inhibitor in children with Hutchinson-Gilford progeria syndrome. Proc Natl Acad Sci USA. 2012; 109(41):16666-16671.

ロナファルニブに関する資料

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

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

アンジェス株式会社

目次

略語一覧表 3
2.6.5　薬物動態試験概要表 5
2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表 5
2.6.5.2　分析法及びバリデーション試験 8
2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：*in vitro* 透過性 9
2.6.5.4　薬物動態試験：吸収：単回投与 9
2.6.5.5　薬物動態試験：吸収：反復投与 14
2.6.5.6　薬物動態試験：分布 19
2.6.5.7　薬物動態試験：タンパク結合率 26
2.6.5.8　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 29
2.6.5.9　薬物動態試験：その他の分布試験 32
2.6.5.10　薬物動態試験：代謝：*In vivo* 33
2.6.5.11　薬物動態試験：代謝：*In vitro* 44
2.6.5.12　薬物動態試験：推定代謝経路 52
2.6.5.13　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 54
2.6.5.14　薬物動態試験：排泄 57
2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用 65

略語一覧表

略語／用語	定義	日本語
AAG	Alpha1-acid glycoprotein	α_1酸性糖タンパク質
ADME	Absorption, distribution, metabolism, excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
AUC_{last}	Area under the concentration versus time curve from time zero until the last time-point measured	投与後 0 時間から最終測定時点までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area under the concentration versus time curve from time zero over the dosing interval t (h)	時間 0 から投与間隔時間 t までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BID	Twice daily	1 日 2 回
BSEP	Bile sale export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
C2BBe1	Caco-2 brushed border expressing 1	Caco-2 brushed border expressing 1
CL	Clearance rate	クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P	シトクロム P
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
F（%）	Absolute bioavailability	絶対的バイオアベイラビリティ
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
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HPLC-UV	High performance liquid chromatography with ultraviolet detection	UV 検出高速液体クロマトグラフィー
HPβCD	Hydroxypropyl-β-cyclodextrin	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
HSA	Human serum albumin	ヒト血清アルブミン
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry	高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限値
LSS	Liquid scintillation spectrometry	液体シンチレーションスペクトロメトリー
MC	Methylcellulose	メチルセルロース
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト種
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting protein	有機アニオン輸送タンパク質
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク質
PK	Pharmacokinetics	薬物動態

略語／用語	定義	日本語
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
$t_{1/2}$	Half-life	消失半減期
TDI	Time Dependent Inhibition	時間依存的阻害
TK	Toxicokinetics	トキスコキネティクス
t_{last}	Time of final quantifiable sample	最終定量時点
t_{max}	Time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
V_d	Volume of distribution	分布容積

2.6.5　薬物動態試験概要表

2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表

概要			被験物質：ロナファルニブ	
試験の種類	**試験系**	**投与方法**	**試験実施施設**	**試験番号**
吸収				
In vitro 透過性	C2BBe1 細胞単層	*In vitro*	[redacted]	14EIGEP1
単回投与 PK （[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）又は静脈内	[redacted]	SN96557
単回投与 PK （[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Long Evans）	経口（強制）	[redacted]	SN96558
単回投与 PK （[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	[redacted]	SN00508
単回投与 PK	サル（カニクイ）	経口（強制）又は静脈内	[redacted]	SN02196
単回投与 PK （[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）又は静脈内	[redacted]	SN96559
3 箇月毒性／TK	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	[redacted]	SN96030
6 箇月毒性／TK	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	[redacted]	SN96034
胚・胎児発生毒性	ウサギ（NZW）	経口（強制）	[redacted]	SN96046
3 箇月毒性／TK	サル（カニクイ）	経口（強制）	[redacted]	SN96612
1 年間毒性／TK	サル（カニクイ）	経口（強制）	[redacted]	SN96036
分布				
血漿タンパク結合率 （[^{14}C]-ロナファルニブ）	血漿（ラット、サル、ヒト）	*In vitro*	[redacted]	SN98139
血漿タンパク結合率 （[^{14}C]-ロナファルニブ）	血漿（ヒト）	*In vitro*	[redacted]	SN98276

概要			被験物質：ロナファルニブ	
試験の種類	**試験系**	**投与方法**	**試験実施施設**	**試験番号**
組織内分布／全身オートラジオグラフィー（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Long Evans）	経口（強制）	[redacted]	SN96558
血漿：脳内分布（ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	[redacted]	SN04935
胎児胎盤移行（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	[redacted]	SN00508
全身オートラジオグラフィー（[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）	[redacted]	SN96559
全身オートラジオグラフィー（[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）	[redacted]	SN00039
代謝				
代謝物プロファイリング（[^{14}C]-ロナファルニブ）	マウス（CD-1）、ラット（Sprague Dawley）、サル（カニクイ）、ヒトの肝細胞	*In vitro*	[redacted]	SN99118
代謝安定性	ヒト肝ミクロソーム（HML）	*In vitro*	[redacted]	15EIGEP1
CYP450 反応表現型解析	組換えヒト CYP	*In vitro*	[redacted]	15EIGEP1
CYP450 反応表現型解析	組換えヒト CYP、ヒト肝ミクロソーム（HML）	*In vitro*	[redacted]	SN98277
代謝物プロファイリング	組換えヒト CYP3A4	*In vitro*	[redacted]	SN01080
In vivo 単回投与代謝物プロファイリング（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）又は静脈内	[redacted]	SN96557
In vivo 単回投与代謝物プロファイリング（[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）胆管カニューレ挿入	経口（強制）	[redacted]	SN97428
In vivo 単回投与代謝物プロファイリング（[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）又は静脈内	[redacted]	SN96559
CYP450 の誘導	ヒト肝細胞	*In vitro*	[redacted]	14EIGEP1_Study6

概要			被験物質：ロナファルニブ	
試験の種類	**試験系**	**投与方法**	**試験実施施設**	**試験番号**
CYP450 の阻害	ヒト肝ミクロソーム（HML）	*In vitro*	[redacted]	14EIGEP1_Study3 14EIGEP1_Study4 14EIGEP1_Study5 CYP1838 R3
排泄				
In vivo 単回投与 （[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）又は静脈内	[redacted]	SN96557
In vivo 単回投与 （[^{14}C]-ロナファルニブ）	ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	[redacted]	SN00508
In vivo 単回投与 （[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）又は静脈内	[redacted]	SN96559
In vivo 単回投与 （[^{14}C]-ロナファルニブ）	サル（カニクイ）	経口（強制）	[redacted]	SN00039
In vivo 単回投与 （[^{14}C]-ロナファルニブ）	授乳ラット（Sprague Dawley）	経口（強制）	[redacted]	SN00499
薬物動態学的薬物相互作用				
In vitro トランスポーター阻害 （ロナファルニブ）、 （[^{14}C]-ロナファルニブ）	HEK293 細胞 C2BBe1 細胞単層膜小胞	*In vitro*	[redacted]	14EIGEP1 CYP1838 R2B CYP1838 R1
In vitro トランスポーター誘導	HEK293 細胞 C2BBe1 細胞単層	*In vitro*	[redacted]	14EIGEP1 CYP1838 R2A

[redacted] = [redacted]

2.6.5.2　分析法及びバリデーション試験

2.6.5.2.1　血漿中ロナファルニブ測定法

動物種／マトリクス	分析対象物	検量線の定量範囲	分析法	再現性	試験番号
ラット血漿	ロナファルニブ	100～8000 ng/mL	HPLC-UV	精度（%）：4.0～8.4 真度（%）：－3.3～3.4	SN96616
ラット血漿	ロナファルニブ	10～5000 ng/mL	LC-MS/MS	精度（%）：2.3～5.3 真度（%）：－5.3～－1.8	SN96560[a]
ウサギ血漿	ロナファルニブ	10～5000 ng/mL	LC-MS/MS	精度（%）：2.31～5.62 真度（%）：－4.50～1.00	SN02180[a]
サル血漿	ロナファルニブ	100～8000 ng/mL	HPLC-UV	精度（%）：2.8～7.9 真度（%）：－3.5～1.1	SN96401
サル血漿	ロナファルニブ	10～5000 ng/mL	LC-MS/MS	精度（%）：0.803～2.09 真度（%）：0.667～2.00	SN01407[a]

[a] QA 審査及び署名済みの陳述書あり

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：*in vitro* 透過性

2.6.5.3.1　ロナファルニブの C2BBe1 細胞を用いた *in vitro* 透過性

2.6.5.15.4 項に記載した。

2.6.5.4　薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.4.1　ラットにおけるロナファルニブ又は[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の血漿中ロナファルニブ濃度及び放射能濃度

試験番号：SN96557 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**非絶食					**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.2-3			
溶媒／剤形：	0.4% w/v MC				DMSO の 20% w/v HPβCD 溶液（2：3）			
投与方法：	経口（強制）				静脈内			
用量（mg/kg）[a]：	30 mg/kg				5 mg/kg			
試料（全血、血漿、血清等）：	血漿				血漿			
分析対象物：	ロナファルニブ		[^{14}C]-ロナファルニブ		ロナファルニブ		[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能（μCi/mg）	NA		2.93		NA		2.93	
分析法：	LC-MS/MS		LSS		LC-MS/MS		LSS	
性（雄／雌）／時点ごとの動物数：	雄/3	雌/3	雄/3	雌/3	雄/3	雌/3	雄/3	雌/3
PK パラメータ：								
C_{max}（μg/mL）[b]	1.66	5.47	2.89	6.65	2.48	2.58	2.93	2.90
AUC_{last}（μg·h/mL）[b]	9.07	50.6	22.8	68.8	2.48	6.43	5.23	9.74
t_{max}（h）	2	4	2	4	0.083	0.083	0.083	0.083
$t_{1/2}$（h）	1.09	1.92	NC	NC	1.54	2.38	NC	NC
F 又は F_A（%）	77.6	167	92.5	150	NA	NA	NA	NA
CL/F 又は CL（mL/h/kg）	2635	473	NC	NC	2039	767	NC	NC
V_d（mL/kg）	NC	NC	NC	NC	4522	2633	NC	NC

[a] 名目用量を表示した。実際の投与量は 24 mg/kg（経口）及び 5.1 mg/kg（静脈内）であった。
[b] [^{14}C]-ロナファルニブの放射能測定では、単位はロナファルニブの μg eq.である。
NA = 該当せず、NC = 算出できず

2.6.5.4.2　有色ラットにおけるロナファルニブ単回経口投与後の血漿中ロナファルニブ濃度並びに[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の血漿中放射能濃度

試験番号：SN96558 **動物種：**ラット（Long Evans） **給餌条件：**絶食			**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.2-4	
溶媒／剤形：	0.4% w/v MC			
投与方法：	経口（強制）			
用量（mg/kg）[a]**：**	30 mg/kg			
試料（全血、血漿、血清等）：	血漿			
分析対象物：	ロナファルニブ		[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能（μCi/mg）	NA		3	
分析法：	LC-MS/MS		LSS	
性（雄／雌）／時点ごとの動物数：	雄/3	雌/3	雄/3	雌/3
PK パラメータ[b]**：**				
C_{max}（μg/mL）	1.77	2.62	4.40	4.13
AUC_{last}（μg·h/mL）	11.4	19.9	34.8	44.4
t_{max}（h）	4	4	4	4

[a] 名目用量を表示した。実際の投与量は 29.9 mg/kg であった。
[b] 分析対象物の[^{14}C]-ロナファルニブについては、パラメータは C_{max} = μg eq./g 及び AUC_{last} = μg eq.·h/g である。
NA = 該当せず

2.6.5.4.3　妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の血漿並びに血液中放射能濃度

試験番号：SN00508 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**絶食		**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.2-1	
溶媒／剤形：	0.4% w/v HPMC		
投与方法：	経口（強制）		
用量（mg/kg）[a]：	30 mg/kg		
分析対象物：	[^{14}C]-ロナファルニブ		
比放射能（μCi/mg）	3.49		
分析法：	LSS		
試料（全血、血漿、血清等）：	血漿	血液	
性（雄／雌）／時点ごとの動物数：	雌/3	雌/3	NA[b]
PK パラメータ：			
C_{max}（μg eq./g）	2.65	2.07	0.283
AUC_{0-48}（μg eq.·h/g）	29.4	23.1	2.30
t_{max}（h）	6	6	8

[a] 名目用量を表示した。実際の投与量は 29.9 mg/kg であった。
[b] 胎児数は各時点で母動物あたり 6 個体であった。

NA = 該当せず

2.6.5.4.4　サルにおけるロナファルニブ又は[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の血漿中ロナファルニブ濃度並びに放射能濃度

試験番号：SN96559 **動物種：**サル（カニクイ） **給餌条件：**非絶食					**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.2-5			
溶媒／剤形：	0.4% w/v MC				DMSO の 20% w/v HPβCD 溶液（2：3）			
投与方法：	経口（強制）				静脈内			
用量（mg/kg）[a]：	15 mg/kg				5 mg/kg			
試料（全血、血漿、血清等）：	血漿				血漿			
分析対象物：	ロナファルニブ		[^{14}C]-ロナファルニブ		ロナファルニブ		[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能（μCi/mg）	NA		2.93		NA		2.93	
分析法：	LC-MS/MS		LSS		LC-MS/MS		LSS	
性（雄／雌）／時点ごとの動物数：	雄/3	雌/3	雄/3	雌/3	雄/3	雌/3	雄/3	雌/3
PK パラメータ：								
C_{max}（μg/mL）[b]	2.80	2.08	5.49	4.55	3.57	3.69	4.16	4.47
AUC_{last}（μg·h/mL）[b]	19.9	15.0	85.5	75.3	7.24	7.51	27.0	22.8
t_{max}（h）	4	4	4	5.33	0.083	0.083	0.083	0.083
$t_{1/2}$（h）	NC	NC	NC	NC	2.38	2.25	NC	NC
F 又は F_A（%）	91.4	66.4	105	110	NA	NA	NA	NA
CL/F 又は CL（mL/h/kg）	NC	NC	NC	NC	685	695	NC	NC
V_d（mL/kg）	NC	NC	2328	2212	NC	NC	NC	NC

[a] 名目用量を表示した。実際の投与量は 14.7 mg/kg（経口）及び 5.02 mg/kg（静脈内）であった。
[b] [^{14}C]-ロナファルニブの放射能測定では、単位はロナファルニブの μg eq.である。
NA = 該当せず、NC = 算出できず

2.6.5.4.5　サルにおけるロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の血漿中ロナファルニブ濃度

試験番号：SN02196 **動物種：**サル（カニクイ） **給餌条件：**非絶食			**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.2-2	
溶媒／剤形：	0.4% w/v HPMC		DMSO の 20% w/v HPβCD 溶液（2：3）	
投与方法：	経口（強制）		静脈内	
用量（mg/kg）：	15 mg/kg		5 mg/kg	
試料（全血、血漿、血清等）：	血漿		血漿	
分析対象物：	ロナファルニブ		ロナファルニブ	
分析法：	LC-MS/MS		LC-MS/MS	
性（雄／雌）／動物数：	雄/4	雌/4	雄/3[a]	雌/4
PK パラメータ：				
C_{max}（ng/mL）	2470	1540	3660	3790
AUC_{last}（ng·h/mL）	25600	14000	8610	6950
t_{max}（h）	6.00	8.00	0.083	0.083
$t_{1/2}$（h）	3.75[b]	3.36[c]	2.38	1.88
F（%）	107[b]	68.3	NA	NA
CL/F 又は CL（mL/h/kg）	564[b]	858[c]	598	715
V_d（mL/kg）	3050[b]	4170[c]	2040	1930

NA = 該当せず
[a] 1002 番の動物には 5 mg/kg の静脈内投与が行われたと記録されていたが、この動物の血漿中濃度はすべての試料で定量下限値未満であったため、PK 解析から除外した。
[b] n=3
[c] n=2

2.6.5.5　薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.5.5.1　ラット 3 箇月間反復経口投与試験における血漿中ロナファルニブの TK パラメータ

試験番号：SN96030 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**非絶食					**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.3.2-1	
溶媒／剤形：0.4% w/v MC						
投与方法：経口（強制）						
試料（全血、血漿、血清等）：血漿						
分析対象物：ロナファルニブ						
分析法：LC-MS/MS						
	$AUC_{0\text{-}24}$（μg·h/mL）					
用量（mg/kg）：	30		90		180	
性（雄／雌）／動物数：	雄/10	雌/10	雄/10	雌/10	雄/10	雌/10
Day 1	4.53	27.4	71.3	156	109	295
Day 57	17.1	36.7	76.9	196	181	428

2.6.5.5.2　ラット 6 箇月間反復経口投与試験における血漿中ロナファルニブの TK パラメータ

試験番号：SN96034 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**非絶食							**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.3.2-2					
溶媒／剤形：0.4% w/v MC												
投与方法：経口（強制）												
試料（全血、血漿、血清等）：血漿												
分析対象物：ロナファルニブ												
分析法：LC-MS/MS												
	Day 1						**Day 176**					
用量（mg/kg）：	15		30		60		15		30		60	
性（雄／雌）／動物数：	雄/15	雌/15	雄/15	雌/15	雄/15	雌/15	雄/15	雌/15	雄/15	雌/15	雄/15	雌/15
PK パラメータ：												
C_{max}（μg/mL）	0.281	1.49	0.832	4.06	4.23	12.4	0.509	1.64	2.92	6.34	4.83	10.9
t_{max}（h）	2.00	6.00	2.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
AUC_{last}（μg·h/mL）	1.37	10.9	4.03	31.5	30.0	132	2.31	14.1	19.0	46.1	38.5	136
t_{last}（h）	6.00	12.0	6.00	12.0	12.0	24.0	6.00	12.0	12.0	12.0	12.0	24.0

2.6.5.5.3　ウサギ胚・胎児発生に関する試験における血漿中ロナファルニブの TK パラメータ

試験番号：SN96046 **動物種：**ウサギ（ニュージーランドホワイト） **給餌条件：**非絶食			**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.3.5.2-2
溶媒／剤形：0.4% w/v MC			
投与方法：経口（強制）			
試料（全血、血漿、血清等）：血漿			
分析対象物：ロナファルニブ			
分析法：LC-MS/MS			
	妊娠 19 日目の PK パラメータ		
用量（mg/kg）[a]：	10	40	120
性（雄／雌）／動物数：	雌/3	雌/4	雌/3
C_{max}（μg/mL）	1.87	16.6	91.4
t_{max}（h）	2.67	3.00	6.00
$AUC_{0\text{-}24}$（μg·h/mL）	11.7	85.1	1021

[a] 妊娠 7 日目～19 日目に投与

2.6.5.5.4　サル 3 箇月間反復経口投与試験における血漿中ロナファルニブの TK パラメータ

試験番号：SN96612 **動物種：**サル（カニクイ） **給餌条件：**非絶食				**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.3.2-3		
溶媒／剤形：0.4% w/v MC						
投与方法：経口（強制）						
試料（全血、血漿、血清等）：血漿						
分析対象物：ロナファルニブ						
分析法：LC-MS/MS						
	$AUC_{0\text{-}24}$（μg·h/mL）					
用量（mg/kg）：	15		30		60	
性（雄／雌）／動物数：	雄/4	雌/4	雄/4	雌/4	雄/4	雌/4
Day 1	25.0	17.9	60.2	50.9	154	150
Day 57	18.2	17.7	43.4	40.2	68.2	55.8

2.6.5.5.5　サル 1 年間反復経口投与試験における血漿中ロナファルニブの TK パラメータ

試験番号：SN96036 **動物種：**サル（カニクイ） **給餌条件：**非絶食				**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.3.2-4		
溶媒／剤形：0.4% w/v MC						
投与方法：経口（強制）						
試料（全血、血漿、血清等）：血漿						
分析対象物：ロナファルニブ						
分析法：LC-MS/MS						
	Day 1					
用量（mg/kg）：	10		20		40	
性（雄／雌）／動物数：	雄/4	雌/4	雄/4	雌/4	雄/4	雌/4
C_{max}（μg/mL）	2.34	1.42	6.47	5.20	12.8	16.6
t_{max}（h）	4.00	6.00	6.00	4.67	6.00	6.00
AUC_{last}（μg·h/mL）	21.1	10.9	76.9	55.6	170	205
t_{last}（h）	15.0	12.0	24.0	24.0	24.0	24.0
	Day 177					
C_{max}（μg/mL）	2.09	1.16	5.40	3.05	7.43	8.77
t_{max}（h）	4.00	4.00	5.00	4.00	5.00	6.00
AUC_{last}（μg·h/mL）	17.4	9.13	57.6	27.2	86.3	95.0
t_{last}（h）	12.0	12.0	24.0	18.0	24.0	24.0
	Day 363					
C_{max}（μg/mL）	1.63	1.31	6.36	3.35	10.8	10.9
t_{max}（h）	5.00	5.00	5.00	4.00	5.00	6.00
AUC_{last}（μg·h/mL）	24.0	11.3	82.5	28.1	146	142
t_{last}（h）	16.5	15.0	24.0	12.0	24.0	24.0

2.6.5.6　薬物動態試験：分布

2.6.5.6.1　有色ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の組織分布

試験番号：SN96558 **動物種：**ラット（Long Evans） **給餌条件：**絶食	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.3-4
溶媒／剤形：0.4% w/v MC	
投与方法：経口（強制）（5 mL/kg）	
用量（mg/kg）：30 mg/kg	
放射性核種：[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能：3 μCi/mg	
分析法：LSS	
性（雄／雌）／動物数：雄 36 匹／雌 36 匹	
試料採取時点：投与後 1、4、12、24、48、72 及び 168 時間（3 匹/性/試料採取時点）	

	放射能濃度（ロナファルニブ μg eq./g）													
組織／臓器	**1 時間**		**4 時間**		**12 時間**		**24 時間**		**48 時間**		**72 時間**		**168 時間**	
	雄	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**
副腎	14.8	13.6	33.1	37.9	2.27	17.5	1.23	2.28	0.667	0.977	0.479	0.636	0.343	0.348
胆管	12.4	6.16	21.2	15.9	2.37	10.9	0.373	1.22	0.228	BLQ	0.126	0.244	BLQ	BLQ
膀胱（内容物を除去し、廃棄）	1.43	1.43	3.76	4.34	0.292	2.45	0.124	0.215	BLQ	BLQ	0.026	BLQ	BLQ	BLQ
血液	1.16	0.889	2.64	2.51	0.189	0.934	0.114	0.121	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
骨（大腿骨、髄質なし）	1.37	0.980	3.08	2.79	0.290	1.56	0.038	0.191	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
骨髄（大腿骨）	1.96	1.73	6.93	6.48	0.176	4.07	BLQ	0.254	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
脳	0.030	0.048	0.200	0.247	BLQ	0.187	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
屠体（残余）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.043	0.043
盲腸	3.79	2.54	16.0	14.2	17.5	25.5	0.637	1.97	BLQ	0.094	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
盲腸内容物及び洗浄液	0.260	0.183	17.9	7.72	49.4	84.8	1.46	6.85	0.226	0.364	0.067	0.037	BLQ	BLQ
精巣上体	0.739	-	2.34	-	0.701	-	0.182	-	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-

	放射能濃度（ロナファルニブ μg eq./g）													
組織／臓器	**1 時間**		**4 時間**		**12 時間**		**24 時間**		**48 時間**		**72 時間**		**168 時間**	
	雄	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**
眼	0.666	0.514	1.61	1.78	0.424	1.62	0.343	0.835	0.285	0.572	0.165	0.401	0.179	0.290
脂肪（褐色）	3.43	2.44	9.66	8.38	0.694	3.99	0.226	0.372	0.122	0.137	0.103	0.081	0.070	0.046
脂肪（腎周囲）	1.39	1.38	1.11	1.26	0.152	0.900	0.173	0.415	0.020	0.064	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
ハーダー腺	2.14	2.55	9.74	8.40	1.39	10.1	0.652	1.49	0.416	0.615	0.290	0.316	BLQ	BLQ
心臓	4.30	3.59	8.51	10.0	0.545	5.31	0.273	0.352	0.179	0.168	0.185	0.168	0.138	BLQ
腎臓	8.44	5.55	17.1	17.3	1.37	8.59	0.664	0.938	0.345	0.396	0.268	0.232	0.156	0.123
大腸	4.19	4.49	8.34	8.16	12.2	21.5	0.587	1.80	0.140	0.306	0.103	0.162	BLQ	BLQ
大腸内容物及び洗浄液	0.018	BLQ	3.89	1.19	120	138	2.85	19.3	0.182	0.668	0.179	0.076	BLQ	BLQ
肝臓	39.7	18.4	64.7	45.5	8.79	19.4	4.53	4.00	2.68	1.55	1.88	1.19	0.724	0.518
肺	3.20	2.86	7.41	8.17	0.950	5.31	0.340	0.572	0.173	0.217	BLQ	0.122	BLQ	BLQ
卵巣	-	2.69	-	11.5	-	4.36	-	1.53	-	0.815	-	0.585	-	0.492
腸間膜リンパ節	3.05	1.94	8.29	6.24	1.11	3.36	0.731	0.577	0.495	0.350	0.360	0.202	0.317	0.145
膵臓	11.5	10.8	23.0	31.2	2.88	19.1	1.16	2.71	0.658	1.26	0.452	0.821	0.184	0.286
下垂体	4.71	4.12	10.8	15.2	1.29	7.63	BLQ	1.25	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
血漿 [a]	1.86	1.45	4.40	4.13	0.257	1.48	0.126	0.133	0.067	0.053	0.033	0.025	BLQ	BLQ
前立腺	2.09	-	7.14	-	0.682	-	0.092	-	0.119	-	BLQ	-	BLQ	-
唾液腺	5.83	5.17	13.4	15.8	0.839	7.96	0.329	0.683	0.169	0.267	0.117	0.177	0.029	BLQ
精嚢	1.50	-	4.49	-	0.486	-	0.118	-	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-
骨格筋（大腿、両側）	2.06	1.77	5.64	5.82	0.335	3.58	BLQ	0.201	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
皮膚（背側、剃毛、非有色）	1.52	0.999	3.54	4.10	0.357	2.53	0.170	0.392	0.038	0.219	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
皮膚（背側、剃毛、有色）	1.22	0.959	3.50	3.92	0.353	2.88	0.207	0.579	BLQ	0.407	0.052	0.243	BLQ	BLQ
小腸	85.3	67.1	144	90.8	1.99	22.5	0.432	1.36	0.201	0.307	0.048	0.176	BLQ	BLQ
小腸内容物及び洗浄液	42.7	22.9	144	44.1	3.81	25.0	0.349	1.12	0.130	0.129	0.039	BLQ	BLQ	BLQ
脊髄	0.641	BLQ	0.201	0.203	BLQ	0.305	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
脾臓	2.43	1.87	5.10	6.13	0.561	3.32	0.248	0.639	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

	放射能濃度（ロナファルニブ μg eq./g）													
組織／臓器	**1 時間**		**4 時間**		**12 時間**		**24 時間**		**48 時間**		**72 時間**		**168 時間**	
	雄	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**
胃	520	209	112	150	1.03	7.79	0.312	0.784	0.173	0.240	0.043	0.137	BLQ	BLQ
胃内容物及び洗浄液	74.5	175	13.5	66.0	0.237	10.0	BLQ	0.329	BLQ	0.026	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
精巣	BLQ	-	0.605	-	0.089	-	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-	BLQ	-
胸腺	1.93	2.38	5.84	7.22	0.690	5.00	0.295	0.189	0.195	0.440	0.159	0.280	BLQ	0.125
甲状腺	5.70	4.62	12.9	12.6	2.57	6.22	1.23	1.55	0.644	0.410	BLQ	0.541	0.226	BLQ
気管	1.80	1.70	4.60	5.34	1.43	3.13	0.190	0.340	0.116	0.197	0.052	0.051	BLQ	BLQ
子宮	-	1.08	-	4.21	-	2.09	-	0.253	-	0.078	-	BLQ	-	BLQ

[a] μg eq./mL として報告
NA = 該当せず、"-" = 試料なし

2.6.5.6.2　サルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の組織分布（15 mg/kg）

試験番号：SN96559 **動物種：**サル（カニクイ） **給餌条件：**非絶食	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.3-5
溶媒／剤形：0.4% w/v MC	
投与方法：経口（強制）	
用量（mg/kg）：15 mg/kg	
放射性核種：[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能（μCi/mg）：2.93	
分析法：QWBA	
性（雄／雌）／動物数：雄 3 匹、雌 1 匹	
試料採取時点：投与後 168 時間（雌雄 1 匹）、768 時間（雄 1 匹）及び 1344 時間（雄 1 匹）	

	濃度（ロナファルニブ ng eq./g）			
組織／臓器	**168 時間**		**768 時間**	**1344 時間**
	雌	**雄**	**雄**	**雄**
副腎	451	345	168	86.5
胆汁	3990	NI	461	71.7
骨髄	259	134	0	0
褐色脂肪	499	619	300	437
眼	2030	1020	1070	539
ハーダー腺	317	0	0	0
腎臓	565	523	102	41.0
大腸	235	0	438	0
肝臓	2600	3110	702	312
肺	151	117	0	0
リンパ節	466	569	809	736
心筋	286	189	0	0
膵臓	511	506	174	70.5

	濃度（ロナファルニブ ng eq./g）			
組織／臓器	168 時間		768 時間	1344 時間
	雌	雄	雄	雄
唾液腺	720	257	276	0
骨格筋	150	0	0	0
皮膚	1050	709	325	496
小腸	1460	2210	0	0
脾臓	317	230	78.5	0
胃	699	684	0	0
精巣	NA	0	64.9	0
胸腺	256	172	0	0
子宮	210	NA	NA	NA

NA = 該当せず
注：定量下限値（LLOQ=41.0 ng eq./g）未満の濃度には値として 0 を割り当てた。

2.6.5.6.3　サルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の組織分布（30 mg/kg）

試験番号：SN00039 **動物種：**サル（カニクイ） **給餌条件：**絶食	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.3-1
溶媒／剤形：0.4% w/v MC	
投与方法：経口（強制）	
用量（mg/kg）：30 mg/kg	
放射性核種：[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能（μCi/mg）：7.04	
分析法：QWBA	
性（雄／雌）／動物数：雄 2 匹	
試料採取時点：投与後 4 時間（雄 1 匹）及び投与後 28 日（雄 1 匹）	

	[^{14}C]-ロナファルニブ由来放射能の定性的 WBA 評価	
組織／臓器	**投与後 4 時間**	**投与後 28 日**
	雄	**雄**
副腎	高	中
血液	中	バックグラウンド値
骨	低	バックグラウンド値
骨髄	中	中
脳	低	バックグラウンド値
精巣上体	中	バックグラウンド値
食道	中	バックグラウンド値
眼（硝子体）	バックグラウンド値	バックグラウンド値
胆嚢	高	中
心臓	高	中
腸（ハーダー）	中	中
腸（小腸）	中	バックグラウンド値
腸（大腸）	中	中

	[^{14}C]-ロナファルニブ由来放射能の定性的 WBA 評価	
組織／臓器	**投与後 4 時間**	**投与後 28 日**
	雄	**雄**
腎臓	高	中
肝臓	高	高
肺	中	バックグラウンド値
リンパ節	中	中
筋肉	中	バックグラウンド値
膵臓	高	バックグラウンド値
松果体	低	バックグラウンド値
下垂体	中	バックグラウンド値
前立腺	中	バックグラウンド値
唾液腺	中	中
精嚢	中	バックグラウンド値
皮膚	中	中
脾臓	中	中
脊髄	低	バックグラウンド値
胃	高	中
精巣	中	バックグラウンド値
胸腺	中	バックグラウンド値
甲状腺	中	バックグラウンド値
膀胱	中	バックグラウンド値
白色脂肪	中	バックグラウンド値
網膜	中	高
血液／血漿比	0.68	0.74

2.6.5.7　薬物動態試験：タンパク結合率

2.6.5.7.1　ロナファルニブの *in vitro* タンパク結合（ラット、サル、ヒト）

試験番号：SN98139 **試験系：**ラット、サル及びヒトの血漿及び血清タンパク質（*in vitro*）	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.3-6
分析対象物質：[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能（μCi/mg）：99	
放射化学的純度：97.7%	
分析法：LSS	

動物種	ロナファルニブ濃度（μg/mL）	平均結合率（%）[a]
ラット（Sprague Dawley）	0.5	99.3
	1	99.5
	2	99.4
	5	99.4
	10	99.3
	10	99.5[b]
	20	99.2
	40	99.0
サル（カニクイ）	0.5	99.6
	1	99.6
	2	99.6
	5	99.5
	10	99.5
	10	99.4[b]
	20	99.4
	40	99.2

動物種	ロナファルニブ濃度（μg/mL）	平均結合率（%）[a]
ヒト（健常人）	0.5	99.7
	1	99.6
	2	99.6
	5	99.5
	10	99.4
	10	99.5[b]
	20	99.4
	40	99.2

[a] 特に明記しない限り、血漿タンパク結合率（%）の平均値（n=3）
[b] 血清タンパク結合率（%）の平均値（n=3）

2.6.5.7.2　ロナファルニブの *in vitro* タンパク結合（ヒト）

試験番号：SN98276 **試験系：**精製ヒト血清タンパク質（ヒト血清アルブミン、α_1-酸性糖タンパク質）（*in vitro*）		**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.3-7
分析対象物質：[^{14}C]-ロナファルニブ		
比放射能（μCi/mg）：1.22		
放射化学的純度：98.7%		
分析法：LSS		
タンパク質濃度	**ロナファルニブ濃度（μg/mL）**	**平均結合率（%）（n=3）**
0.1% AAG	0.4	96.9
	2.0	94.3
2% HSA	0.4	94.0
	2.0	94.5
3% HSA	0.4	96.5
	2.0	96.2
4% HSA	0.4	97.3
	2.0	96.9
2% HSA/0.1% AAG	0.4	97.2
	2.0	97.2
3% HSA/0.1% AAG	0.4	98.1
	2.0	97.1
4% HSA/0.1% AAG	0.4	96.9
	2.0	97.2

2.6.5.8　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.8.1　妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の組織分布

試験番号：SN00508 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**絶食（投与後約 4 時間時点でラットに飼料を与えた）	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.3-2
溶媒／剤形：0.4% w/v HPMC	
投与方法：経口（強制）	
用量（mg/kg）[a]：30 mg/kg	
放射性核種：[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能（μCi/mg）：3.49	
分析法：LSS 及び全身オートラジオグラフィー	
妊娠日/動物数：18 日目／雌 32 匹（試料採取時間あたり 2～3 匹）	
試料採取時点：投与後 2、6、8、12、24 及び 48 時間	

組織／臓器[c]	**放射能濃度（ロナファルニブ ng eq./g tissue）**[b]					
	2 時間	**6 時間**	**8 時間**	**12 時間**	**24 時間**	**48 時間**
	雌/3	**雌/3**	**雌/3**	**雌/3**	**雌/3**	**雌/3**
肝臓	49,100	42,100	33,400	13,000	4970	2150
大腸	8030	15,900	22,200	12,700	2410	702
大腸内容物	20,400	384,000	622,000	301,000	41,600	10,200
小腸	130,000	46,600	26,800	9360	1690	354
小腸内容物	400,000	190,000	124,000	39,200	4620	478
胃	153,000	22,000	9740	3950	1390	321
胃内容物	2,080,000	101,000	12,100	805	12,100	0
盲腸	10,300	54,000	41,900	20,900	2770	817
盲腸内容物	74,100	536,000	458,000	176,000	24,700	6350
腎臓	20,200	20,200	16,700	6040	1460	687
肺	10,500	11,900	10,100	4180	799	333
心臓	13,000	12,800	10,400	3620	588	318

組織／臓器 [c]	放射能濃度（ロナファルニブ ng eq./g tissue）[b]					
	2 時間	6 時間	8 時間	12 時間	24 時間	48 時間
	雌/3	雌/3	雌/3	雌/3	雌/3	雌/3
脳	235	344	325	59.3	0	0
胎盤	7000	9590	9720	4610	1250	587
子宮	4930	7260	6520	3060	613	236
羊膜	5500	8230	7880	5660	2370	1670
乳腺	6010	7390	6010	2060	581	242
羊水	60.5	115	142	62.9	0	0
卵巣	4260	5040	3840	1300	431	225
膀胱	3870	4130	3450	1150	233	73.7
屠体	594	737	646	601	68.4	16.6
血液	1810	2070	1540	568	104	33.2
血漿	2520	2650	2130	690	95.6	23.4
胎児肝臓	1210	1590	1550	555	115	38.2
胎児心臓	0	86.0	108	0	0	0
胎児腎臓	383	535	589	0	0	0
胎児脳	337	351	409	160	18.7	0
胎児肺	523	622	623	228	20.4	0
胎児血液	200	239	283	68.1	0	0

組織／臓器 [c]	放射能濃度（PSL/mm²）[d]					
	2 時間	6 時間	8 時間	12 時間	24 時間	48 時間
	雌/2	雌/2	雌/2	雌/2	雌/2	雌/2
羊膜	28.2	28.6	13.1	13.0	5.35	5.86
羊水	2.56	3.60	2.35	2.21	BLQ	BLQ
血液（心臓由来）	18.9	14.8	7.24	7.77	2.58	1.86
脳	3.44	3.23	2.40	BLQ	BLQ	BLQ
心臓	89.7	71.5	33.8	21.2	5.09	2.84

組織／臓器 [c]	放射能濃度（PSL/mm²）[d]					
	2 時間	6 時間	8 時間	12 時間	24 時間	48 時間
	雌/2	雌/2	雌/2	雌/2	雌/2	雌/2
腎臓	79.9	55.4	29.1	20.2	6.89	3.22
大腸壁	63.5	52.1	42.4	44.1	21.8	2.30
大腸内容物	3.02	1200	3160	2570	972	11.8
肝臓	247	187	85.4	68.4	23.7	9.57
肺	40.1	35.9	18.8	14.3	4.42	2.35
乳腺	39.0	34.9	13.4	10.3	3.71	3.92
卵巣	40.8	35.2	14.5	11.0	4.02	3.98
胎盤	28.7	32.0	13.2	9.07	3.93	1.94
小腸壁	112	62.4	45.0	18.4	5.83	2.28
小腸内容物	2900	2410	766	279	265	4.70
胃壁	154	113	24.6	13.6	6.96	4.53
胃内容物	2750	1550	2.84	3.05	5.16	2.50
膀胱壁	28.5	27.3	11.6	10.3	4.23	1.87
膀胱底	3.50	32.1	13.9	4.00	NI	2.67
子宮	30.5	27.5	12.3	11.2	5.40	NI
胎児副腎	10.4	11.0	5.37	NI	NI	NI
胎児脳	3.68	5.12	3.20	2.63	2.00	NI
胎児血液／心臓	3.65	6.19	2.95	2.47	NI	NI
胎児腎臓	3.91	7.04	3.31	NI	NI	NI
胎児肝臓	7.80	8.08	4.45	4.65	2.50	BLQ
胎児肺	4.63	6.26	NI	4.23	BLQ	NI

[a] 名目用量を表示した。実際の投与量は 29.9 mg/kg であった。
[b] 放射能分析（LSS）により測定した。
[c] 特に明記しない限り、母動物から採取した。
[d] 全身マクロオートラジオグラフィーを用いて測定した。
NI = 確認されず、BLQ = 定量下限値未満

2.6.5.9　薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.9.1　ラットにおけるロナファルニブ反復経口投与後の脳内移行

試験番号：SN04935 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**非絶食				**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.3-3		
性（雄／雌）／動物数：各時点で雄 5 匹						
溶媒／剤形：0.4% w/v HPMC						
投与方法：経口（強制）						
分析対象物：ロナファルニブ						
分析法：LC-MS/MS						
試料採取時間：Day 8 の投与前、投与後 2 及び 8 時間						
試料（全血、血漿、血清等）：	**血漿**			**脳**		
用量（mg/kg）：	**30 BID**	**60 BID**	**90 BID**	**30 BID**	**60 BID**	**90 BID**
時点（h）						
投与前	6.16	46.0	20.5	0.552	8.48	2.89
2	1100	2050	1820	68.4	112	98.5
8	114	737	760	10.2	73.2	74.5
$AUC_{0\text{-}8}$（μg·h/mL）	4.75	10.5	9.58	0.305	0.676	0.620
AUC 比（%）	NC	NC	NC	6.4	6.5	6.5

NC = 算出できず

2.6.5.10　薬物動態試験：代謝：*In vivo*

2.6.5.10.1　ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後のロナファルニブの代謝プロファイル

試験番号：SN96557 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**非絶食	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.4-3
溶媒／剤形：0.4% w/v MC	
投与方法：経口（強制）	
用量（mg/kg）：30 mg/kg	
放射性核種：[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能：2.93 μCi/mg	
分析法：LC-MS/MS 及び LC-MS／ラジオメトリー	
性（雄／雌）／動物数：雄 4 匹、雌 4 匹	

代謝物	プロファイリングした放射能の割合（%）							
	血漿				糞便		尿	
	雄		雌		雄	雌	雄	雌
	4 時間	8 時間	4 時間	8 時間	8～24 時間	8～48 時間	0～48 時間	0～48 時間
不明（3.7 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
不明（12.2 分）	-	-	-	-	-	-	3.99	4.55
不明（12.7 分）	-	-	-	-	-	-	5.98	ND
不明（13.6 分）	-	-	-	-	-	-	4.36	4.52
RM1a	-	-	-	-	1.65	0.560	-	-
不明（15.0 分）	-	-	-	-	-	-	8.29	2.74
不明（16.1 分）	-	-	-	-	-	-	5.79	3.21
RM1b	-	-	-	-	3.79	ND	-	-
不明（17.3 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
不明（17.8 分）	-	-	-	-	-	-	16.8	8.04
不明（18.5 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND

代謝物	プロファイリングした放射能の割合（%）							
	血漿				糞便		尿	
	雄		雌		雄	雌	雄	雌
	4 時間	8 時間	4 時間	8 時間	8～24 時間	8～48 時間	0～48 時間	0～48 時間
RM1c	-	-	-	-	0.970	0.450	-	-
不明（19.4 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
不明（21.0 分）	-	-	-	-	-	-	1.62	3.30
RM2	2.47	0	BIT	0.940	3.68	0.990	-	-
RM2a、2b、3	-	-	-	-	1.98	6.41	-	-
RM3a、4（SCH 496528）	BIT	0	0.510	0.920	29.5	21.1	34.8	47.6
不明（24.9 分）	-	-	-	-	-	-	7.41	ND
不明（25.4 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
不明（26.8 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
RM10、10a	-	-	-	-	1.09	0.670	2.06[a]	5.83
不明（29.2 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
RM11	-	-	-	-	1.33	1.92	ND	5.96
RM12（SCH 496530）	3.99	0	0.820	BIT	5.65	0.950	4.80	2.20
不明（39.4 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
不明（47.6 分）	-	-	-	-	-	-	ND	2.05
RM14	-	-	-	-	7.12	2.57	-	-
RM17	-	-	-	-	6.24	6.30	-	-
RM17a、17b、18	0	BIT	BIT	BIT	ND	2.65	-	-
RM20a	3.17	BIT	BIT	BIT	-	-	-	-
RM25（SCH 629153）	5.94	8.68	2.27	2.94	4.23	2.96	-	-
RM25a					1.19	ND		
RM26、26a、26b、26c	0	2.03	1.27	1.24	0.790	2.40		
SCH 66336	80.7	82.3	91.1	90.2	24.7	47.0	3.24	10.0
不明（60.4 分）	0	4.36	2.05	1.45	-	-	-	-

代謝物	プロファイリングした放射能の割合（%）							
	血漿				糞便		尿	
	雄		雌		雄	雌	雄	雌
	4 時間	8 時間	4 時間	8 時間	8～24 時間	8～48 時間	0～48 時間	0～48 時間
不明（61.3 分）	0	2.60	0	0.510	-	-	ND	ND
不明（63.5 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
不明（67.8 分）	-	-	-	-	-	-	0.870	ND
RM30（SCH 441746）	3.70	BIT	1.12	1.13	5.00	2.52	-	-
RM34、RM35	0	0	0.83	0.720	1.10	0.570	-	-

[a] MS では分子イオンが検出されなかった。保持時間に基づき代謝物を合致させた。
"-" = 評価せず、ND = 検出されず
BIT = ^{14}C 検出器の積分閾値未満であるが MS により検出された。

2.6.5.10.2　ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回静脈内投与後のロナファルニブの代謝プロファイル

試験番号：SN96557 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**非絶食	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.4-3
溶媒／剤形：DMSO の 20% w/v HPβCD 溶液（2：3）	
投与方法：静脈内	
用量（mg/kg）：5 mg/kg	
放射性核種：[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能：2.93 μCi/mg	
分析法：LC-MS/MS 及び LC-MS／ラジオメトリー	
性（雄／雌）／動物数：雄 4 匹、雌 4 匹	

代謝物	プロファイリングした放射能の割合（%）							
	血漿				糞便		尿	
	雄		雌		雄	雌	雄	雌
	1 時間	6 時間	1 時間	6 時間	8～24 時間	8～24 時間	0～48 時間	0～48 時間
不明（3.7 分）	-	-	-	-	-	-	2.36	1.10
不明（12.2 分）	-	-	-	-	-	-	2.66	4.33
不明（12.7 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
不明（13.6 分）	-	-	-	-	-	-	2.21	3.04
RM1a	-	-	-	-	2.64	1.70	-	-
不明（15.0 分）	-	-	-	-	-	-	5.69	2.66
不明（16.1 分）	-	-	-	-	-	-	6.68	2.89
RM1b	-	-	-	-	5.17	ND	-	-
不明（17.3 分）	-	-	-	-	-	-	ND	4.18

代謝物	プロファイリングした放射能の割合（%）							
	血漿				糞便		尿	
	雄		雌		雄	雌	雄	雌
	1 時間	6 時間	1 時間	6 時間	8～24 時間	8～24 時間	0～48 時間	0～48 時間
不明（17.8 分）	-	-	-	-	-	-	16.4	3.48
不明（18.5 分）	-	-	-	-	-	-	ND	3.80
RM1c	-	-	-	-	1.45	ND		
不明（19.4 分）	-	-	-	-	-	-	7.46	4.74
不明（21.0 分）	-	-	-	-	-	-	4.90	7.41
RM2	-	-	-	-	5.13	2.76	-	-
RM2a、2b、3	-	-	-	-	3.46	8.15	-	-
RM3a、4（SCH 496528）	-	-	-	-	32.3	31.2	11.3	22.7
不明（24.9 分）	-	-	-	-	-	-	1.29	1.20
不明（25.4 分）	-	-	-	-	-	-	2.05	0.800
不明（26.5 分）	-	-	-	-	0.450	ND	-	-
不明（26.8 分）	-	-	-	-	-	-	3.35	ND
不明（28.0 分）	-	-	-	-	1.08	ND	-	-
RM10、10a	-	-	-	-	-	-	1.66[a]	5.08[a]
不明（29.2 分）	-	-	-	-	-	-	4.36	ND
RM11	-	-	-	-	1.97	2.14	3.25[a]	4.91
不明（30.6 分）	-	-	-	-	ND	1.23	-	-
RM12（SCH 496530）	BIT	2.20	0	0	5.82	1.34	ND	3.77
RM12a、12b	-	-	-	-	1.08	ND	-	-
不明（39.4 分）	-	-	-	-	-	-	1.91	ND

代謝物	プロファイリングした放射能の割合（%）							
	血漿				糞便		尿	
	雄		雌		雄	雌	雄	雌
	1 時間	6 時間	1 時間	6 時間	8～24 時間	8～24 時間	0～48 時間	0～48 時間
不明（39.7 分）	-	-	-	-	2.22	ND		
不明（47.6 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
RM14	-	-	-	-	6.42	1.70	-	-
RM17	-	-	-	-	6.14	7.73	-	-
RM17a、17b、18	-	-	-	-	ND	2.95	-	-
RM20a	2.44	0	0	0	-	-	-	-
RM25（SCH 629153）	0.770	20.2	2.24	0	2.65	3.76	-	-
RM25a	-	-	-	-	0.900	ND	-	-
RM26、26a、26b、26c	BIT	4.58	BIT	0	1.66	3.20	-	-
SCH 66336	93.6	62.4	97.3	88.8	13.1	29.0	20.3	22.1
不明（56.2 分）	-	-	-	-	0.510	ND	-	-
不明（61.3 分）	0	0	0.510	0	-	-	ND	0.820
不明（63.5 分）	-	-	-	-	-	-	2.17	1.05
不明（67.8 分）	-	-	-	-	-	-	ND	ND
RM30（SCH 441746）	0	10.7	0	11.2[a]	4.07	3.16	-	-
RM34、RM35	3.17	0	0	0	1.72	ND	-	-

[a] MS では分子イオンが検出されなかった。保持時間に基づき代謝物を合致させた。
"-" = 評価せず、ND = 検出されず
BIT = ^{14}C 検出器の積分閾値未満であるが MS により検出された。

2.6.5.10.3　サルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後のロナファルニブの代謝プロファイル

試験番号：SN96559 **動物種：**サル（カニクイ） **給餌条件：**非絶食	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.4-4
溶媒／剤形：0.4% w/v MC	
投与方法：経口（強制）	
用量（mg/kg）：15 mg/kg	
放射性核種：[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能：2.93 μCi/mg	
性（雄／雌）／動物数：雄 3 匹、雌 3 匹	

代謝物	プロファイリングした放射能の割合（%）					
	血漿				糞便	
	雄		雌		雄	雌
	4 時間	8 時間	4 時間	8 時間	8～96 時間	8～96 時間
MM1	-	-	-	-	3.35	2.74
MM2	-	-	-	-	1.87	2.12
MM3	-	-	-	-	2.16	2.24
MM6、7	-	-	-	-	4.13	3.28
MM9a	-	-	-	-	2.34	1.57
MM10	0.81	ND	ND	ND	17.6	19.7
MM12（SCH 496528）	1.61	2.25	ND	1.74	-	-
MM11、12（SCH 496528）	-	-	-	-	7.72	11.3[a]
MM13、14、14a、16	-	-	-	-	2.94	
MM18	ND	1.02	ND	ND	-	-
MM18a	-	-	-	-	1.34	ND
不明（26.6 分）	-	-	-	-	0.910	1.06
MM20	-	-	-	-	2.83	1.52
不明（31.6 分）	-	-	-	-	0.820	ND

代謝物	プロファイリングした放射能の割合（%）					
	血漿				糞便	
	雄		雌		雄	雌
	4 時間	8 時間	4 時間	8 時間	8～96 時間	8～96 時間
MM24（SCH 496530）	0.51	BIT	BIT	BIT	-	-
MM24（SCH 496530）、24a、24b、24c	-	-	-	-	4.50	4.47[b]
MM25a	BIT	ND	1.75	ND	-	-
MM26	-	-	-	-	1.57	3.21
不明（41.9 分）	0.62	ND	ND	ND	-	-
MM26a	1.36	ND	0.49	ND	-	-
MM26b、27	-	-	-	-	6.46	5.32
不明（44.2 分）	1.18	ND	ND	ND	-	-
MM28	2.42	1.01	ND	ND	-	-
MM28a、29、30	-	-	-	-	6.86	3.58
不明（50.1 分）	0.98	ND	ND	ND	-	-
MM31	-	-	-	-	0.360	BIT
MM31a	ND	1.81	2.21	4.21	-	-
MM33（SCH 629153）	4.45	5.67	4.41	5.15	3.87	5.40
MM33a	1.28	2.06	BIT	3.03	1.01	BIT
MM35、35a	2.94	4.56	4.38	3.66	1.02	1.54
MM35b、SCH 66336	-	-	-	-	13.2	19.0
SCH6336	77.12	73.7	80.0	75.4	-	-
MM37a、MM38（SCH 441746）	3.50	5.89[c]	5.68[d]	6.85[c]	3.55	5.74
MM38a	1.21	2.00	1.10	ND	3.14	0.940
MM40	-	-	-	-	4.66	5.31
不明（67.2 分）	-	-	-	-	1.50	ND
不明（68.2 分）	-	-	-	-	0.390	ND

[a] MM13 は MS では検出されなかった。
[b] MM24c は MS では検出されなかった。
[c] MM37a のみが検出された。
[d] MM38 のみが検出された。
"-" = 評価せず、ND = 検出されず
BIT = ^{14}C 検出器の積分閾値未満であるが MS により検出された。

2.6.5.10.4　サルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回静脈内投与後のロナファルニブの代謝プロファイル

試験番号：SN96559 **動物種：**サル（カニクイ） **給餌条件：**非絶食	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.4-4
溶媒／剤形：DMSO の 20% w/v HPβCD 溶液（2：3）	
投与方法：静脈内	
用量（mg/kg）：5 mg/kg	
放射性核種：[^{14}C]-ロナファルニブ	
比放射能：2.93 μCi/mg	
性（雄／雌）／動物数：雄 3 匹、雌 3 匹	

代謝物	プロファイリングした放射能の割合（%）					
	血漿				糞便	
	雄		雌		雄	雌
	4 時間	8 時間	4 時間	8 時間	4 時間	8 時間
MM1	-	-	-	-	2.61	3.19
MM2	-	-	-	-	3.79	3.52
MM3	-	-	-	-		
MM6、7	-	-	-	-	5.38	5.06
MM9a	-	-	-	-	1.56	1.18
MM10	1.94	ND	ND	ND	23.3	23.8
MM11	-	-	-	-	6.45	6.88
MM12（SCH 496528）、14	-	-	-	-	7.12	4.03
MM14a、16、18	-	-	-	-	-	3.21[a]
MM18a	-	-	-	-	2.40	ND
不明（26.6 分）	-	-	-	-	ND	1.41
MM20	-	-	-	-	2.35	2.50
MM23a	-	-	-	-	0.620	BIT
MM24（SCH　496530）、24a、	-	-	-	-	4.31	4.68

代謝物	プロファイリングした放射能の割合（%）					
	血漿				糞便	
	雄		雌		雄	雌
	4 時間	8 時間	4 時間	8 時間	4 時間	8 時間
24b						
MM26	-	-	-	-	2.30	ND
MM26b、27	-	-	-	-	6.03	4.32[b]
MM28a、29、30	-	-	-	-	6.00	7.58[c]
MM31	-	-	-	-	BIT	
MM31a	ND	ND	1.89	ND	-	-
MM33（SCH 629153）	3.44	2.13	1.13	ND	4.53	4.03
MM35、35a	1.90	6.12	2.48	5.36	0.950	BIT
MM35b、SCH 66336	-	-	-	-	8.92	10.2
SCH 66336	90.2	83.6	90.6	83.2	-	-
MM37a、MM38（SCH 441746）	2.58	8.14[d]	3.90	11.5[d]	3.61	5.84
MM38a	-	-	-	-	3.28	1.39
MM40	-	-	-	-	4.45	7.20

[a] MM18 は MS では検出されなかった。
[b] MM26b は MS では検出されなかった。
[c] MM29 は MS では検出されなかった。
[d] MM73a のみが検出された。
"-" = 評価せず、ND = 検出されず
BIT = ^{14}C 検出器の積分閾値未満であるが MS により検出された。

2.6.5.11　薬物動態試験：代謝：*In vitro*

2.6.5.11.1　マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞中の代謝物のプロファイリング

試験番号：SN99118 **試験系：**マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞				**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.4-9				
分析法：LC-MS								
化合物 [a]	**保持時間** [b] **（分）**	**m/z**	**Δ** [c]	**放射活性（%）**				
				サル	**ラット** [d]	**ラット** [e]	**マウス**	**ヒト**
M8	21.1	669	32	11.8	2.8	5.1	5.7	3.6
M10	23.0	653	16	7.2	6.3	5.5	<1	2.4
M18	40.7	651	14	2.9	5.3	9.3	1.8	<1
M26	51.4	653	16	15.1	22.1	16.7	19.2	12.5
ロナファルニブ	58.2	637	-	20.7	36.7	16.5	55.0	61.2
M33	61.6	635	-2	3.1	5.9	2.7	3.8	4.9

[a] プロファイル-放射能の 5%を超える化合物
[b] 保持時間はサル肝細胞での測定結果から得られたデータに基づいている。
[c] ロナファルニブとの m/z の差
[d] 新たに採取した肝細胞
[e] ゲルマトリクス（Vidacyte®）中の肝細胞
"-" = 評価せず

2.6.5.11.2　　ヒト肝ミクロソーム中のロナファルニブの代謝

試験番号：15EIGEP1 **試験系：**ヒト肝ミクロソーム							**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.4-1	
分析法：LC-MS/MS								
被験物質	**動物種**	**被験物質の残存率（%）（n=1）**					**$t_{1/2}$（min）**	**CL（mL/min/mg protein）**
		0 分	**10 分**	**20 分**	**30 分**	**60 分**		
ロナファルニブ（1 μmol/L）	ヒト	100	32.9	28.9	29.0	19.3	<10（6.2）[a]	0.223
陽性対照 （テストステロン、5 μmol/L）		100	69.6	-	31.7	11.5	19	0.072

[a] 最初の時点で濃度の 50%未満が残留していたため、半減期を最も短いインキュベーション時間未満として表示し、計算値を括弧内に示す。
"-" = 評価せず

2.6.5.11.3　組換えヒト CYP450 酵素を用いたロナファルニブの CYP 反応表現型解析

試験番号：15EIGEP1 **試験系：**ロナファルニブを NADPH 及び組換えヒト CYP450 酵素と共にインキュベートした。	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.4-1

分析法：LC-MS/MS

CYP	被験物質の残存率（%）（n=1）					Normalized CL_{int}（μL/min/mg protein）[a]	Corrected CL_{int}（μL/min/mg protein）[b]	Scaled CL_{int}（μL/min/mg protein）[c]	寄与率（%）[d]
	0 分	5 分	10 分	30 分	60 分				
CYP1A2	100	99.5	97.4	98.5	95.9	6.4	3.0	0.57	1.3
CYP2A6	100	97.8	94.3	97.4	93.0	3.3	0	0	0
CYP2B6	100	95.4	88.2	91.3	92.3	6.2	2.7	0.4	0.93
CYP2C8	100	86.5	76.5	82.5	79.0	31	27	4.4	10
CYP2C9	100	75.4	67.3	67.8	71.3	77	73	14	32
CYP2C19	100	85.5	76.0	79.9	74.9	48	44	2.3	5.3
CYP2D6	100	91.7	89.0	90.4	89.4	5.8	2.3	0.18	0.42
CYP2E1	100	89.1	79.4	84.2	83.6	23	20	3.0	6.9
CYP3A4	100	75.5	67.9	67.9	65.8	52	49	19	43
陰性対照	100	91.3	93.5	92.2	94.4	3.5	0	NA	NA

[a] supersome タンパク質及び hrCYP 濃度に基づく。
[b] Normalized $CL_{int(hrCYP)}$ - $CL_{int(negative\ control)}$
[c] HLM の個々の CYP の存在量から算出した。
[d] 寄与率=100×［個々の CYP 酵素の CL_{int}×HLM における CYP の存在量/Σ（CL_{int}×CYP の存在量）］= 100×［個々の CYP 酵素の Scaled CL_{int}/Σ（すべての関与する CYP 酵素の Scaled CL_{int}）］

2.6.5.11.4　　ヒト肝ミクロソームにおけるロナファルニブの *in vitro* 内因性クリアランス

試験番号：15EIGEP1
試験系：ロナファルニブを NADPH 及びヒト肝ミクロソームの CYP 分子種の選択的化学阻害剤と共にインキュベートした。

被験物質：ロナファルニブ
eCTD における該当箇所：モジュール4.2.2.4-1

分析法：LC-MS/MS

酵素	インキュベーション条件	阻害剤	被験物質の残存率（%）（n=1）					Corrected CL（μL/min/mg protein）[a]	Δ CL（μL/min/mg protein）[b]
			0分	5分	10分	30分	60分		
CYP1A2	不可逆性	フラフィリン	100	67	49	32	27	36.6	10
CYP2A6	不可逆性	8-MOP	100	57	43	25	21	43.4	3.5
CYP2B6	可逆性	Thio-TEPA	100	58	42	20	16	53.6	0.91
CYP2C8	可逆性	モンテルカスト	100	56	40	19	16	54.7	0
CYP2C9	可逆性	スルファフェナゾール	100	53	37	18	13	58.7	0
CYP2C19	可逆性	N-3-B	100	52	35	17	13	60.4	0
CYP2D6	可逆性	キニジン	100	53	37	17	14	58.4	0
CYP2E1	可逆性	4-メチルピラゾール	100	54	36	18	13	60.4	0
CYP3A	可逆性	ケトコナゾール	100	92	94	84	74	7.96	47

a 未処理の CL_{int} - 陰性対照の CL_{int}

b $CL_{int\ (TA + NADPH – Inhibitor)}$–$CL_{int\ (TA + NADPH + Inhibitor)}$.

Δ CL = クリアランス率の変化量

2.6.5.11.5　ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP450 supersome によるロナファルニブの代謝

試験番号：SN98277
試験系：HLM アッセイでは、[^{14}C]-ロナファルニブ（25 µmol/L）を、50 mmol/L リン酸カリウム緩衝液（pH 7）中で HLM（1 nmol/mL）及び CYP450（1 nmol/mL）と共に 37°C で 30 分間インキュベートした。組換えヒト CYP450 supersome を用いたアッセイでは、ロナファルニブ（25 µmol/L）を pH 7 の 50 mmol/L リン酸カリウム緩衝液中の CYP450 酵素（0.2 nmol/mL）（TRIS 緩衝液を使用した CYP2C9 及び CYP2A6 を除く）と共に 37°C で 30 分間インキュベートした。

被験物質：ロナファルニブ
eCTD における該当箇所：モジュール 4.2.2.4-8

分析法：LC-MS 又は LC-MS/MS

HLM／酵素	生成率（pmol/nmol CYP450/min）[a]							
	M8	**M10**	**M14**	**M16**	**M25**	**M32**	**M33**	**M34**
HLM[b]	1.0	0.2	BIT	9.6	1.0	BIT	14.8	0.3
CYP1A1	ND	ND	T	T	ND	ND	0.64	ND
CYP1A2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CYP2A6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CYP2B1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CYP2B6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CYP2C8	ND	2.42	ND	T	ND	ND	ND	ND
CYP2C9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CYP2C18	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CYP2C19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CYP2D6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CYP2E1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CYP3A4	T	T	ND	ND	82.1	26.7	25.7	T
CYP3A5	T	T	ND	ND	40.2	18.8	1.20	T
CYP4A11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

[a] 特に明記しない限り CYP。
[b] 結果をプロファイリングした総放射能に対する割合（%）として示す。
ND = 検出されず、T = 微量
BIT = 放射能検出器の積分閾値未満であるが LC/MS により検出された。

2.6.5.11.6　　ロナファルニブの代謝－相関解析

試験番号：SN98277 **試験系：**ロナファルニブ（25 μmol/L）を、50 mmol/L リン酸カリウム緩衝液（pH 7）中で HLM（1 nmol/mL）及び CYP450（1 nmol/mL）と共に 37°C で 30 分間インキュベートした。	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.4-8

分析法：LC-MS

酵素	**P 450 酵素特異的反応**	**相関係数（r）**	
		M25 生成	**M33 生成**
CYP1A2	カフェイン N3-脱メチル化	0.13	0.07
CYP2A6[a]	クマリン 7-ヒドロキシル化	0.78	0.73
CYP2B6[b]	S-メフェニトイン N-脱メチル化	0.86	0.35
CYP2C9	トルブタミドメチル-ヒドロキシル化	0.53	0.15
CYP2C19	S-メフェニトイン 4’-ヒドロキシル化	0.25	0.06
CYP2D6	デキストロメトルファン O-脱メチル化	0.24	0.38
CYP2E1	クロルゾキサゾン 6-ヒドロキシル化	0.49	0.38
CYP3A4	デキストロメトルファン N-脱メチル化	0.86	0.40
CYP3A5	テストステロン 6β-ヒドロキシル化	0.93	0.57
CYP4A11	ラウリン酸 12-ヒドロキシル化	0.11	0.02

[a] CYP2A6 supersome では代謝は認められなかった。
[b] CYP2B6 supersome では代謝は認められなかった。
注：酵素活性は HepatScreen Test キット（n=10）によるものである。

2.6.5.11.7　ロナファルニブの代謝－ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP450 supersome における代謝物生成の阻害

試験番号：SN98277 **試験系：**HLM（1 nmol/mL）又は組換えヒト CYP supersome（0.2 nmol/mL）を種々の濃度の阻害剤又は抗体とともに室温で 15 分間プレインキュベートした後、緩衝液、補因子、[^{14}C]-ロナファルニブ（5 µmol/L 又は 25 µmol/L）を添加した。	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.4-8

分析方法：LC-MS/MS

阻害剤	濃度（µmol/L）	残存活性（%）[a]				
		M8	**M10**	**M25**	**M32**	**M33**
ケトコナゾール	5	0	ND	6	0	14
α-ナフトフラボン	1.0	118[b]	89	103[b]	157[b]	102[b]
ケルセチン	20	70	54	85	ND	98
	50	69	28	96	ND	164[c]
CYP3A4/5 モノクローナル抗体	2 µg/µg タンパク質	0	ND	15	84	25

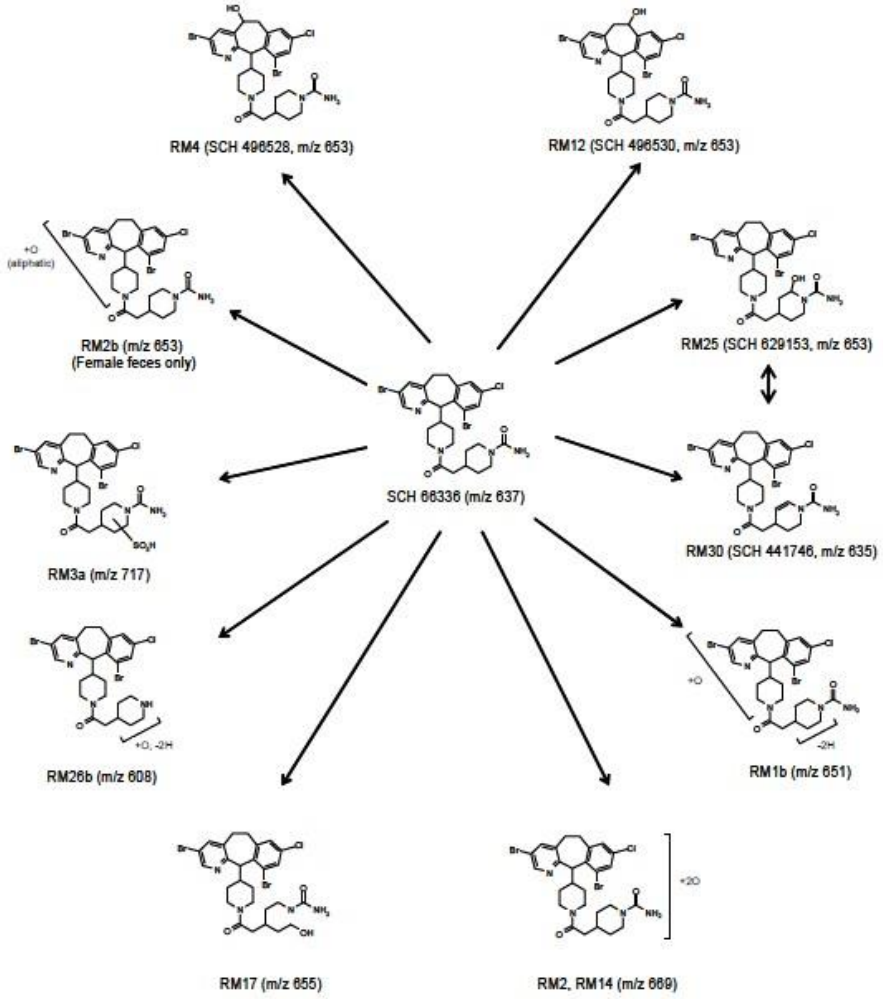
[a] 残存活性は溶媒対照に対する割合（%）として算出した。
[b] α-ナフトフラボンによる刺激
[c] ケルセチンによる刺激
ND = 検出されず

2.6.5.11.8　組換えヒト CYP3A4 によるロナファルニブの代謝

試験番号：SN01080 **試験系：**ロナファルニブを組換えヒト CYP3A4 と共に 37°C で 30 分間インキュベーションした。反応混合物には 3 mmol/L の塩化マグネシウム、5 mmol/L のグルコース 6-リン酸、0.5 µmol/L の NADP+、並びに 1.5 U/mL のグルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼも含まれた。	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.4-2
分析法：LC-MS/MS、LC-MS、NMR	
結果： 代謝物 M26 の構造は、LC-MS 及び NMR 分析により明確に決定された。 代謝物 M25 及び代謝物 M32 は、以前は代謝物として記述されていたが、試料分析のアーチファクトである。代謝物 M25 は代謝物 M26 に由来するフラグメントであり、M32 はメタノール付加物である。 代謝物 M26 及び代謝物 M33 は試料処理中の水分損失又は水分増加により相互変換する可能性がある。	

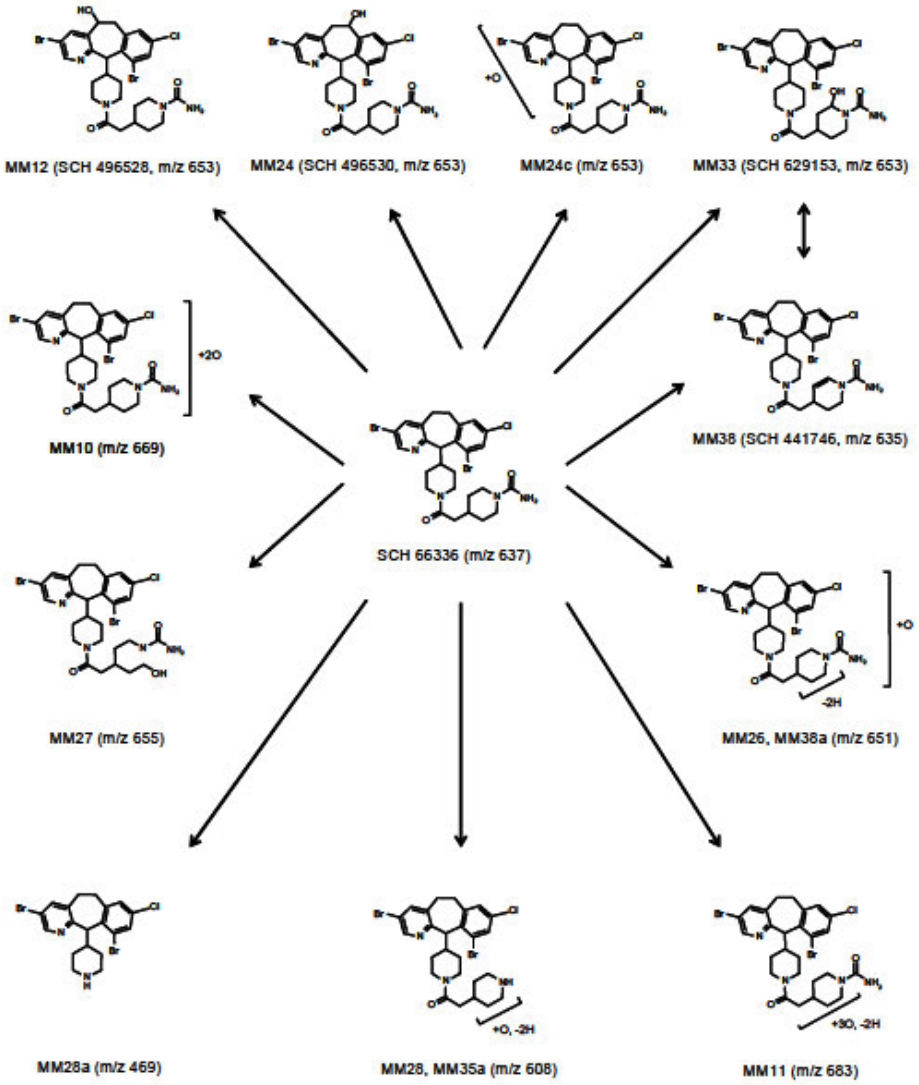
2.6.5.12　薬物動態試験：推定代謝経路

2.6.5.12.1　　ラット



SCH 66336：ロナファルニブ

2.6.5.12.2　　サル



SCH 66336：ロナファルニブ

2.6.5.13　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.13.1　ヒト CYP 酵素に対するロナファルニブの誘導作用

試験番号：14 EIGEP 1_Study 6
試験系：ドナー3 名から採取したヒト肝細胞を用いて CYP mRNA 又は酵素活性の誘導を評価した。
被験物質：ロナファルニブ
eCTD における該当箇所：モジュール 4.2.2.4-13

分析法：LC-MS/MS

CYP	ロナファルニブ濃度（μmol/L）	ドナー1			ドナー2			ドナー3		
		mRNA の誘導倍率 [a]	酵素活性の誘導倍率 [b]	生細胞率（%）[c]	mRNA の誘導倍率 [a]	酵素活性の誘導倍率 [b]	生細胞率（%）[c]	mRNA の誘導倍率 [a]	酵素活性の誘導倍率 [b]	生細胞率（%）[c]
CYP1A2	0.674	0.74±0.09	0.87	125	0.69±0.04	0.87	132	0.55±0.07	0.57	122
	6.74	1.0±0.47	0.49	94	0.31±0.08	0.96	118	0.51±0.16	0.76	125
	20.2	0.10±0.11	0.09	100	0.02±0.01	0.48	111	0.26±0.06	0.38	113
CYP2B6	0.674	0.96±0.17	1.4	107	1.0±0.01	1.8	128	0.87±0.08	0.78	111
	6.74	1.1±0.16	1.2	88	0.91±0.21	1.5	119	3.1±0.53	1.4	118
	20.2	0.07±0.003	0.36	90	0.16±0.01	0.73	108	1.5±0.19	0.96	97
CYP3A4	0.674	1.4±0.18	0.50	95	1.4±0.29	0.38	111	1.9±0.17	0.85	100
	6.74	1.7±0.26	0.35	83	1.0±0.15	0.24	106	14±0.41	0.84	115
	20.2	0.22±0.05	0.09	67	0.25±0.03	0.14	86	5.3±0.57	0.82	67

[a] mRNA の誘導倍率は溶媒対照で処置した細胞と比較したときのロナファルニブ処置した細胞の normalized mRNA レベルから算出した（n=3）。
[b] 酵素活性の誘導倍率は、溶媒対照処置細胞に対するロナファルニブ処置細胞の標準化酵素活性（3 回の測定から得られたプローブ基質代謝物の生成率）の比から算出した。
[c] 溶媒対照と比較した MTS（テトラゾリウム塩）の吸光度（%）

2.6.5.13.2　ヒト CYP 酵素に対するロナファルニブの阻害作用

試験番号：14 EIGEP 1_Study3
試験系：ロナファルニブを NADPH 及びヒト肝ミクロソームの CYP 分子種の選択的プローブ薬と共にインキュベートした。
被験物質：ロナファルニブ
eCTD における該当箇所：モジュール 4.2.2.4-10

分析法：LC-MS/MS

酵素	プローブ基質	代謝物	阻害率（%）[a]	IC_{50}（μmol/L）
CYP1A2	フェナセチン	アセトアミノフェン	11	>10

CYP2B6	ブプロピオン	OH ブプロピオン	17	>10
CYP2C8	アモジアキン	デスエチルアモジアキン	25	>10
CYP2C9	ジクロフェナク	4’-OH ジクロフェナク	28	>10
CYP2C19	S-メフェニトイン	1’-OH メフェニトイン	50	ND[b]
CYP2D6	ブフラロール	1’-OH ブフラロール	10	>10
CYP3A	ミダゾラム	1’-OH ミダゾラム	62	ND[b]
	テストステロン	6β-OH テストステロン	57	ND[b]

[a] n=2 の平均値
[b] IC_{50} 値の測定結果は 2.6.5.13.3 項参照。

2.6.5.13.3　ヒト CYP 酵素に対するロナファルニブの阻害作用－IC_{50} 値及び時間依存性

試験番号：14EIGEP1_Study 4、14EIGEP1_Study 5、CYP1838 R3

試験系：ヒト肝ミクロソーム中でロナファルニブ濃度を漸増（0～100 µmol/L）させながら CYP3A 及び CYP2C19、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2D6 のプローブ基質の代謝を評価した。NADPH の存在下及び非存在下で IC_{50} シフトに基づき TDI を求めた。

被験物質：ロナファルニブ

eCTD における該当箇所：モジュール 4.2.2.4-11
モジュール 4.2.2.4-12
モジュール 4.2.2.4-14

分析法：LC-MS/MS

試験番号	CYP（プローブ基質）	NADPH プレインキュベーション	対照（n=1）の酵素活性（%）[a]								IC_{50} (µmol/L)	IC_{50} のシフト[b]	TDI[c]
			0 µmol/L	0.137 µmol/L	0.412 µmol/L	1.23 µmol/L	3.70 µmol/L	11.1 µmol/L	33.3 µmol/L	100 µmol/L			
14EIGEP1_Study4	CYP2C19	なし	100	89.5	100	88.0	65.1	59.6	41.1	31.5	15	NA	NA
	CYP3A（ミダゾラム）	なし	100	92.0	89.8	71.7	56.3	37.8	21.2	9.65	5.2	NA	NA
	CYP3A（テストステロン）	なし	100	118	104	93.1	74.9	54.5	29.7	17.4	11	NA	NA
14EIGEP1_Study5	CYP2C19	なし	100	88.8	79.3	80.6	68.1	57.8	50.9	23.0	23	0.59	可能性は低い
		あり	100	92.9	95.4	81.4	82.0	70.8	55.9	29.3	38		
	CYP3A（ミダゾラム）	なし	100	91.4	84.8	70.8	45.5	27.0	16.0	4.39	3.3	16	可能性は高い
		あり	100	59.1	36.8	15.1	10.1	10.3	9.12	3.76	0.21		
	CYP3A（テストステロン）	なし	100	112	97.8	99.0	72.9	42.1	23.5	8.65	8.9	>65	可能性は高い
		あり	100	47.0	32.4	13.8	9.8	10.8	10.7	4.75	<0.137		
CYP1838 R3	CYP1A2 CYP2B6 CYP2C8 CYP2C9 CYP2D6	試験したいずれのプレインキュベーション条件においてもロナファルニブは CYP1A2、CYP2C9、CYP2D6 を阻害しなかったため、IC_{50} 値又は fold shift 値を算出しなかった。ロナファルニブの CYP2C8 に対する可逆的 IC_{50} 値は 19.6±2.99 µmol/L であった。ロナファルニブは CYP2B6 を可逆的に阻害しなかったため、IC_{50} 値は算出しなかった。ロナファルニブ API の fold shift 値は、CYP2B6 及び CYP2C8 に対してそれぞれ>1.02 及び 0.872 であった。ロナファルニブは、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 又は CYP2D6 の時間依存的阻害剤である可能性は低い。											

[a] 対照の酵素活性率（%）=100×（ロナファルニブ存在下の酵素活性/ロナファルニブ非存在下の酵素活性）。酵素活性は、LC-MS/MS により内部標準物質に対する CYP プローブ基質代謝物のピーク面積比から算出した。

[b] IC_{50} のシフト=$IC_{50\,(-NADPH)}/IC_{50\,(+NADPH)}$

[c] IC_{50} シフト<1.5 の場合、TDI の可能性は低く、IC_{50} シフト≥1.5 の場合、TDI の可能性は高い。

2.6.5.14　薬物動態試験：排泄

2.6.5.14.1　ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の尿及び糞中排泄

試験番号：SN96557 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**非絶食							**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.5-5						
溶媒／剤形：		0.4% w/v MC					DMSO の 20% w/v HPβCD 溶液（2：3）						
投与方法：		経口（強制）					静脈内						
用量（mg/kg）[a]：		30 mg/kg					5 mg/kg						
分析対象物：		[^{14}C]-ロナファルニブ					[^{14}C]-ロナファルニブ						
比放射能（μCi/mg）		2.93					2.93						
分析法：		LSS					LSS						
		投与量に対する放射能の排泄率（%）											
性別（雄／雌）／動物数：		**雄/3**			**雌/3**			**雄/3**			**雌/3**		
試料		**尿**	**糞便**	**屠体**	**尿**	**糞便**	**屠体**	**尿**	**糞便**	**屠体**	**尿**	**糞便**	**屠体**
時間（h）	**0～8**	0.08	0.03	-	0.08	5.15	-	0.33	0.37	-	0.42	0.04	-
	8～24	0.05	94.2	-	0.08	67.9	-	0.05	83.0	-	0.06	73.1	-
	24～48	0.01	7.01	-	0.01	28.7	-	0.01	3.06	-	0	12.5	-
	48～72	0.01	0.47	-	0.003	0.63	-	0	0.32	-	0	0.88	-
	72～96	0	0.14	-	0	0.12	-	0	0.16	-	0	0.15	-
	96～120	0	0.07	-	0	0.06	-	0	0	-	0	0	-
	120～144	0	0.05	-	0	0.03	-	0	0	-	0	0	-
	144～168	0	0.03	0.27	0	0.02	0.25	0	0	0.44	0	0	0.29
	累積排泄率	0.16	102	0.25	0.18	99.2	0.25	0.39	86.9	0.44	0.47	86.7	0.29
	総回収率	102			99.6			87.7			87.4		

[a] 名目用量を表示した。実際の投与量は 24 mg/kg（経口）及び 5.1 mg/kg（静脈内）であった。
"-" = 評価せず

2.6.5.14.2　有色ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の尿及び糞中排泄

試験番号：SN96558 **動物種：**ラット（Long Evans） **給餌条件：**絶食					**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.5-8		
溶媒／剤形：		0.4% w/v MC					
投与方法：		経口（強制）					
用量（mg/kg）[a]**：**		30 mg/kg					
分析対象物：		[^{14}C]-ロナファルニブ					
比放射能（μCi/mg）		3					
分析法：		LSS					
		投与量に対する放射能排泄率（%）					
性別（雄／雌）／動物数：		**雄/3**			**雌/3**		
試料		**尿**	**糞便**	**屠体**	**尿**	**糞便**	**屠体**
時間（h）	**0～8**	0.08	100	-	0.03	84.7	-
	8～24	0.08	-	-	0.07	-	-
	24～48	0.04	1.97	-	0.01	10.1	-
	48～72	0.02	0.37	-	BLQ	0.31	-
	72～96	0.01	0.19	-	BLQ	0.11	-
	96～120	0.01	0.12	-	BLQ	0.06	-
	120～144	BLQ	0.07	-	BLQ	BLQ	-
	144～168	BLQ	0.06	-	BLQ	0.01	-
	168	-	-	0.13	-	-	0.12
	累積排泄率	0.22	103	0.13	0.12	95.4	0.12
	総回収率	103			95.4		

BLQ = 定量下限値未満、"-" = 評価せず

2.6.5.14.3　　妊娠ラットにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の尿及び糞中排泄

試験番号：SN00508 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**絶食（投与後約 4 時間時点でラットに飼料を与えた）				**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.5-3
溶媒／剤形：		0.4% w/v HPMC		
投与方法：		経口（強制）		
用量（mg/kg）[a]**：**		30 mg/kg		
分析対象物：		[^{14}C]-ロナファルニブ		
比放射能（μCi/mg）		3.49		
分析法：		LSS		
		投与量に対する放射能排泄率（%）		
性別（雄／雌）／動物数：		**雌/3**		
試料		**尿**	**糞便**	**屠体**
時間（h）	**0～24**	0.110	53.9	-
	24～48	0	29.4	-
	48	-	-	0.317
	累積排泄率	0.110	83.3	0.317
	総回収率[b]	85.3		

[a] 名目用量を表示した。実際の投与量は 29.9 mg/kg であった。
[b] 合計は残留組織を含む。
"-" = 評価せず

2.6.5.14.4　サルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口及び静脈内投与後の尿及び糞中排泄

試験番号：SN96559 **動物種：**サル（カニクイ） **給餌条件：**非絶食		**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.5-6
溶媒／剤形：	0.4% w/v MC	DMSO の 20% w/v HPβCD 溶液（2：3）
投与方法：	経口（強制）	静脈内
用量（mg/kg）[a]**：**	15 mg/kg	5 mg/kg
分析対象物：	[^{14}C]-ロナファルニブ	[^{14}C]-ロナファルニブ
比放射能（μCi/mg）	2.93	2.93
分析法：	LSS	LSS

		投与量に対する放射能の回収比率（%）							
性別（雄／雌）／動物数：		**雄/3**		**雌/3**		**雄/3**		**雌/3**	
試料		**尿**	**糞便**	**尿**	**糞便**	**尿**	**糞便**	**尿**	**糞便**
時間（h）	**0～8**	0.08	NS	0.1	NS	0.63	NS	0.39	NS
	8～24	0.14	9.48	0.23	24.9	0.29	6.53	0.20	0.10
	24～48	0.12	47.1	0.14	19.0	0.21	59.1	0.09	42.9
	48～72	0.08	26.5	0.05	5.45	0.08	15.8	0.04	32.2
	72～96	0.04	3.53	0.04	0.78	0.03	2.74	0.02	10.3
	96～120	0.02	0.80	0.04	1.12	0.03	0.73	0.02	1.75
	120～144	0.02	0.44	0.02	0.25	0.06	0.62	0.01	0.66
	144～168	0.02	0.21	0.02	0.12	0.03	0.46	0.01	0.25
	168～192	0.01	0.17	0.02	0.14	0.05	0.26	0.01	0.37
	192～216	0.01	0.10	0.02	0.11	0.01	0.15	0.01	0.12
	216～240	0.01	0.10	0.01	0.09	0.06	0.18	0.003	0.13
	260～264	0.02	0.10	0.01	0.04	0.04	0.15	0.003	0.15
	264～288	0.01	0.05	0.01	0.06	0.04	1.00	0	0.06
	288～312	0.01	0.06	0.01	0.05	0.04	0.09	0.003	0.09

		投与量に対する放射能の回収比率（%）							
性別（雄／雌）／動物数：		雄/3		雌/3		雄/3		雌/3	
試料		尿	糞便	尿	糞便	尿	糞便	尿	糞便
時間（h）	312～336	0.003	0.05	0.01	0.02	0.01	0.08	0.003	0.06
	336～360	0	0.03	0	0.04	0	0.03	0	0.03
	360～384	0	0.03	0	0.03	0	0.05	0	0.05
	384～408	0	0.03	0	0.02	0.003	0.04	0	0.05
	408～432	0	0.02	0	0.02	0	0.03	0	0.02
	432～456	0	0.02	0	0.02	0.01	0.03	0.01	0.02
	456～480	0	0.02	0	0.01	0	0.02	0.003	0.02
	504～528	0	0.02	0	0.01	0.003	0.01	0	0.01
	528～552	0	0.01	0	0.01	0	0.01	0	0.02
	552～576	0	0.01	0	0.01	0	0.03	0	0
	576～600	0	0.01	0	0.01	0	0	0	0
	600～624	0	0.01	0	0.01	0	0.01	0	0
	624～648	0	0.01	0	0.01	0	0	0	0.01
	648～672	0	0.01	0	0.01	0	0	0	0
	672～696	0	0.003	0	0.01	0	0	0	0
	696～768	0	0.01	0	0.01	0	0	0	0
	768～840	0	0	0	0	0	0	0	0
	840～912	0	0	0	0	0	0	0	0
	912～984	0	0	0	0	0	0	0	0
	984～1056	0	0	0	0.01	0	0	0	0
	1056～1128	0	0	0	0	0	0	0	0
	1128～1200	0	0	0	0	0	0	0	0
	1200～1272	0	0	0	0	0.01	0	0	0
	1272～1344	0	0	0	0	0	0	0	0
	累積排泄率	0.59	88.9	0.73	88.6	1.62	88.2	0.81	89.5

		投与量に対する放射能の回収比率（%）							
性別（雄／雌）／動物数：		雄/3		雌/3		雄/3		雌/3	
試料		尿	糞便	尿	糞便	尿	糞便	尿	糞便
時間（h）	ケージ残屑洗浄液／ワイプ	1.56		1.84		1.13		0.67	
	総回収率	91.1		91.2		90.9		91.0	

[a] 名目用量を表示した。実際の投与量は 14.7 mg/kg（経口）及び 5.02 mg/kg（静脈内）であった。
NS = 検体採取なし

2.6.5.14.5　サルにおける[^{14}C]-ロナファルニブ単回経口投与後の尿及び糞中排泄

試験番号：SN00039 **動物種：**サル（カニクイ） **給餌条件：**絶食			**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.5-1	
溶媒／剤形：		0.4% w/v MC		
投与方法：		経口（強制）		
用量（mg/kg）[a]**：**		30 mg/kg		
分析対象物：		[^{14}C]-ロナファルニブ		
比放射能（μCi/mg）		7.04		
分析法：		LSS		
		投与量に対する放射能の累積排泄率（%）		
性別（雄／雌）／動物数：		**雄/1**		
試料		**尿**	**糞便**	**合計**
時間	Day 1 （0～24 時間）	0.76	46.23	46.99
投与後の日数	1～2	0.80	56.97	57.77
	1～3	0.83	58.28	59.11
	1～4	0.84	66.67	64.51
	1～5	0.84	68.09	68.93
	1～6	0.85	68.32	69.17
	1～7	0.85	68.56	69.41
	1～14	0.88	76.03	76.91
	1～21	0.89	76.35	77.24
	1～28	0.89	76.49	77.38
	1～28[b]	1.2	NA	77.69

[a] 名目用量を表示した。実際の投与量は 32.8 mg/kg であった。
[b] 尿（Day 1～28）+ケージ洗浄液（Day 4、14 及び 28）
NA = 該当せず

2.6.5.14.6　　授乳ラットにおける[^{14}C] ロナファルニブ単回経口投与後の乳汁排泄

試験番号：SN00499 **動物種：**ラット（Sprague Dawley） **給餌条件：**非絶食			**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.5-2	
溶媒／剤形：	0.4% w/v HPMC			
投与方法：	経口（強制）			
用量（mg/kg）：	30 mg/kg			
分析対象物：	[^{14}C]-ロナファルニブ			
比放射能（μCi/mg）	2.93			
分析法：	LSS			
	放射能濃度（ng eq./g）			**放射能濃度比**
性別（雄／雌）／動物数：	**雌/3**			
試料	**血液**	**血漿**	**乳汁**	**乳汁/血漿**
投与後 2 時間	3060	4430	5420	1.24
投与後 6 時間	2200	3220	3920	1.23
投与後 8 時間	1650	2410	3250	1.36
投与後 12 時間	752	1030	1470	1.51
投与後 24 時間	134	157	125	0.353
投与後 48 時間	68.0	45.9	0	0

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1　ヒト取り込みトランスポーターに対するロナファルニブの阻害作用

試験番号：14EIGEP1、CYP1838_R2B **試験系**：OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2 を導入した HEK293 細胞及び BSEP を発現させた膜小胞 **分析方法**：LC-MS/MS	**被験物質**：ロナファルニブ **eCTD における該当箇所**：モジュール 4.2.2.6-1,モジュール 4.2.2.6-4

トランスポーター	細胞株 （試験番号）	基質 （濃度）	ロナファルニブ濃度 （μmol/L）	阻害率（%）	IC_{50} （μmol/L）
OATP1B1	HEK293 （14EIGEP1）	アトルバスタチン （0.15 μmol/L）	0	NA	6.69
			0.0494	16.0	
			0.148	11.3	
			0.444	18.6	
			1.33	24.9	
			4	43.4	
			12	62.5	
OATP1B3	HEK293 （14EIGEP1）	アトルバスタチン （0.15 μmol/L）	12	34.1	>12
OAT1	HEK293 （14EIGEP1）	PAH （10 μmol/L）	12	11.3	>12
OAT3	HEK293 （14EIGEP1）	フロセミド （5 μmol/L）	12	0[a]	>12
OCT1	HEK293 （CYP1838_R2B）	[^{14}C]-テトラエチルアンモニウム （20 μmol/L）	0	NA	0.797
			0.03	0[a]	
			0.1	2.4	
			0.3	29.2	
			1	57.5	
			3	79.0	
			10	94.1	

トランスポーター	細胞株 （試験番号）	基質 （濃度）	ロナファルニブ濃度 （μmol/L）	阻害率（%）	IC_{50} （μmol/L）
OCT2	HEK293 （14EIGEP1）	1-メチル-4-フェニルピリジニウム・ヨージド （5 μmol/L）	12	7.05	>12
BSEP	膜小胞 （CYP1838_R2B）	タウロコール酸 （1 μmol/L）	0	NA	>10
			0.03	8.9	
			0.1	0[a]	
			0.3	0[a]	
			1	0[a]	
			3	0[a]	
			10	0[a]	

[a] 阻害率（%）の負の値は、0 と設定した。
NA = 該当せず

2.6.5.15.2　ヒト排出トランスポーターに対するロナファルニブの阻害作用

試験番号：14EIGEP1、CYP 1838_R1 **試験系**：C2BBe1 単層細胞（BCRP、P-gp）及び MATE1、MATE2-K を導入した HEK293 細胞 **分析法**：LC-MS/MS	**被験物質**：ロナファルニブ **eCTD における該当箇所**：モジュール 4.2.2.6-1. モジュール 4.2.2.6-2

トランスポーター	細胞株 （試験番号）	基質 （濃度）	ロナファルニブ濃度 （μmol/L）	阻害率（%）	IC_{50} （μmol/L）
BCRP	C2BBe1 単層 （14EIGEP1）	クラドリビン（10 μmol/L）	0	0	1.45
			0.0494	24.3	
			0.148	11.5	
			0.444	14.4	
			1.33	50.1	
			4	97.0	
			12	100[a]	
P-gp	C2BBe1 単層 （14EIGEP1）	ジゴキシン（10 μmol/L）	0	0	0.740
			0.0494	18.3	
			0.148	0[b]	
			0.444	27.0	
			1.33	81.6	
			4	100	
			12	100	
MATE1	HEK293 （CYP1838_R1）	[^{14}C]-メトホルミン（100 μmol/L）	0	0	1.91
			0.03	6.1	
			0.1	10.1	
			0.3	11.4	
			1	39.7	
			3	51.9	
			10	90.7	

トランスポーター	細胞株 （試験番号）	基質 （濃度）	ロナファルニブ濃度 （μmol/L）	阻害率（%）	IC_{50} （μmol/L）
MATE2-K	HEK293 （CYP1838_R1）	[^{14}C]-テトラエチルアンモニウム （18 μmol/L）	0	0	2.55
			0.03	0[b]	
			0.1	0[b]	
			0.3	33.8	
			1	48.3	
			3	41.2	
			10	72.1	

[a] 検出可能水準未満の酵素活性
[b] 阻害率（%）の負の値は、0 と設定した。

2.6.5.15.3　　ヒト取り込みトランスポーターに対するロナファルニブの基質評価

試験番号：14EIGEP1、CYP 1838_R2A **試験系：**OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 を導入した HEK293 細胞 **分析方法：**LC-MS/MS	**被験物質：**ロナファルニブ **eCTD における該当箇所：**モジュール 4.2.2.6-1 モジュール 4.2.2.6-3

試験番号	**ロナファルニブ濃度（μmol/L）**	**インキュベーション時間（min）**					
		2		**5**		**10**	
		OATP1B1	**OATP1B3**	**OATP1B1**	**OATP1B3**	**OATP1B1**	**OATP1B3**
		流入比（pmol/min/mg protein）					
14EIGEP1	0.674	1.09	0.684	1.05	1.05	0.997	0.677
	6.74	1.06	0.829	0.956	1.00	1.04	0.895
	12	1.00	0.763	0.962	1.04	0.926	0.816

試験番号	**ロナファルニブ濃度（μmol/L）**	**インキュベーション時間（min）**	
		2	**20**
		OCT1	
		流入比（pmol/min/mg protein）	
CYP1838_R2A	1	0.9	0.7
	10	0.8	0.9
	50	0.9	0.7
	100	0.8	0.8

2.6.5.15.4　　ヒト排出トランスポーターに対するロナファルニブの基質評価

試験番号：14EIGEP1 **試験系**：C2BBe1 単層細胞を用い、ロナファルニブの膜透過性を P-gp 阻害剤（valspordar）及び BCRP 阻害剤である Ko143（Ko143）存在有無による排出比で評価した。 **分析方法**：LC-MS/MS		**被験物質**：ロナファルニブ **eCTD における該当箇所**：モジュール 4.2.2.6-1	
試験条件	**平均 P_{app}（AP-to-BL）（10^{-6} cm/s）**	**平均 P_{app}（BL-to-AP）（10^{-6} cm/s）**	**排出比**
0.674 µmol/L のロナファルニブ	19.9±3.1	41.4±13.2	2.08
6.74 µmol/L のロナファルニブ	24.5±0.4	48.3±5.7	1.97
6.74 µmol/L のロナファルニブ +1 µmol/L の valspordar（P-gp）	26.9±2.3	35.1±6.1	1.30
6.74 µmol/L のロナファルニブ +0.5 µmol/L の Ko143（BRCP）	26.2±1.1	48.4±3.1	1.85
12 µmol/L のロナファルニブ	27.3±0.9	38.6±6.3	1.41

AP-BL = 頂端膜側から基底外側膜側へ、BL-AP = 基底外膜側から頂端膜側へ