目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 5
2.6.4.1 まとめ 5
2.6.4.2 分析法 7
2.6.4.2.1 非標識体 7
2.6.4.2.1.1 安全性薬理試験及び毒性試験における分析法 7
2.6.4.2.1.2 非臨床薬物動態試験における分析法 9
2.6.4.2.2 標識体の分析法 9
2.6.4.3 吸収 10
2.6.4.3.1 In vitro における吸収 10
2.6.4.3.1.1 pH2.0、4.5 及び 6.8 におけるベルモスジルメシル酸塩の溶解度 10
2.6.4.3.1.2 Caca-2 細胞を用いたベルモスジルメシル酸塩の膜透過性 10
2.6.4.3.2 [^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回投与時の血漿中放射能濃度推移 10
2.6.4.3.2.1 ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与時の血漿中放射能濃度推移 10
2.6.4.3.3 ベルモスジルメシル塩酸を単回投与時の血漿中濃度推移 11
2.6.4.3.3.1 マウスにベルモスジルメシル塩酸を単回静脈内投与及び経口投与時の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度 11
2.6.4.3.3.2 ラットにベルモスジルメシル酸塩を単回静脈内投与及び経口投与時の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度 12
2.6.4.3.3.3 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、175 又は 350 mg/kg で単回経口投与時の薬物動態 13
2.6.4.3.3.4 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、175 又は 350 mg/kg で単回経口投与時の薬物動態 15
2.6.4.3.3.5 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 500、1000 又は 2000 mg/kg で単回経口投与時の薬物動態 17
2.6.4.3.3.6 雌雄イヌにベルモスジルメシル酸塩を 25、75 又は 150 mg/kg で単回経口投与時の薬物動態 19
2.6.4.3.4 ベルモスジルメシル酸塩を反復投与時の血漿中濃度推移 21
2.6.4.3.4.1 マウスにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態 21
2.6.4.3.4.2 ラットにベルモスジルメシル酸塩を 28 日間反復経口投与時の薬物動態 21
2.6.4.3.4.3 雄性ラットに 70 日間、雌性ラットに 14 日間反復投与時の薬物動態 22
2.6.4.3.4.4 ラットにベルモスジルメシル酸塩を 6 ヵ月反復経口投与時の薬物動態 26
2.6.4.3.4.5 器官形成期（妊娠 6 日目から 17 日目まで）のラットにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態 28
2.6.4.3.4.6 器官形成期（妊娠 6 日目から 17 日目まで）のラットにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態 30
2.6.4.3.4.7 器官形成期（妊娠 6 日目から 18 日目まで）のウサギにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態 32
2.6.4.3.4.8 器官形成期（妊娠 6 日目から 18 日目まで）のウサギにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態 34
2.6.4.3.4.9 イヌにベルモスジルカプセルを 28 日間反復経口投与時の薬物動態 36
2.6.4.3.4.10 イヌにベルモスジルカプセルを 3 ヵ月反復経口投与時の薬物動態 36
2.6.4.3.4.11 イヌにベルモスジルカプセルを 39 週間反復経口投与時の薬物動態 37
2.6.4.4 分布 39
2.6.4.4.1 Sprague-Dawley ラットにおける組織分布 39
2.6.4.4.2 白色及び有色ラットにおける組織分布 39
2.6.4.4.3 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの in vitro 血漿蛋白結合率 41

2.6.4.4.4 ヒト血漿におけるベルモスジルの蛋白結合率及び結合蛋白質の同定 41
2.6.4.4.5 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの in vitro 血漿中 M2 蛋白結合率 41
2.6.4.4.6 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの in vitro 血球移行性試験 42
2.6.4.4.7 胎盤通過試験 42
2.6.4.5 代謝 42
2.6.4.5.1 推定代謝経路 42
2.6.4.5.2 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソームにおける代謝試験 43
2.6.4.5.3 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝細胞における代謝試験 44
2.6.4.5.4 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソームにおける代謝物同定 44
2.6.4.5.5 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝細胞における代謝物同定 47
2.6.4.5.6 ベルモスジル及び M2 の代謝酵素推定 50
2.6.4.5.7 ベルモスジル代謝における CYP 分子種の寄与率の推定 50
2.6.4.5.8 ラットを用いた in vivo 代謝物同定 51
2.6.4.6 排泄 51
2.6.4.6.1 ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与時の尿及び糞中排泄 51
2.6.4.6.2 乳汁移行試験 52
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 52
2.6.4.7.1 CYP 阻害 52
2.6.4.7.2 UGT 阻害 53
2.6.4.7.3 酵素誘導 54
2.6.4.7.4 トランスポーター基質性評価 56
2.6.4.7.5 トランスポーター阻害 56
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 57
2.6.4.9 考察及び結論 58
2.6.4.9.1 吸収 58
2.6.4.9.2 分布 58
2.6.4.9.3 代謝 59
2.6.4.9.4 排泄 59
2.6.4.9.5 薬物相互作用 59
2.6.4.10 図表 61

略号一覧

略語	省略しない用語	説明又は定義
A to B	apical to basolateral	頂側膜側から基底膜側へ
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24hr}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 h	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$, AUC_{inf}	area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity	0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to t last	0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}, $AUC_{0\text{-}last}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last time the concentration quantified	0 時間から最終測定時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
B to A	basolateral to apical	基底膜側から頂側膜側へ
CL	clearance	クリアランス
CL_{int}	intrinsic clearance	固有クリアランス
C_{max}	maximum concentration	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
DMSO	dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
ER	extraction ratio	抽出率
F	bioavailability	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
HEK293 cells	human embryonic kidney 293 cells	ヒト胎児由来腎臓 293 細胞
IC_{50}	half maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
Ki	inhibition constant	阻害定数
LC-MS/MS	liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
MATE	multidrug and toxin extrusion	多剤及び毒物排出トランスポーター
MDCKII cells	Mardin-Darby canine kidney cells	イヌ腎臓尿細管上皮由来細胞
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーRNA
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオントランスポーターポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P_{app}	apparent permeability	見かけの透過係数
P-gp	P-glycoprotein	P 糖蛋白質
PK	pharmacokinetic(s)	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
SD ラット	Sprague-Dawley ラット	スプラーグドーリーラット
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
t_{max}	time of maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間

略号一覧（続き）

略語	省略しない用語	説明又は定義
TK	toxicokinetic	トキシコキネティクス
UDPGA	uridine 5'-diphosphoglucuronic acid	ウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸
UGT	uridine 5'-diphosphoglucuronosyltransferase	ウリジン 5’-二リン酸グルクロン酸転移酵素
V_z	volume of distribution at terminal phase	終末相における分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

ベルモスジルのマウス、ラット、ウサギ及びイヌにおける吸収、分布、代謝及び排泄について、in vitro 及び in vivo で検討した。薬物動態試験は毒性試験と同一の動物種及び系統を用いた。生体試料中薬物濃度測定、代謝物の定量及び代謝物の構造解析は液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（liquid chromatography tandem mass spectrometry; LC-MS/MS）法を用いた。また[^{14}C]標識体の放射能濃度は液体シンチレーションカウンターにより測定した。なお、2.6.4 項におけるベルモスジルメシル酸塩の投与量及び濃度は、ベルモスジル（遊離塩基）換算値を表記した。

1) 吸収

In vitro の溶解性試験において、ベルモスジルの溶解度は pH2.0 から pH6.8 の間で pH が上昇するにつれて減少した。また、in vitro の Caco-2 単細胞膜を用いた検討から、ベルモスジルは低膜透過性化合物であると考えられた。

マウス及びラットにベルモスジルメシル酸塩を単回静脈内投与又は単回経口投与したところ、ベルモスジルは速やかに吸収された（t_{max} は 100 mg/kg の経口投与で 30～120 分）。ベルモスジルの $AUC_{0-\infty}$ はいずれの動物種においても用量比を上回って増加する傾向が認められた。またベルモスジルのバイオアベイラビリティはマウスで 15～85%、ラットで 12～53%であった。またバイオアベイラビリティは用量の増加に伴って上昇する傾向が認められ、初回通過効果の飽和及び消化管の排泄トランスポーターによる汲み出しの飽和の影響が考えられた。

ラット及びイヌにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与したところ、ラットにおいてはベルモスジルの C_{max} 及び AUC_{last} について雄性ラットより雌性ラットで高い傾向が認められた。初回投与後に対する反復投与後のベルモスジルの AUC 比率は雄性ラットより雌性ラットで高い傾向であった。一方、イヌにおいては明らかな性差は認められなかった。

2) 分布

雌雄白色ラット及び有色ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与したところ、白色ラットにおいては経口投与後の放射能は全身に速やかに分布し、投与 48 時間後には多くの組織で放射能濃度は定量下限付近あるいは検出限界未満となった。一方、有色ラットにおいては雌雄ともにメラニン含有組織において高い放射能濃度が認められ、ベルモスジルあるいはその代謝物はメラニン親和性があることが示唆された。メラニン含有組織においても時間の経過とともに放射能濃度の低下が認められた。

ベルモスジルの in vitro 血漿蛋白結合率は濃度に依存せず、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトのすべての動物種において 99%以上であった。またヒト血漿中においてはヒト血清アルブミンに主に結合していることが示唆された。ベルモスジルのヒトにおける主要代謝物 M2 の in vitro 血漿蛋白結合率は濃度に依存せず、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトは 96%～99%以上であった。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血液を用いてベルモスジルの血球移行性を評価したところ、マウス、ラット、イヌ及びヒトでは血球移行性は低かったが（赤血球／血漿中濃度比 [$K_{RBC/PL}$]はそれぞれ 0.84、0.78、0.85 及び 0.40）、ウサギ血液においては血球への移行が認められた（$K_{RBC/PL}$ は 1.51）。

3) 代謝

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソーム並びに肝細胞を用いた in vitro 代謝試験において、ベルモスジルの代謝物として合計 44 種類の代謝物が検出された。主要な代謝物として *N*-脱アルキル体（M1）及び加水分解体（M2）がいずれの動物種においても認められた。また主要な代謝物として M1 及び M2 がいずれの動物種でも認められた。ヒト試料中においては M2 とグルクロン酸抱合体の 2 種類の代謝物が 5%以上のピーク面積比で検出され、ヒト特異的な代謝物は検出されなかった。

ベルモスジルの主な初発代謝は M1、M2、酸化体、脱水素体、*O*-脱アルキル体及びグルクロン酸抱合体と推定された。ベルモスジルの代謝には種差が認められ、ラットでは、*O*-脱アルキル化及びそれに続く抱合体（グルクロン酸及び硫酸）、*N*-脱アルキル化による M1、加水分解による M2 及び脱水素体の生成が代謝経路として推定された。ヒトでは、M2、モノヒドロキシ体、ジヒドロキシ体、*O*-脱アルキルに続く *O*-脱アルキル硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体生成の生成が代謝経路として推定された。

ヒト CYP 発現系ミクロソーム及びヒト肝ミクロソームを用いた in vitro での検討から、ベルモスジルの代謝には主に CYP3A4 が関与し、寄与は小さいものの CYP2C8 及び CYP2D6 の関与が示された。また、ヒト UGT 発現系ミクロソームを用いた検討により、ベルモスジルの代謝には UGT1A9 の関与が示された。

4) 排泄

ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与したところ、雌雄ともに投与量の約 90%の放射能が糞中に排泄され、尿中への排泄は 1%未満であった。排泄経路に明らかな性差は認められなかった。

5) 薬物間相互作用

ヒト肝ミクロソームを用い、ベルモスジル及び M2 のヒト CYP 分子種に対する阻害作用を検討した結果、ベルモスジルは CYP2C8 及び CYP2C9 を可逆的に阻害した（IC_{50} 値は 1 μmol/L 以下）。また CYP1A2、CYP2C19 及び CYP3A4/5 に対する代謝依存的な阻害も認められた。M2 については CYP1A2、CYP2C8 及び CYP3A4/5 に対する可逆的阻害並びに CYP3A4/5 に対する代謝依存的な阻害が認められた。

ヒト UGT 発現系ミクロソームを用い、ベルモスジル及び M2（0.1～100 μmol/L）の UGT 分子種に対する阻害作用を検討した結果、ベルモスジルは UGT1A1 及び UGT1A9 を阻害し、M2 は UGT1A1 を阻害した（IC_{50} 値は 1 μmol/L 以下）。

ヒト肝細胞においてベルモスジルの CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用を検討したところ、ベルモスジルはこれらの CYP 分子種の mRNA レベルを増加させた。しかしその増加は各陽性対照の 20%未満であり臨床的意義は低いと考えられた。M2 はいずれの CYP 分子種に対する誘導作用も示さなかった。

In vitro 評価系を用いてベルモスジル及び M2 のヒト薬物トランスポーターに対する基質性並びに阻害作用を評価した。その結果、ベルモスジルは P-gp の基質であり、P-gp、BCRP、OATP1B1、MATE1 及び MATE2-K の阻害剤であることが示された。M2 は BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び MATE2-K の基質であり、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT3、MATE1 及び MATE2-K の阻害剤であることが示された。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 非標識体

2.6.4.2.1.1 安全性薬理試験及び毒性試験における分析法

GLP 準拠の安全性薬理試験及び毒性試験において、血漿中ベルモスジル、M1 並びに M2 濃度はバリデートされた LC-MS/MS 法により定量した。各定量法の定量範囲及び安定性を表 2.6.4-1 に示した。

表 2.6.4-1 血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度定量法バリデーションの概要

Report number (Study Type)	Analyte	Matrix	Method	Reference to analytical method	Assay range	Stability Duration
[redacted]-602030 (Rat Pulmonary Study)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	602030	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 12 mo [a)] M1 = 6 mo M2 = 12 mo at -20°C
8289751 (Rat Pulmonary Study)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	[redacted]	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 159 days M1 = 159 days M2 = 159 days at -20°C
1173-028 (28-Day Rat Tox)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	[redacted]29	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 14 mo M1 = 6 mo M2 = 14 mo at -20°C
029502 (3/6-Month Rat Tox)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	[redacted]-02/C	20-5000 ng/mL	Belumosudil = 510 days M1 = 510 days M2 = 510 days at -80°C
2420-006 (Rat Embryo-Fetal Tox)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	[redacted]	10-2000 ng/mL	Belumosudil = 159 days M1 = 159 days M2 = 159 days at -20°C
2420-008 (Rat Fertility Tox)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	[redacted]	10-2000 ng/mL	Belumosudil = 159 days M1 = 159 days M2 = 159 days at -20°C
2420-007 (Rabbit Embryo-Fetal Tox)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	[redacted]	10-2000 ng/mL	Belumosudil = 77 days M1 = 77 days at -80°C M2 = 77 days at -20°C
[redacted]-602029 (Dog Cardiovascular Study)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	[redacted]29	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 12 mo M1 = 90 days M2 = 12 mo at -20°C
1173-029 (28-Day Dog Tox)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	[redacted]29	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 12 mo M1 = 90 days M2 = 12 mo at -20°C
029281 (3 Month Dog Tox)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	[redacted]-01/C	20-5000 ng/mL	Belumosudil = 510 days M1 = 510 days M2 = 510 days at -80°C
8289750 (39-Week Dog Tox)	Belumosudil M1 M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS /MS	[redacted]	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 156 days M1 = 156 days M2 = 156 days at -20°C

a) mo = months

2.6.4.2.1.2 非臨床薬物動態試験における分析法

【2.6.5.3.3】：4.2.2.2-03：SLx-PK-096 マウス単回（Non-GLP）（参考資料）
【2.6.5.3.4】：4.2.2.2-04：SLx-PK-113-213 ラット単回（Non-GLP）（参考資料）
【2.6.5.10.1】：4.2.2.4-02：ADME-KAD-200420-LM 肝ミクロソーム（参考資料）
【2.6.5.10.2】：4.2.2.4-03：ADME-KAD-200420-Hepatocytes 肝細胞（参考資料）
【2.6.5.10.3】: 4.2.2.4-04 : ADME-KAD-200420-LM-MetID 肝ミクロソーム代謝物同定（参考資料）
【2.6.5.10.4】：4.2.2.4-05：ADME-KAD-200420-Heps-MetID 肝細胞代謝物同定（参考資料）
【2.6.5.9.1】：4.2.2.2-05：KDM/03 ラット代謝物同定（参考資料）

非臨床薬物動態試験において、生体試料中及び in vitro 試験試料中のベルモスジル、M1 並びに M2 濃度は LC-MS/MS 法により定量した。動物の組織、排泄物及び in vitro 反応液中の代謝物の同定並びに構造解析は LC-MS/MS 法により行った。

2.6.4.2.2 標識体の分析法

【2.6.5.5.1】：4.2.2.3-01：KDM/01（評価資料）
【2.6.5.3.8】、【2.6.5.5.2】、【2.6.5.9.1】、【2.6.5.13.1】：4.2.2.2-05：KDM/03（参考資料）
【2.6.5.6.2】：4.2.2.3-03：KDM/06（参考資料）

[^{14}C]標識体を用いた非臨床薬物動態試験において、動物生体試料中放射能濃度を液体シンチレーションカウンターにより測定した。試験に用いた標識体の詳細を表 2.6.4-2 に示した。ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）実施時の放射能濃度の定量下限は 0.612 及び 0.632 µg equivalents/g であった。

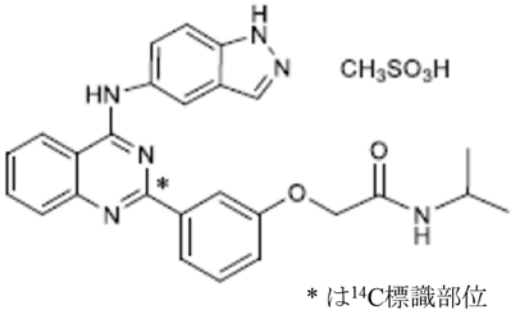


図 2.6.4-1 [^{14}C]ベルモスジルの化学構造式

表 2.6.4-2 [^{14}C]ベルモスジル詳細

Lot	CFQ43429	CFQ41363
使用試験	KDM/03、KDM/06	KDM/01
標識体純度	99.6%	98.6%
比活性	2.18 GBq/mmol	2.22 GBq/mmol

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 In vitro における吸収

2.6.4.3.1.1 pH2.0、4.5 及び 6.8 におけるベルモスジルメシル酸塩の溶解度

【2.6.5.3.1】：4.2.2.2-01：ADME-KAD-200402-Kinetic Solubility（参考資料）

ベルモスジルメシル酸塩（0.3 mmol/L）を pH2.0、4.5 及び 6.8 の緩衝液に溶解させ、緩衝液中ベルモスジル濃度を測定することにより溶解度を検討した。pH2.0、4.5 及び 6.8 の緩衝液中におけるベルモスジルの溶解度はそれぞれ 223.98、2.27 及び< 0.26 µmol/L であり、pH の上昇とともに溶解度が低くなることが示された。

2.6.4.3.1.2 Caca-2 細胞を用いたベルモスジルメシル酸塩の膜透過性

【2.6.5.3.2】：4.2.2.2-02：ADME-KAD-200410-Caco-2（参考資料）

Caco-2 細胞単層膜を用いて、ベルモスジルメシル酸塩（1, 10 及び 100 µmol/L）の頂側膜側から基底膜側（A to B）及び基底膜側から頂側膜側（B to A）への見かけの透過係数（P_{app}）を算出し、双方向輸送を検討した。

ベルモスジルの、基底膜側から頂側膜側への P_{app}（P_{app}（B to A））／頂側膜側から基底膜側への P_{app}（P_{app}（A to B））（efflux ratio）は 1、10 及び 100 µmol/L の各濃度においてそれぞれ ＞2.06、4.01 及び 0.727 であった。また P_{app}（A to B）はそれぞれ ＜0.919、0.294 及び 0.276 cm/s×10^{-6} であった。この P_{app}（A to B）は低膜透過性のコントロールであるアテノロールに近いことから、ベルモスジルは低膜透過性化合物であると考えられた。

2.6.4.3.2 [^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回投与時の血漿中放射能濃度推移

2.6.4.3.2.1 ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与時の血漿中放射能濃度推移

【2.6.5.3.8】：4.2.2.2-05：KDM/03（参考資料）

雌雄ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を 150 mg/kg（100 µCi/kg）で単回経口投与したときの血漿中放射能濃度を検討した。また血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度についても測定した。

経口投与したときの血漿中放射能濃度は、雄性ラットでは投与後 8 時間で C_{max}（9.59 µg eq./g）に達し、その後は 7.26 時間の $t_{1/2}$ で消失した。雌性ラットでは投与後 24 時間に C_{max}（8.94 µg eq./g）に達し、その後は 4.94 時間の $t_{1/2}$ で消失した。雄性及び雌性ラットにおける AUC_{inf} は、それぞれ 249 及び 239 ng eq.· hr/g であった。雌雄ラットで血漿中総放射能濃度推移は比較的類似した二峰性を示した。

血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度は、いずれの時点においても血漿中放射能度と比較して低い濃度であったことから、ベルモスジル、M1 及び M2 はラットにおいて速やかに代謝されていると考えられた。

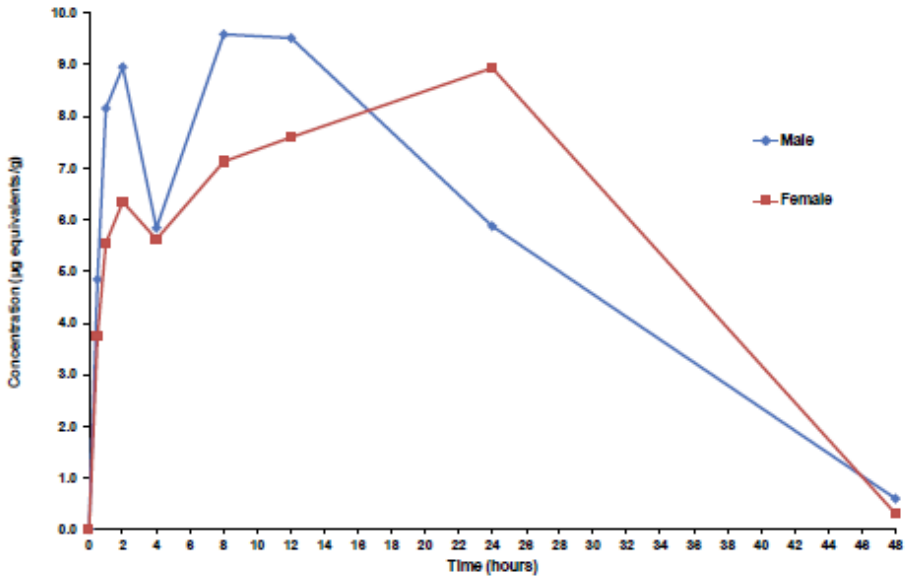


図 2.6.4-2 雌雄ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与後の血漿中放射能濃度推移

表 2.6.4-3 雌雄ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与後の血漿中放射能の薬物動態パラメータ

Sex	t_{max} (hr)	C_{max} (µg equivalents/g)	AUC_{0-t} (µg equivalents· hr /g)	AUC_{inf} (µg equivalents· hr /g)	$t_{1/2}$ (hr)
Male	8	9.59	243	249	7.26
Female	24	8.94	237	239	4.94

2.6.4.3.3 ベルモスジルメシル塩酸を単回投与時の血漿中濃度推移

2.6.4.3.3.1 マウスにベルモスジルメシル塩酸を単回静脈内投与及び経口投与時の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度

【2.6.5.3.3】：4.2.2.2-03：SLx-PK-096（参考資料）

雄性マウスにベルモスジルメシル酸塩を 1 mg /kg 単回静脈内投与又は 20～100 mg/kg 単回経口投与したときの血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度推移を検討した。

静脈内投与したとき、ベルモスジル C_{5min} は 1620 ng/mL、AUC_{inf} は 459 ng·hr/mL、$t_{1/2}$ は 16 分であった。終末相における分布容積（V_Z）は 0.81 L/kg、CL は 36 mL/min/kg であった。ベルモスジルの AUC_{inf} に対する M1 及び M2 の AUC_{inf} の比は、それぞれ 0.06 及び 0.10 であった。経口投与したとき、ベルモスジルは 15～60 分で C_{max} に達し、消失した。20、40、60 及び 100 mg/kg 投与群の C_{max} はそれぞれ 638、2159、3521 及び 4481 ng/mL、AUC_{inf} はそれぞれ 1359、6937、15208 及び 38884 ng·hr/mL であり、C_{max} 及び AUC_{inf} は用量比を上回って増加した。経口及び静脈内投与したときの AUC_{inf} から算出したバイオアベイラビリティ（F）は 15～85%であった。経口投与時のベルモスジルの AUC_{inf} に対する M1 及び M2 の AUC_{inf} の比は、それぞれ 0.29～0.31 及び 0.26～0.30 であり、静脈内投与時に比べ高かった。

表 2.6.4-4 マウスにベルモスジルメシル酸塩を単回静脈内投与後のベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータ

投与経路	投与量 (mg/kg)	化合物	t_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{inf} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (min)	V_z (L/kg)	CL (mL/min/kg)	Metabolite Ratio [a)]
静脈内	1	ベルモスジル	5	1620 [b)]	459	16	0.81	36	NA
		M1	10	74	27	24	NA	NA	0.06
		M2	5	171	44	18	NA	NA	0.10

a) Metabolite AUC_{inf} / Belumosudil AUC_{inf}
b) 投与後最初の測定時点（投与後 5 分）
NA = not applicable

表 2.6.4-5 マウスにベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与後のベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータ

投与経路	投与量 (mg/kg)	化合物	t_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{inf} (ng·hr/mL)	Metabolite Ratio [a)]	F (%)
経口	20	ベルモスジル	15	683	1359	NA	15
		M1	15	230	485	0.36	NA
		M2	30	218	369	0.27	NA
	40	ベルモスジル	30	2159	6937	NA	38
		M1	30	1058	2151	0.31	NA
		M2	30	1034	1893	0.27	NA
	60	ベルモスジル	60	3521	15208	NA	55
		M1	30	1614	4418	0.29	NA
		M2	30	1607	3903	0.26	NA
	100	ベルモスジル	30	4481	38884	NA	85
		M1	30	2481	12147	0.31	NA
		M2	30	2276	11651	0.30	NA

a) Metabolite AUC_{inf} / Belumosudil AUC_{inf}
NA = not applicable

2.6.4.3.3.2 ラットにベルモスジルメシル酸塩を単回静脈内投与及び経口投与時の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度

【2.6.5.3.4】：4.2.2.2-04：SLx-PK-113-213（参考資料）

雄性ラットにベルモスジルメシル酸塩を 1 mg/kg で単回静脈内投与又は 10～150 mg/kg で単回経口投与したときの血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度推移を検討した。

静脈内投与したとき、ベルモスジルの C_{5min} は 555 ng/mL、AUC_{last} は 236 ng·hr/mL、$t_{1/2}$ は 23 分であった。また V_z は 2.3 L/kg、CL は 69 mL/min/kg であった。ベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比は、それぞれ 0.49 及び 0.35 であった。経口投与したとき、ベルモスジルは 30～120 分で C_{max} に達し、10、30、100 及び 150 mg/kg 投与群の C_{max} はそれぞれ 178、353、2081 及び 2662 ng/mL、AUC_{last} はそれぞれ 371、826、12609 及び 18057 ng· hr/mL であり、経口投与後のベルモスジルの C_{max} 及び AUC_{last} は用量比を上回って増加した。経口及び静脈内投与したときの AUC_{last} から算出した F は 12～53%であった。経口投与時のベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比は、それぞれ 0.43～2.96 及び 0.19～1.08 であった。

表 2.6.4-6 ラットにベルモスジルメシル酸塩を単回静脈内投与後のベルモスジル､M1 及び M2 の薬物動態パラメータ

投与経路	投与量 (mg/kg)	化合物	t_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (min)	V_z (L/kg)	CL (mL/min/kg)	Metabolite Ratio [a)]
静脈内	1	ベルモスジル	5	555 [b)]	236	23	2.3	69	NA
		M1	15	151	116	30	NA	NA	0.49
		M2	5	124	83	29	NA	NA	0.35

a) Metabolite AUC_{last} / Belumosudil AUC_{last}
b) 投与後最初の測定時点（投与後 5 分）
NA = not applicable

表 2.6.4-7 ラットにベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与後のベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータ

投与経路	投与量 (mg/kg)	化合物	t_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·hr/mL)	Metabolite Ratio [a)]	F (%)
経口	10	ベルモスジル	30	178	371	NA	16
		M1	60	201	522	1.41	NA
		M2	60	102	187	0.50	NA
	30	ベルモスジル	60	353	826	NA	12
		M1	60	949	2443	2.96	NA
		M2	60	340	894	1.08	NA
	100	ベルモスジル	120	2081	12609	NA	53
		M1	60	1192	6226	0.49	NA
		M2	60	467	2435	0.19	NA
	150	ベルモスジル	120	2662	18057	NA	51
		M1	60	1238	7722	0.43	NA
		M2	120	560	3946	0.22	NA

a) Metabolite AUC_{last} / Belumosudil AUC_{last}
NA = not applicable

2.6.4.3.3.3 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、175 又は 350 mg/kg で単回経口投与時の薬物動態

【2.6.5.3.5】：4.2.1.3-04：[redacted]-602030（評価資料）

絶食下、雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、175 又は 350 mg/kg で単回経口投与したときの薬物動態について検討した。

雌雄ラットに経口投与したとき、50～350 mg/kg 間で投与量の増加に伴うベルモスジル、M1 並びに M2 の C_{max} 及び AUC_{last} の増加が見られた。また、ベルモスジルの C_{max} 及び AUC_{last} は雄性ラットに比べ、雌性ラットの方が高い傾向が認められた。

雄性ラットではベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比はそれぞれ 0.39～0.54 及び 0.24～0.28 であり、雌性ラットではベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比はそれぞれ 0.09～0.12 及び 0.05～0.08 であった。雌雄共にベルモスジルに対する AUC_{last} の比は M2 に比べ M1 の方が高い傾向が認められた。また、ベルモスジルに対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比は雄性ラットに比べ、雌性ラットの方が低かった。

表 2.6.4-8 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、175 又は 350 mg/kg で単回経口投与後の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	AUC_{last} [a)] (ng·hr/mL)	Metabolite/Belumosudil Ratio [b)]	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (hr)
Belumosudil				
Males				
50	11468	NA	1283	2
175	18661	NA	3557	2
350	29110	NA	6354	2
Females				
50	19530	NA	3810	2
175	65323	NA	6411	2
350	79490	NA	7492	2
M1				
Males				
50	6222	0.54	695	2
175	7694	0.41	905	4
350	11229	0.39	1536	2
Females				
50	1834	0.09	295	4
175	7907	0.12	469	24
350	9169	0.12	553	4
M2				
Males				
50	3182	0.28	375	2
175	4415	0.24	610	2
350	6853	0.24	1026	2
Females				
50	1028	0.05	154	4
175	4995	0.08	298	24
350	5727	0.07	294	4

a) AUC_{last} = $AUC_{0\text{-}24hr}$ for all groups

b) Ratio of Metabolite AUC_{last} / Belumosudil AUC_{last}

The AUC_{last} for males receiving 50 mg/kg was 5737, 4052 and 2009 for belumosudil, M1 and M2, respectively, when excluding the single measurable sample at 24 hours post-dosing.

NA = not applicable, n = 6/each group

2.6.4.3.3.4 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、175 又は 350 mg/kg で単回経口投与時の薬物動態

【2.6.5.3.6】：4.2.1.3-05：8289751（評価資料）

非絶食下、雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、175 又は 350 mg/kg で単回経口投与したときの薬物動態について検討した。

雌雄ラットに経口投与したとき、50～350 mg/kg 間での投与量増加に伴うベルモスジル、M1 並びに M2 の C_{max} 及び AUC_{last} の増加が見られた。また、ベルモスジルの C_{max} 及び AUC_{last} は雄性ラットに比べ、雌性ラットの方が高い傾向が認められた。

雄性ラットではベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比は 0.30～0.41 及び 0.19～0.25 であった。雌性ラットではベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比は 0.08～0.09 及び 0.05～0.07 であった。雌雄共にベルモスジルに対する AUC_{last} の比は M2 に比べ M1 の方が高い傾向が認められた。また、ベルモスジルに対する AUC_{last} の比は雄性ラットに比べ、雌性ラットの方が低かった。

表 2.6.4-9 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、175 又は 350 mg/kg で単回経口投与後の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	AUC_{last} [a)] (ng·hr/mL)	Metabolite/Belumosudil Ratio [b)]	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (hr)
Belumosudil				
Males				
50	20300	NA	2000	6
175	55100	NA	3060	16
350	75300	NA	3940	6
Females				
50	60500	NA	3390	6
175	86400	NA	6450	2
350	115000	NA	6570	2
M1				
Males				
50	8400	0.413	804	4
175	17400	0.315	933	24
350	22400	0.298	1230	24
Females				
50	5360	0.0886	287	24
175	6650	0.0770	487	24
350	10800	0.0939	1100	24
M2				
Males				
50	5100	0.251	543	4
175	12300	0.224	746	24
350	14500	0.193	839	24
Females				
50	3270	0.0541	183	24
175	5050	0.0585	416	24
350	8150	0.0706	722	24

a) AUC_{last} = $AUC_{0\text{-}24hr}$ for all groups
b) Ratio of Metabolite AUC_{last} / Belumosudil AUC_{last}
NA = not applicable, n = 9/each group

2.6.4.3.3.5 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 500、1000 又は 2000 mg/kg で単回経口投与時の薬物動態

【2.6.5.3.7】：4.2.3.3.2-01：AB44FM.125.BTL（評価資料）

雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 500、1000 又は 2000 mg/kg で単回経口投与したときの薬物動態について検討した。

雌雄ラットに経口投与したとき、500～2000 mg/kg 間で投与量の増加に伴うベルモスジル、M1 並びに M2 の C_{max} 及び AUC_{last} の増加は見られず、用量間で顕著な差は認められなかった。また、ベルモスジルの C_{max} 及び AUC_{last} は雌雄ラットで同程度であった。

雄性ラットではベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比は 0.41 及び 0.24 であった。雌性ラットではベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比は 0.18～0.22 及び 0.09～0.10 であり、雌雄共にベルモスジルに対する AUC_{last} の比は M2 に比べ M1 の方が高い傾向が認められた。また、ベルモスジルに対する AUC_{last} の比は雄性ラットに比べ、雌性ラットの方が低かった。

表 2.6.4-10 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 500、1000 又は 2000 mg/kg で単回経口投与後の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	C_{max}/Dose ((ng/mL)/(mg/kg))	AUC_{last} a) (ng·hr/mL)	AUC_{last} a)/Dose ((ng·hr/mL)/(mg/kg))	Metabolite/ Belumosudil Ratio b)
Belumosudil						
Males						
500	24	8537	17.1	161977	324	NA
1000	4	12867	12.9	141983	142	NA
2000	4	12403	6.2	174789	87.4	NA
Females						
500	24	9407	18.8	204268	409	NA
1000	24	11133	11.1	195740	196	NA
2000	24	11120	5.6	181366	90.7	NA
M1						
Males						
500	24	4240	8.5	65652	131.3	0.41
1000	24	3327	3.3	57520	57.5	0.41
2000	24	4450	2.2	71895	35.9	0.41
Females						
500	24	2370	4.7	36150	72.3	0.18
1000	24	4083	4.1	43744	43.7	0.22
2000	24	2943	1.5	35583	17.8	0.20
M2						
Males						
500	24	2220	4.4	39574	79.1	0.24
1000	24	1997	2.0	34077	34.1	0.24
2000	24	2293	1.1	41422	20.7	0.24
Females						
500	24	1283	2.6	19208	38.4	0.09
1000	24	1807	1.8	20028	20.0	0.10
2000	24	1487	0.74	18420	9.2	0.10

a) AUC_{last} = $AUC_{0\text{-}24hr}$ for all groups
b) Ratio of Metabolite AUC_{last} / Belumosudil AUC_{last}
NA = not applicable

2.6.4.3.3.6 雌雄イヌにベルモスジルメシル酸塩を 25、75 又は 150 mg/kg で単回経口投与時の薬物動態

【2.6.5.3.9】：4.2.1.3-03：[redacted]-602029（評価資料）

絶食下、雌雄ビーグル犬にベルモスジルメシル酸塩を入れたカプセルを 25、75 又は 150 mg/kg で単回経口投与したときの薬物動態について検討した。なお、25 mg/kg の雄 1 例及び 75 mg/kg の雄 1 例で血漿中濃度が検出されなかったが、そのうちの 75 mg/kg の雄は投与約 10 分後に嘔吐したため、結果から除外した。全ての群でベルモスジルの AUC_{last} は最大の個体と最小の個体の比が 100 倍以上であり、個体間変動が非常に大きかったため、定量的な議論は困難であった。

雌雄イヌに経口投与したとき、25～150 mg/kg 間での投与量増加に伴うベルモスジル、M1 及び M2 の AUC_{last} の増加が見られた。また、ベルモスジルの C_{max} 及び AUC_{last} は雄性イヌに比べ、雌性イヌの方が高い傾向が認められた。

雄性イヌではベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比は 0.02～0.15 及び 0.03～0.08 であった。雌性イヌではベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比は 0.09～0.12 及び 0.06～0.09 であり、ベルモスジルに対する AUC_{last} の比に顕著な性差は認められなかった。

表 2.6.4-11 雌雄イヌにベルモスジルメシル酸塩を 25、75 又は 150 mg/kg で単回経口投与後の薬物動態

Dose (mg/kg)	AUC_{last} (ng·hr/mL)	AUC_{last}/ Dose [a)]	Metabolite/ Belumosudil Ratio [b)]	C_{max} (ng/mL)	C_{max}/Dose [a)]	t_{max} [c)] (hr)	$t_{1/2}$ (hr)
Belumosudil							
Males							
25	1954‡	78.2‡	NA	392‡	15.7‡	(2) 2-4†[3]	1.0†[1]
75	12417†[3]	166†[3]	NA	1688†[3]	22.5†[3]	2-6†[3]	1.5†[1]
150	20270	135	NA	2019	13.5	(6) 2-12	2.3†[2]
Females							
25	3156	126	NA	914	36.6	(3) 2-4	0.9
75	15870	212	NA	2717	36.2	3-12	2.4†[2]
150	40294	269	NA	4224	28.2	(4) 4-12	2.8†[2]
M1							
Males							
25	131‡	5.23‡	0.02‡†[3]	27.3‡	1.09‡	4†[1]	NR
75	1821‡†[3]	24.3‡†[3]	0.11‡†[3]	269‡†[3]	3.59‡†[3]	6-8†[2]	1.6†[1]
150	3720‡	24.8‡	0.15‡	417‡	2.78‡	6-12†[3]	2.0†[2]
Females							
25	296	11.8	0.09	91.0	3.64	(4) 2-4	1.3†[1]
75	2389‡	31.8‡	0.10‡	386‡	5.15‡	(4) 4-8†[3]	2.1†[2]
150	5509	36.7	0.12	573	3.82	(4) 4-12	1.5†[1]
M2							
Males							
25	154‡	6.17‡	0.03‡†[3]	36.8‡	1.47‡	6†[1]	NR
75	1228‡†[2]	16.4‡†[3]	0.06‡†[3]	158‡†[3]	2.11‡†[3]	6-8†[2]	2.2†[1]
150	2264‡	15.1‡	0.08‡	222‡	1.48‡	6-12†[3]	2.0†[1]
Females							
25	227	9.09	0.07	67.6	2.70	3-4	1.6†[2]
75	1109‡	14.8‡	0.06‡	161‡	2.14‡	4-8†[3]	NR
150	3127	20.8	0.09	281	1.87	6-12	2.0†[1]

a) Units for dose-normalized AUC_{last} and C_{max} are (ng·hr/mL)/(mg/kg) and (ng/mL)/(mg/kg), respectively.
b) Metabolite/Belumosudil Ratio = Metabolite AUC_{last} / Belumosudil AUC_{last}; includes all individual values, except where subject exposure was zero.
c) For t_{max}, the mode (included in parentheses where applicable) and range are reported.
‡ Mean includes 1 or more values of 0.00.
n = 4, except where indicated as †[n]
NA = not applicable, NR = not reportable

2.6.4.3.4 ベルモスジルメシル酸塩を反復投与時の血漿中濃度推移

2.6.4.3.4.1 マウスにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態

【2.6.5.4.1】：4.2.2.2-06：SLx-PK-239（参考資料）

雄性マウスにベルモスジルメシル酸塩を 60 mg/kg/日で 7 日間反復経口投与し、血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度を測定した。

投与 7 日目のベルモスジルの C_{max} は 2918 ng/mL、AUC_{last} は 15014 ng·hr/mL であり、ベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} の比は、それぞれ 0.25 及び 0.35 であった。反復投与後のベルモスジルの薬物動態パラメータ及び AUC_{last} の比は、単回投与時（2.6.4.3.3 参照）と同様であり、反復投与による影響は認められなかった。

表 2.6.4-12 雄性マウスにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与後の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータ

投与経路	投与量 (mg/kg)	化合物	t_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·hr/mL)	Metabolite Ratio [a)]
経口	60	ベルモスジル	60	2918	15014	NA
		M1	60	1287	3747	0.25
		M2	60	1680	5264	0.35

a) Metabolite AUC_{last}/ Belumosudil AUC_{last}

2.6.4.3.4.2 ラットにベルモスジルメシル酸塩を 28 日間反復経口投与時の薬物動態

【2.6.5.4.2】：4.2.3.2-01：1173-028（評価資料）

雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、150 又は 375 mg/kg/日で 28 日間反復経口投与したときの 1 日目及び 28 日目の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度を測定した。

雄性ラットでは、1 日目のベルモスジルの C_{max} 及び AUC_{last} は 50～375 mg/kg/日間で投与量の増加に伴い増加した。28 日目においても投与量の増加に伴いベルモスジルの C_{max} 及び AUC_{last} は増加した。雌性ラットについても 1 日目及び 28 日目において、投与量増加に伴うベルモスジルの C_{max} 及び AUC_{last} の増加が見られた。雌性ラットの AUC_{last} は雄性ラットの 1.4～3.1 倍であった。

雄性ラットでの 28 日目のベルモスジルに対する M1 の AUC_{last} の比は 0.23～0.57 であり、M2 では 0.12～0.30 であった。雌性ラットでの 28 日目の M1 の AUC_{last} の比は 0.13～0.18、M2 では 0.07～0.08 であり、雄性ラットに比べ低かった。375 mg/kg/日の 28 日目を除き、M1 及び M2 の C_{max} 及び AUC_{last} は、雌性ラットに比べ雄性ラットの方が高く、雄性ラットの AUC_{last} は雌性ラットの 1.2～1.4 倍であった。ベルモスジル、M1 及び M2 の累積率は、375 mg/kg/日の雌性ラットで高かった。

表 2.6.4-13 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 28 日間反復経口投与後 1 日目及び 28 日目の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex	Day 1				Day 28				
		t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·hr/mL)	Metabolite Ratio [c]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·hr/mL)	Accumulation Ratio [b]	Metabolite Ratio [c]
Belumosudil										
50	M	8.00	1590	12700	NA	6.00	1950	14400	1.13	NA
	F	2.00	3900	39300	NA	8.00	4010	40400	1.03	NA
150	M	4.00	3970	38600	NA	8.00	5750	68500	1.77	NA
	F	1.00	6540	65700	NA	8.00	9640	98000	1.49	NA
375	M	2.00	3920	51200	NA	6.00	13900	150000	2.93	NA
	F	4.00	7870	90600	NA	4.00	23000	369000	4.07	NA
M1 [a]										
50	M	8.00	1070	9930	0.78	6.00	975	8140	0.82	0.57
	F	8.00	642	6220	0.16	8.00	554	6520	1.05	0.16
150	M	4.00	1560	20000	0.52	8.00	1970	20800	1.04	0.30
	F	16.0	594	8890	0.14	8.00	1480	17500	1.97	0.18
375	M	2.00	1750	29100	0.57	8.00	2850	34200	1.18	0.23
	F	24.0	1010	16700	0.18	8.00	2820	46400	2.78	0.13
M2 [a]										
50	M	8.00	567	5430	0.43	6.00	512	4350	0.80	0.30
	F	8.00	293	3590	0.09	8.00	276	3290	0.92	0.08
150	M	4.00	968	11100	0.29	8.00	1140	11500	1.04	0.17
	F	8.00	260	4320	0.07	8.00	758	7950	1.84	0.08
375	M	2.00	908	15800	0.31	8.00	1350	18000	1.14	0.12
	F	24.0	465	8920	0.10	2.00	1210	24100	2.70	0.07

a) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil
b) Accumulation Ratios are based on AUC_{last} (AUC_{last} on Day 28/AUC_{last} on Day 1).
c) Metabolite AUC_{last}/ Belumosudil AUC_{last}
NA = not applicable

2.6.4.3.4.3 雄性ラットに 70 日間、雌性ラットに 14 日間反復投与時の薬物動態

【2.6.5.4.3】：4.2.3.5.1-01：2420-008（評価資料）

雄性ラットに 70 日間、雌性ラットに 14 日間ベルモスジルメシル酸塩を 50、150 又は 275 mg/kg/日で反復経口投与したときの投与初日と最終投与日の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度を測定した。

雄性ラットに反復投与したとき、投与 1 日目及び 70 日目において 50、150 及び 275 mg/kg/日間で投与量の増加に伴うベルモスジルの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ の増加が認められた。M1 及び M2 についてもベルモスジルとほぼ同様の傾向が認められた。投与 1 日目と 70 日目の $AUC_{0\text{-}24hr}$ より算出したベルモスジルの累積率を算出したところ、50 及び 150 mg/kg/日間では、顕著な蓄積は認められなかったが、275 mg/kg/日では、約 2 倍の累積が見られた。また、投与 70 日目のベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ に対する M1 及び M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ の比は 0.23～0.39 及び 0.14～0.19 であった。

雌性ラットに反復投与したとき、投与 1 日目及び 14 日目において 50、150 及び 275 mg/kg/日間で投与量の増加に伴うベルモスジルの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ の増加が見られた。雄性ラットと同様の傾向を示した。M1 及び M2 についても、投与 1 日目及び 14 日目において 50、150 及び 275 mg/kg/日間での投与量の増加に伴う C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ の増加が見られた。ベルモスジルの累積率は、50、150 及び 275 mg/kg/日間で投与量の増加に伴った増加が見られた。また、投与 14 日目のベルモスジルの

$AUC_{0\text{-}24hr}$に対する M1 及び M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$の比は 0.14～0.18 及び 0.05～0.10 であった。投与 1 日目のラットにおけるベルモスジルの C_{max}及び $AUC_{0\text{-}24hr}$は雌性ラットの方が雄性ラットに比べ高かった。また、雄性ラットに比べ、雌性ラットの方が、$AUC_{0\text{-}24hr}$より算出したベルモスジルに対する M1 及び M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$の比は低かったが、共に M2 に比べ M1 の方が高い $AUC_{0\text{-}24hr}$の比を示した。

表 2.6.4-14 雄性ラットにベルモスジルメシル酸塩を 70 日間反復投与時の投与 1 日目と 70 日目の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex	Day 1					Day 70					
		t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Metabolite Ratio [c]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Accumulation Ratio [b]	Metabolite Ratio [c]
Belumosudil												
50	M	8.00	2170	20100	NC	NA	8.00	2480	21600	NC	1.07	NA
150	M	8.00	5370	81600	NC	NA	4.00	10100	70100	NC	0.859	NA
275	M	24.0	7200	96400	NC	NA	8.00	20400	191000	NC	1.98	NA
M1 [a]												
50	M	8.00	934	10500	NC	0.520	8.00	770	8460	NC	0.807	0.393
150	M	24.0	1420	25600	NC	0.314	4.00	1800	16200	NC	0.634	0.231
275	M	24.0	2820	35600	NC	0.369	8.00	3350	44200	NC	1.24	0.232
M2 [a]												
50	M	8.00	501	5440	NC	0.270	8.00	410	4080	NC	0.750	0.189
150	M	24.0	686	13600	NC	0.166	8.00	1070	9520	NC	0.701	0.136
275	M	24.0	1680	21500	NC	0.223	8.00	1900	28900	NC	1.35	0.151

a) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil
b) Accumulation and metabolite ratios are based on AUC_{0-24hr}.
c) Metabolite AUC_{0-24hr}/ Belumosudil AUC_{0-24hr}
NA = not applicable, NC = not calculated

表 2.6.4-15 雌性ラットにベルモスジルメシル酸塩を 14 日間反復投与時の投与 1 日目と 14 日目の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex	Day 1					Day 14					
		t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0–24hr}$ (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Metabolite Ratio [c]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0–24hr}$ (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Accumulation Ratio [b]	Metabolite Ratio [c]
Belumosudil												
50	F	2.00	4540	49200	NC	NA	2.00	3200	26200	2.06	0.533	NA
150	F	1.00	5670	95700	NC	NA	2.00	9860	99500	4.46	1.04	NA
275	F	2.00	7050	122000	NC	NA	4.00	14900	209000	6.11	1.72	NA
M1 [a]												
50	F	8.00	369	5000	NC	0.102	2.00	294	3690	NC	0.738	0.141
150	F	24.0	1050	16100	NC	0.168	8.00	1260	18200	NC	1.13	0.183
275	F	24.0	2020	24900	NC	0.204	8.00	2290	37000	NC	1.49	0.177
M2 [a]												
50	F	8.00	135	2100	NC	0.0429	2.00	125	1390	9.57	0.657	0.0529
150	F	12.0	398	6860	NC	0.0716	8.00	523	7110	4.38	1.04	0.0715
275	F	24.0	925	11500	NC	0.0946	2.00	1480	20700	7.41	1.80	0.0991

a) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil

b) Accumulation and metabolite ratios are based on $AUC_{0\text{-}24hr.}$

c) Metabolite $AUC_{0\text{-}24hr}$/ Belumosudil $AUC_{0\text{-}24hr}$

NA = not applicable, NC = not calculated

2.6.4.3.4.4 ラットにベルモスジルメシル酸塩を 6 ヵ月反復経口投与時の薬物動態

【2.6.5.4.4】：4.2.3.2-02：029502（評価資料）

雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、125 又は 275 mg/kg/日で 6 ヵ月反復経口投与したときの 1 日目、3 ヵ月後及び 6 ヵ月後の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度を測定した。

単回及び反復投与において、ベルモスジルの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は、雌雄共に投与量の増加に伴い増加した。1 日目には C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ の顕著な性差は認められなかったが、3 ヵ月以降では雌性ラットの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は雄性ラットの約 2 倍となった。また、雄性ラットに比べ雌性ラットでより大きな累積率が認められた。雄性ラットでのベルモスジルに対する M1 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ の比は 0.24～0.34 であり、M2 では 0.12～0.23 であった。雌性ラットでの M1 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ の比は 0.10～0.14、M2 では 0.05～0.07 であり、雄性ラットに比べ低かった。

表 2.6.4-16 雌雄ラットにベルモスジルメシル酸塩を 6 ヵ月反復経口投与時の第 1 日目、3 ヵ月後及び 6 ヵ月後の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex	Day 1					3 Month						6 Month					
		t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{½}$ (hr)	MR [c]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{½}$ (hr)	AR [b]	MR [c]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{½}$ (hr)	AR [b]	MR [c]
Belumosudil																		
50	M	8	4170	26700	NC	NA	4	3640	24000	2.11	0.90	NA	6	2980	25000	NC	0.94	NA
	F	4	3830	43400	3.37	NA	8	8670	60400	2.00	1.39	NA	8	7390	73500	NC	1.70	NA
125	M	6	5030	60900	3.72	NA	6	10400	68300	2.02	1.12	NA	6	7100	61500	2.19	1.01	NA
	F	2	6220	81600	4.87	NA	6	15800	164000	1.68	2.01	NA	8	14900	167000	1.39	2.05	NA
275	M	24	8930	120000	NC	NA	6	13900	162000	2.09	1.35	NA	6	10600	112000	1.74	0.93	NA
	F	24	9180	115000	NC	NA	12	29600	394000	NC	3.43	NA	2	29500	474000	6.89	4.12	NA
M1 [a]																		
50	M	8	950	8130	NC	0.30	6	1040	8230	NC	1.01	0.34	4	710	8020	NC	0.99	0.32
	F	8	329	4530	2.91	0.10	8	911	6940	NC	1.53	0.11	8	865	7920	NC	1.75	0.11
125	M	6	1300	20200	7.54	0.33	6	2110	20900	2.35	1.03	0.31	6	2100	19700	2.32	0.98	0.32
	F	24	670	9430	NC	0.12	8	1610	23100	2.38	2.45	0.14	8	2060	23000	NC	2.44	0.14
275	M	24	2530	33200	NC	0.28	8	2950	38700	NC	1.17	0.24	8	2180	31900	1.82	0.96	0.28
	F	24	1410	14000	NC	0.12	6	2930	40300	2.50	2.88	0.10	12	3090	52700	NC	3.76	0.11
M2 [a]																		
50	M	8	506	4600	NC	0.17	6	557	5000	NC	1.09	0.21	6	662	5500	NC	1.20	0.22
	F	4	183	2330	3.04	0.05	8	440	3430	NC	1.47	0.06	8	412	4390	NC	1.88	0.06
125	M	4	977	11600	9.25	0.19	6	1150	11900	2.87	1.03	0.17	6	1430	14400	2.04	1.24	0.23
	F	24	438	5580	NC	0.07	8	1090	11400	2.35	2.04	0.07	8	1090	11700	2.15	2.10	0.07
275	M	24	1390	21200	NC	0.18	8	1550	19000	NC	0.90	0.12	8	1650	17300	2.73	0.82	0.15
	F	24	671	7460	NC	0.06	6	1250	18400	2.80	2.47	0.05	2	1250	24400	NC	3.27	0.05

a) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil

b) Accumulation Ratios are based on AUC_{0-24hr}

c) Metabolite AUC_{0-24hr}/ Belumosudil AUC_{0-24hr}

AR = Accumulation Ratio, MR = Metabolite:Belumosudil Ratio

NA = not applicable, NC = not calculated

2.6.4.3.4.5 器官形成期（妊娠 6 日目から 17 日目まで）のラットにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態

【2.6.5.4.5】：4.2.3.5.2-01：2420-004（参考資料）

器官形成期（妊娠 6 日目から 17 日目まで）のラットにベルモスジルメシル酸塩を 25、50、150 又は 300 mg/kg/日で反復経口投与したときの薬物動態について検討した。

妊娠 6 日目及び 17 日目のベルモスジルの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は 25、50、150 及び 300 mg/kg/日間で投与量の増加に伴い増加した。M1 及び M2 についても投与量の増加に伴う C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ の増加が見られた。妊娠 6 日目から 17 日目までのベルモスジルメシル酸塩の投与により、25 mg/kg/日ではベルモスジルの累積は見られなかったが、50、150 及び 300 mg/kg/日間では、全ての用量で 2 倍近い累積が認められた。また、妊娠 6 日目及び 17 日目のベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ に対する M1 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比は 0.11～0.24、M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比は 0.07～0.14 であり、ベルモスジルに対する $AUC_{0\text{-}24hr}$ の比は M2 に比べ M1 の方が高かった。

表 2.6.4-17 器官形成期（妊娠 6 日目から 17 日目まで）のラットにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex [a]	Gestation Day 6					Gestation Day 17					
		t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Metabolite Ratio [d]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Accumulation Ratio [c]	Metabolite Ratio [d]
Belumosudil												
25	F	2.00	2330	18500	8.55	NA	4.00	1800	20400	2.48	1.10	NA
50	F	4.00	3080	33600	NC	NA	2.00	5110	61800	2.16	1.84	NA
150	F	8.00	3790	61300	NC	NA	8.00	8790	120000	NC	1.95	NA
300	F	24.0	7880	114000	NC	NA	4.00	14700	193000	3.44	1.70	NA
M1 [b]												
25	F	2.00	226	2720	NC	0.147	4.00	176	2230	NC	0.820	0.109
50	F	12.0	468	6550	NC	0.195	12.0	643	9680	NC	1.48	0.157
150	F	24.0	907	13700	NC	0.223	8.00	1300	19200	NC	1.39	0.160
300	F	24.0	2590	27500	NC	0.241	8.00	1620	27100	NC	0.985	0.140
M2 [b]												
25	F	2.00	136	1580	NC	0.085	4.00	127	1480	NC	0.936	0.0724
50	F	12.0	241	3730	NC	0.111	12.0	423	6200	NC	1.66	0.100
150	F	24.0	477	7090	NC	0.116	8.00	684	9400	NC	1.33	0.0785
300	F	24.0	1410	16400	NC	0.144	12.00	1110	18000	NC	1.10	0.0930

a) Pregnant animals only
b) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil
c) Accumulation and metabolite ratios are based on $AUC_{0-24hr.}$
d) Metabolite AUC_{0-24hr}/ Belumosudil AUC_{0-24hr}
NA = not applicable, NC = not calculated

2.6.4.3.4.6 器官形成期（妊娠 6 日目から 17 日目まで）のラットにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態

【2.6.5.4.6】：4.2.3.5.2-02：2420-006（評価資料）

器官形成期（妊娠 6 日目から 17 日目まで）のラットにベルモスジルメシル酸塩を 15、50 又は 150 mg/kg/日で反復経口投与したときの薬物動態について検討した。

妊娠 6 日目及び 17 日目のベルモスジルの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は 15、50 及び 150 mg/kg/日間で投与量の増加に伴う増加が認められた。また、M1 及び M2 についても投与量の増加に伴う $AUC_{0\text{-}24hr}$ の増加が見られた。妊娠 6 日目から 17 日目までベルモスジル、M1 及び M2 の累積は見られなかった。また、妊娠 6 日目及び 17 日目のベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ に対する M1 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比は 0.08～0.19、M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比は 0.05～0.13 であり、M2 に比べ M1 の生成の方が多い傾向が認められた。

表 2.6.4-18 器官形成期（妊娠 6 日目から 17 日目まで）のラットにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex [a]	Gestation Day 6					Gestation Day 17					
		t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Metabolite Ratio [d]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Accumulation Ratio [c]	Metabolite Ratio [d]
Belumosudil												
15	F	2.00	1530	9750	5.56	NA	8.00	1320	11900	NC	1.22	NA
50	F	2.00	3000	37700	2.38	NA	2.00	4360	33300	1.55	0.882	NA
150	F	8.00	5150	89400	NC	NA	2.00	7800	88300	2.39	0.988	NA
M1 [b]												
15	F	2.00	152	978	5.46	0.100	2.00	93.3	948	NC	0.969	0.0799
50	F	12.0	349	5040	NC	0.134	8.00	434	4780	NC	0.947	0.143
150	F	12.0	955	16400	NC	0.183	8.00	1310	16600	NC	1.02	0.188
M2 [b]												
15	F	2.00	76.2	515	NC	0.0528	8.00	55.6	572	NC	1.11	0.0482
50	F	12.0	191	3050	NC	0.0809	8.00	350	3580	NC	1.17	0.108
150	F	24.0	519	10500	NC	0.117	8.00	972	11100	NC	1.06	0.125

a) Pregnant animals only
b) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil
c) Accumulation and Metabolite Ratios are based on $AUC_{0-24hr.}$
d) Metabolite AUC_{0-24hr}/ Belumosudil AUC_{0-24hr}
NA = not applicable, NC = not calculated

2.6.4.3.4.7 器官形成期（妊娠 6 日目から 18 日目まで）のウサギにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態

【2.6.5.4.7】：4.2.3.5.2-03：2420-005（参考資料）

器官形成期（妊娠 6 日目から 18 日目まで）のウサギにベルモスジルメシル酸塩を 25、50、100 又は 250 mg/kg/日で反復経口投与したときの薬物動態について検討した。

妊娠 6 日目及び 18 日目のベルモスジルの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は 25～250 mg/kg/日間で投与量の増加に伴う増加が認められた。M1 及び M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ もベルモスジルと同様に投与量の増加に伴う増加が見られた。妊娠 18 日目では妊娠 6 日目に比べ、ベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ が 1/2 以下に低下したが、M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ に顕著な変化は認められなかった。25 及び 50 mg/kg/日では M1 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ の顕著な変化は認められなかったが、100 及び 250 mg/kg/日では、投与量の増加に伴う累積率の低下が見られた。妊娠 6 日目のベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ に対する M1 及び M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比は 0.22～0.43 及び 0.39～0.95 であった。また、妊娠 18 日目のベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ に対する M1 及び M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比は 0.34～0.99 及び 1.30～2.50 であり、M2 はベルモスジルよりも高い曝露を示した。

表 2.6.4-19 器官形成期（妊娠 6 日目から 18 日目まで）のウサギにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex [a]	Gestation Day 6					Gestation Day 18					
		t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Metabolite Ratio [d]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Accumulation Ratio [c]	Metabolite Ratio [d]
Belumosudil												
25	F	2.00	277	1120	1.51	NA	1.29	207	568	1.59	0.528	NA
50	F	2.00	1240	5020	1.52	NA	2.00	621	2480	1.76	0.483	NA
100	F	2.50	2970	16700	3.03	NA	2.29	699	3610	3.37	0.231	NA
250	F	3.00	4870	62600	3.40	NA	4.00	2100	15600	2.86	0.263	NA
M1 [b]												
25	F	1.75	145	524	NC	0.426	1.29	270	545	NC	1.18	0.988
50	F	2.00	431	1380	NC	0.275	1.00	528	1320	1.36	0.979	0.564
100	F	2.00	1030	4880	1.82	0.285	1.28	984	3010	3.28	0.711	0.938
250	F	1.50	1230	14100	3.33	0.218	1.07	1040	4760	2.05	0.372	0.338
M2 [b]												
25	F	1.25	315	1110	NC	0.952	1.29	606	1220	1.21	1.16	2.32
50	F	2.00	948	3370	1.49	0.684	1.00	1090	2990	1.23	0.927	1.31
100	F	2.00	2070	10400	2.72	0.633	1.03	2120	8280	2.66	0.866	2.50
250	F	2.00	1930	24300	3.73	0.390	1.63	3080	19700	2.86	0.837	1.30

a) Pregnant animals only
b) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil
c) Accumulation and metabolite ratios are based on AUC_{0-24hr}.
d) Metabolite AUC_{0-24hr}/ Belumosudil AUC_{0-24hr}
NA = not applicable, NC = not calculated

2.6.4.3.4.8 器官形成期（妊娠 6 日目から 18 日目まで）のウサギにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態

【2.6.5.4.8】：4.2.3.5.2-04：2420-007（評価資料）

器官形成期（妊娠 6 日目から 18 日目まで）のウサギにベルモスジルメシル酸塩を 50、125 又は 225 mg/kg/日で反復経口投与したときの薬物動態について検討した。

妊娠 6 日目及び 18 日目のベルモスジル、M1 及び M2 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は 50～225 mg/kg/日間で投与量の増加に伴う増加が認められた。妊娠 18 日目では妊娠 6 日目に比べ、ベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ が 41～43%に減少した。M1 及び M2 については、50 mg/kg/日で約 60%に低下する傾向が見られたが、125 及び 225 mg/kg/日では、M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ に顕著な変化は見られなかった。妊娠 6 日目のベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ に対する M1 及び M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比は 0.34～0.66 及び 0.65～1.10 であった。また、妊娠 18 日目のベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ に対する M1 及び M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比は 0.52～0.82 及び 1.65～1.98 であり、M2 はベルモスジルよりも大きい曝露を示した。

表 2.6.4-20 器官形成期（妊娠 6 日目から 18 日目まで）のウサギにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与時の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex [a]	Gestation Day 6					Gestation Day 18					
		t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Metabolite Ratio [d]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Accumulation Ratio [c]	Metabolite Ratio [d]
Belumosudil												
50	F	2.20	919	3870	1.53	NA	1.20	437	1590	1.79	0.481	NA
125	F	3.60	3030	21400	2.92	NA	2.80	1670	9290	2.89	0.445	NA
225	F	5.60	4140	55700	3.53	NA	4.40	2580	23500	7.20	0.421	NA
M1 [b]												
50	F	1.60	750	2470	1.27	0.655	1.00	569	1220	1.51	0.551	0.820
125	F	1.40	1250	7490	1.55	0.344	1.20	1350	5740	2.12	0.821	0.627
225	F	2.60	1790	21300	3.33	0.393	1.20	1680	14800	3.41	0.685	0.515
M2 [b]												
50	F	1.80	1170	4180	1.27	1.10	1.00	1120	2470	1.28	0.664	1.65
125	F	1.80	2180	13600	1.71	0.652	1.40	3610	16700	2.63	1.26	1.98
225	F	2.60	3190	42400	3.28	0.774	1.80	4620	41500	3.39	0.897	1.64

a) Pregnant animals only
b) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil
c) Accumulation and metabolite ratios are based on $AUC_{0-24hr.}$
d) Metabolite AUC_{0-24hr}/ Belumosudil AUC_{0-24hr}
NA = not applicable, NC = not calculated

2.6.4.3.4.9 イヌにベルモスジルカプセルを 28 日間反復経口投与時の薬物動態

【2.6.5.4.9】：4.2.3.2-05：1173-029（評価資料）

雌雄ビーグル犬にベルモスジルメシル酸塩を入れたカプセルを 25、75 又は 200 mg/kg/日で 28 日間反復経口投与したときの 1 及び 28 日目の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度を測定した。なお、200 mg/kg/日群は有意な体重減少が見られたため、14 日目から 19 日目まで休薬期間を置き、125 mg/kg/日に投与量を変更し、28 又は 29 日目まで投与した。

ベルモスジル、M1 及び M2 の C_{max} 並びに AUC_{last} はいずれも 1 日目に比べ、28 日目の方が大きく、1 日目の M2 以外は両日ともに投与量の増加に伴う増加が認められた。ベルモスジル、M1 及び M2 の $t_{1/2}$ は投与量及び投与期間に影響されず、概ね一定であった。ベルモスジルの AUC_{last} に対する M1 及び M2 の AUC_{last} 比は 0.11～0.23 及び 0.02～0.05 であった。ベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータに顕著な性差は認められなかった。

表 2.6.4-21 雌雄ビーグル犬にベルモスジルカプセルを 28 日間反復経口投与したときの第 1 日目及び 28 日目の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex [a]	Day 1					Day 28					
		t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Metabolite Ratio [e]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	AR [d]	Metabolite Ratio [e]
Belumosudil												
25	M/F	6.00	681	3500	1.60	NA	3.88	2690	12800	1.15	3.66	NA
75	M/F	6.75	1330	9560	1.32	NA	4.33	5790	41200	2.02	4.31	NA
200/125 [c]	M/F	8.73	1870	19400	5.27	NA	7.33	7330	60100	2.56	NC	NA
M1 [b]												
25	M/F	6.86	90.9	452	2.66	0.13	4.38	278	1350	1.90	2.99	0.11
75	M/F	7.00	187	1200	2.58	0.13	6.00	1000	8010	2.69	6.68	0.19
200/125 [c]	M/F	9.20	305	2830	2.78	0.15	9.00	1590	14100	2.93	NC	0.23
M2 [b]												
25	M/F	7.14	26.8	122	2.77	0.03	4.50	98.2	567	2.20	4.65	0.04
75	M/F	7.43	63.8	438	4.83	0.05	8.67	129	1150	2.24	2.63	0.03
200/125 [c]	M/F	11.8	43.7	418	4.54	0.02	10.8	169	1680	4.72	NC	0.03

a) There were no differences in the TK parameters, thus data is shown as combined data for male and female dogs.
b) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil
c) Animals received 200 mg/kg/day from Day 1 through Day 14, were given no drug until Day 19 and continued at 125 mg/kg/day until Day 28.
d) ARs(Accumulation Ratios) are based on $AUC_{last.}$
e) Metabolite AUC_{last}/ Belumosudil AUC_{last}
NA = not applicable, NC= not calculated

2.6.4.3.4.10 イヌにベルモスジルカプセルを 3 ヵ月反復経口投与時の薬物動態

【2.6.5.4.10】：4.2.3.2-06：029281（評価資料）

雌雄ビーグル犬にベルモスジルメシル酸塩を入れたカプセルを 35、70 又は 125 mg/kg/日で 3 ヵ月間反復経口投与したときの 1 日目及び 3 ヵ月後の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度を測定した。なお、125 mg/kg/日群は副作用発現のため、20 又は 21 日目までしか投与しなかった。そのため、3 ヵ月後の薬物動態パラメータは 35 及び 70 mg/kg/日群のみ算出した。

ベルモスジル、M1 及び M2 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ はいずれも 3 ヵ月後の方が 1 日目より大きく、3 ヵ月後の M2 の雄の C_{max} を除いていずれも投与量の増加に伴い増加した。ベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ に

対する M1 及び M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比は 0.09～0.19 及び 0.03～0.06 であった。また、ベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータに顕著な性差は認められなかった。

表 2.6.4-22 雌雄ビーグル犬にベルモスジルカプセルを 3 ヵ月反復経口投与したときの第 1 日目及び 3 ヵ月後の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex [a]	Day 1					3 Month					
		t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	Metabolite Ratio [c]	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	AR [b]	Metabolite Ratio [c]
Belumosudil												
35	M	5.50	1660	11600	1.89	NA	4.25	4910	25200	1.10	2.17	NA
	F	4.25	1870	13100	1.65	NA	5.00	4620	23300	1.15	1.78	NA
70	M	7.50	2650	25700	2.49	NA	3.75	6170	44800	3.11	1.74	NA
	F	7.25	2950	24200	1.97	NA	8.50	7250	50100	1.50	2.07	NA
125	M	8.17	4150	41600	3.32	NA	TE	TE	TE	TE	NC	NA
	F	6.83	5030	51400	2.26	NA	TE	TE	TE	TE	NC	NA
M1 [a]												
35	M	5.75	156	1010	4.48	0.09	4.75	445	2290	NC	2.27	0.09
	F	6.29	229	1700	NC	0.13	5.50	430	2360	1.32	1.39	0.10
70	M	8.25	281	2660	NC	0.10	6.25	761	6050	1.78	2.27	0.14
	F	8.00	495	3840	NC	0.16	9.75	1210	8840	1.72	2.30	0.18
125	M	9.33	566	5470	3.82	0.13	TE	TE	TE	TE	NC	NC
	F	8.83	971	10000	2.52	0.19	TE	TE	TE	TE	NC	NC
M2 [a]												
35	M	6.50	88.3	611	4.19	0.05	5.75	151	979	NC	1.60	0.04
	F	6.29	75.4	625	NC	0.05	5.75	150	969	2.16	1.55	0.04
70	M	8.75	135	1530	4.53	0.06	6.81	149	1610	NC	1.05	0.04
	F	8.25	132	1260	3.32	0.05	10.3	175	1590	2.89	1.26	0.03
125	M	11.2	171	2120	NC	0.05	TE	TE	TE	TE	NC	NC
	F	11.7	176	2220	NC	0.04	TE	TE	TE	TE	NC	NC

a) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil
b) ARs (Accumulation Ratios) are based on $AUC_{0\text{-}24hr.}$
c) Metabolite $AUC_{0\text{-}24hr}$/ Belumosudil $AUC_{0\text{-}24hr}$
NA = not applicable, NC= not calculated, TE= terminated earlier

2.6.4.3.4.11 イヌにベルモスジルカプセルを 39 週間反復経口投与時の薬物動態

【2.6.5.4.11】：4.2.3.2-07：8289750（評価資料）

雌雄ビーグル犬にベルモスジルメシル酸塩を入れたカプセルを 5、20 又は 40 mg/kg/日で 39 週間反復経口投与したときの 1 日目、13 週後及び 39 週後の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 濃度を測定した。

ベルモスジルの C_{max} は雌の投与 13 週後を除き、5～40 mg/kg/日間の投与量の増加に伴い増加した。また、ベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ についても、雌の投与 13 週後を除き、投与 1 日目、13 週後及び 39 週後において投与量の増加に伴い増加した。5 mg/kg/日投与群では M1 及び M2 の濃度の大部分は定量下限未満であったが、20～40 mg/kg/日間で C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は投与量の増加に伴い増加した。ベルモスジル、M1 及び M2 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ はいずれも 1 日目に比べ、13 週後及び 39 週後の方が大きかった。また、ベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24hr}$ に対する M1 及び M2 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比は 0.06～0.09 及び 0.04～0.09 であった。ベルモスジル、M1 及び M2 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ には顕著な性差は認められなかった。

表 2.6.4-23 雌雄ビーグル犬にベルモスジルカプセルを 39 週間反復経口投与時の第 1 日目、13 週後及び 39 週後の血漿中ベルモスジル、M1 及び M2 の薬物動態パラメータ

Dose (mg /kg)	Sex	Day 1					Week 13						Week 39					
		t_{max} [a] (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	MR [c]	t_{max} [a] (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	AR [b]	MR [c]	t_{max} [a] (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	AR [b]	MR [c]
Belumosudil																		
5	M	2.17	89.2	550	NC	NA	3.50	120	537	NC	0.98	NA	4.00	386 [e]	1180	NC	2.15	NA
	F	3.00	112	574	0.87	NA	2.40	178	566	NC	0.99	NA	3.33	249	833	NC	1.45	NA
20	M	4.89	805	4570	0.93	NA	4.00	1910	8660	1.03	1.90	NA	4.33	854	4040	1.02 [e]	0.88	NA
	F	4.56	768	5600	1.37	NA	4.22	2300	11500	1.08	2.05	NA	3.75	1480	8400	1.13	1.50	NA
40	M	6.83	1700	11600	1.33	NA	3.63	2120	14700	1.16	1.27	NA	4.00	2060	15500	1.06	1.34	NA
	F	5.36	858	8170	1.25	NA	3.05	1440	9700	1.26	1.19	NA	3.58	3220	22500	1.39	2.75	NA
M1 [d]																		
5	M	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
	F	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
20	M	5.33	65.5	411	NC	0.09	4.33	114	704	NC	1.71	0.08	4.80	54.7	304	NC	0.74	0.08
	F	5.14	90.5	505	NC	0.09	4.89	210	1030	NC	2.04	0.09	4.80	153	712	NC	1.41	0.08
40	M	7.33	168	1160	NC	0.10	4.67	186	1290	1.50	1.11	0.09	6.00	239	1430	NC	1.23	0.09
	F	8.89	121	1150	NC	0.14	4.00	226	2790	1.72 [e]	2.43	0.29	5.00	379	2710	1.27 [e]	2.36	0.12
M2 [d]																		
5	M	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
	F	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
20	M	5.56	37.8	274	NC	0.06	4.67	88.9	607	1.74	2.22	0.07	4.80	61.9	335	NC	1.22	0.08
	F	6.29	43.8	228	NC	0.04	4.89	97.6	576	1.55	2.53	0.05	5.60	89.8	538	2.33	2.36	0.06
40	M	7.50	74.7	537	NC	0.05	4.89	144	1080	2.25	2.01	0.07	5.00	141	1390	2.10	2.59	0.09
	F	10.2	47.1	515	NC	0.06	4.50	82.4	862	NC	1.67	0.09	6.60	175	1520	NC	2.95	0.07

a) t_{max} represented as mean.
b) ARs (Accumulation ratios) are based on $AUC_{0-24hr.}$
c) Metabolite AUC_{0-24hr}/ Belumosudil AUC_{0-24hr}
d) M1 and M2 as measured in plasma after administration of belumosudil
e) Value is not a mean (n=1).
MR = Metabolite:Belumosudil ratio based on AUC_{0-24hr}, NA = not applicable, NC= not calculated

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 Sprague-Dawley ラットにおける組織分布

【2.6.5.5.1】：4.2.2.3-01：KDM/01（評価資料）

雄性 Sprague-Dawley（SD）ラット（白色ラット）に[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を 150 mg/kg（3.7 MBq/kg）単回経口投与し、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）法を用いて組織分布を検討した。

経口投与後の放射能は、肝臓、副腎及び腎臓に速やかに分布した。投与 72 時間後における組織中放射能は、被毛、消化管内容物、肝臓、腎臓及び副腎に認められたが、投与 1 時間後に放射能が認められた組織の多くは定量下限未満に低下した。投与 120 時間後における組織中放射能は、被毛及び肝臓のみに認められた。脳及び脊髄について、投与 120 時間後までのいずれの時点においても放射能は検出されなかった。

表 2.6.4-24 雄性 SD ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与後の組織中放射能濃度

Tissue	Time after dose administration				
	1 hr	6 hr	24 hr	72 hr	120 hr
Adrenal gland	47.5	30.2	10.9	0.888	BLQ
Aorta	13.2	14.2	5.29	BLQ	BLQ
Bone	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Bone marrow	8.69	5.58	1.34	BLQ	BLQ
Brain	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Fur	BLQ	BLQ	BLQ	21.1	23.9
Gastric mucosa	69.5	20.5	3.07	BLQ	BLQ
Heart blood	7.49	4.77	1.68	BLQ	BLQ
Kidney Cortex	32.9	19.2	9.99	1.31	BLQ
Kidney Medulla	15.9	7.27	2.79	BLQ	BLQ
Liver	58.1	35.9	22.8	3.57	1.39
Lung	9.67	6.95	2.58	BLQ	BLQ
Sciatic nerve	0.765	2.88	0.868	BLQ	BLQ
Skeletal muscle	6.22	4.41	0.885	BLQ	BLQ
Skin: Non-pigmented	6.00	6.52	3.17	BLQ	BLQ
Spinal cord	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Spinal nerve	12.2	14.8	5.38	BLQ	BLQ
Spleen	12.7	7.29	1.75	BLQ	BLQ
Testis	0.889	2.54	0.818	BLQ	BLQ
Uveal tract	6.52	3.51	1.05	BLQ	BLQ

BLQ = below limit of accurate quantification (< 0.612 µg equivalents/g)

2.6.4.4.2 白色及び有色ラットにおける組織分布

【2.6.5.5.2】：4.2.2.2-05：KDM/03（参考資料）

雌雄白色ラット（SD ラット）及び有色ラット（Lister-Hooded ラット）に[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を 150 mg/kg（3.70 MBq/kg）単回経口投与し、QWBA 法を用いて組織分布を検討した。

雌雄白色ラットにおいて、経口投与後の放射能は全身に速やかに分布し、雄では投与 1 時間後、雌では 1～24 時間後に多くの組織で放射能濃度が最大を示した。消化管以外の組織では、主に肝臓、腎

臓、膀胱、副腎及び外分泌線で高い放射能濃度を示したが、投与 48 時間後には多くの組織で放射能濃度は定量下限付近あるいは検出限界未満となった。

雌雄有色ラットにおいて、[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩の投与後、メラニン含有組織（ぶどう膜及び有色皮膚）において高い放射能濃度が雌雄ともに認められ、ベルモスジルあるいはその代謝物はメラニン親和性があることが示唆された。メラニン含有組織においても時間の経過とともに放射能濃度の低下が認められた。以下、表 2.6.4-25 の括弧外に白色ラット、括弧内に有色ラットの放射能濃度を示した。

表 2.6.4-25 雌雄白色ラット及び有色ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与したときの放射能濃度

Tissues/Organs	Concentration (µg equivalents/g) [a]						
	1 hr	8 hr	24 hr	48 hr	120 hr	168 hr	336 hr
Male							
Adrenal gland	51.9	49.6 (37.8)	11.4 (11.1)	1.32 (1.02)	0.664	(ND)	(ND)
Blood	4.64	1.77 (2.94)	0.642 (0.880)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Bone marrow	6.24	4.23 (6.21)	ND (0.876)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Brain	BLQ	ND (BLQ)	ND (BLQ)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Eye: uveal tract	1.74	ND (142)	ND (201)	ND (100)	ND	(68.0)	(58.3)
Kidney: whole	23.0	13.2 (15.0)	5.51 (5.54)	0.993 (0.885)	BLQ	(BLQ)	(BLQ)
Liver	63.0	29.7 (38.8)	19.5 (26.1)	5.19 (3.40)	1.48	(BLQ)	(BLQ)
Lung	8.28	5.37 (5.25)	0.993 (1.02)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Lymph node	7.58	4.58 (8.03)	0.783 (0.787)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Myocardium	9.60	4.71 (8.21)	ND (0.899)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Pancreas	13.6	11.8 (14.8)	ND (0.914)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Prostate	5.98	2.64 (6.53)	0.714 (0.670)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Skin: non-pigmented	3.01	4.00	0.882	BLQ	BLQ	NA [d]	NA
Skin: pigmented	(NA)	(5.19)	(9.43)	(14.9)	(NA)	(ND)	(ND)
Spinal cord	BLQ	ND (BLQ)	ND (BLQ)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Spleen	8.03	6.30 (7.86)	ND (0.804)	ND (BLQ)	ND	(ND)	(ND)
Urinary bladder wall	27.3	6.19 (8.01)	1.24 (1.71)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Females							
Adrenal gland	70.0	48.1 (61.2)	58.0 (44.2)	3.83 (2.04)	2.35	(ND)	(ND)
Blood	6.55	2.66 (5.55)	7.14 (4.18)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Bone marrow	10.5	4.44 (7.38)	11.5 (5.28)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Brain	BLQ	BLQ (BLQ)	BLQ (BLQ)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Eye: uveal tract	1.63	BLQ (240)	6.61 (148)	ND (148)	ND	(101)	(78.1)
Kidney: whole	20.1	8.59 (18.0)	21.8 (15.7)	0.661 (1.06)	0.697	(BLQ)	(ND)
Liver	44.7	25.0 (43.2)	59.3 (49.7)	5.84 (5.36)	1.46	(BLQ)	(BLQ)
Lung	11.4	5.89 (8.71)	14.8 (6.50)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Lymph node	12.6	5.00 (10.6)	11.3 (7.48)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Myocardium	16.5	6.94 (13.4)	13.2 (7.29)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Ovary	11.9	9.96 (11.9)	7.86 (8.80)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Pancreas	24.9	9.72 (22.1)	24.1 (11.9)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Skin: non-pigmented	4.87	5.22	8.07	2.67	ND	NA	NA
Skin: pigmented	(NA)	(12.8)	(4.55)	(8.82)	(NA)	(ND)	(ND)
Spinal cord	BLQ	BLQ (BLQ)	BLQ (BLQ)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Spleen	13.6	7.46 (12.2)	14.0 (6.79)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Urinary bladder wall	8.24	NS (14.2)	11.0 (6.62)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)

a) 括弧外に白色ラット、括弧内に有色ラットの放射能濃度を示した
BLQ = below limit of accurate quantification (< 0.632 µg equivalents/g)
NA = not applicable, ND = not detected

2.6.4.4.3 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの in vitro 血漿蛋白結合率

【2.6.5.6.1】、【2.6.5.6.2】：4.2.2.3-02：ADME-KAD-200410-PPB（参考資料）

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿にベルモスジルメシル酸塩を添加し、平衡透析法により in vitro 血漿蛋白結合率を測定した。

ベルモスジルの血漿蛋白結合率は、1～100 μmol/L の濃度範囲で全ての動物種において 99%以上（マウス 99.4%、ラット 99.6%、ウサギ 99.6%、イヌ 99.1%及びヒト 99.9%）であり、濃度依存性は認められなかった。

表 2.6.4-26 ベルモスジルのマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿蛋白結合率

Belumosudil Concentration	Bound Fraction (%)				
	Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
1 μmol/L	99.6	99.6	99.6	98.9	99.8
10 μmol/L	99.5	99.6	99.6	99.1	99.9
100 μmol/L	99.2	99.5	99.5	99.3	100.0

2.6.4.4.4 ヒト血漿におけるベルモスジルの蛋白結合率及び結合蛋白質の同定

【2.6.5.6.2】：4.2.2.3-03：KDM/06（参考資料）

[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩（最終濃度：0.2～2 μg/mL）をヒト血漿、ヒト血清アルブミン（40 mg/mL）及び α_1-酸性糖蛋白（0.9 mg/mL）に添加したときの結合率を平衡透析法により測定した。

[^{14}C]ベルモスジルのヒト血漿での平均蛋白結合率は 99.88%であった。また、血清アルブミン及び α_1-酸性糖蛋白への平均蛋白結合率はそれぞれ 99.91 及び 98.64%であった。α_1-酸性糖蛋白は[^{14}C]ベルモスジルの濃度上昇に伴い結合率が低下し、結合の飽和が示唆された。これらのことから、ベルモスジルはヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖蛋白と結合するが、ヒト血漿蛋白結合率に類似し濃度依存的な変動が認められないことを考慮すると、ヒト血清アルブミンが主な結合蛋白質であると考えられた。

表 2.6.4-27 ベルモスジルのヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖蛋白への結合率

[^{14}C]ベルモスジル濃度	Replicate	ヒト血清アルブミン	α_1-酸性糖蛋白
0.2 μg/mL	1	99.89	99.48
	2	> 99.89	99.53
0.5 μg/mL	1	99.92	99.08
	2	99.90	99.01
2 μg/mL	1	99.92	96.36
	2	99.93	98.40

2.6.4.4.5 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの in vitro 血漿中 M2 蛋白結合率

【2.6.5.6.3】：4.2.2.3-05：ADME-KAD-200630-PPB（参考資料）

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿に M2 を添加し、平衡透析法により in vitro 血漿蛋白結合率を測定した。

1～100 μmol/L の濃度範囲でイヌを除いた全ての動物種において蛋白結合率は 99%以上であり、1 μmol/L の M2 の蛋白結合率は、マウス 99.3%、ラット >99.9%、ウサギ >99.9%、イヌ 97.1%及びヒト >99.9%であった。また、明確な濃度依存性は認められなかった。

表 2.6.4-28 M2 のマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血漿蛋白結合率

M2 Concentration	Bound Fraction (%)				
	Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
1 µmol/L	99.3	>99.9	>99.9	97.1	>99.9
10 µmol/L	99.2	99.9	99.9	97.0	>99.99
100 µmol/L	99.0	99.9	99.9	96.1	99.99

2.6.4.4.6 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの in vitro 血球移行性試験

【2.6.5.6.3】：4.2.2.3-04：ADME-KAD-200402-Blood Partition（参考資料）

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血液にベルモスジルを 1 µmol/L となるように添加しインキュベートした後、血漿中ベルモスジル濃度を測定することにより赤血球／血漿中濃度比（$K_{RBC/PL}$）を算出した。マウス、ラット、イヌ及びヒト血液の $K_{RBC/PL}$ は、それぞれ 0.84、0.78、0.85 及び 0.40 であり、ベルモスジル血球移行性は低かった。ウサギ血液においては、$K_{RBC/PL}$ は 1.51 であり、血球への移行が認められた。

表 2.6.4-29 ベルモスジルの赤血球／血漿中濃度比

	マウス	ラット	ウサギ	イヌ	ヒト
$K_{RBC/PL}$	0.84	0.78	1.51	0.85	0.40

$K_{RBC/PL}$ = 赤血球中濃度／血漿中濃度

2.6.4.4.7 胎盤通過試験

該当する試験は実施していない。

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 推定代謝経路

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの in vitro 試料並びにラット及びヒトの in vivo 試料を分析し、ベルモスジルの代謝物 44 種を同定又は推定した。各代謝物の構造からベルモスジルの主要な代謝経路を次のとおり推定した（図 2.6.4-3）。

ベルモスジルの主な初発代謝は *N*-脱アルキル体（M1）、加水分解体（M2）、酸化体、脱水素体、*O*-脱アルキル体及びグルクロン酸抱合体と推定された。ベルモスジルの代謝には種差が認められ、ラットにおける推定代謝経路として、*O*-脱アルキル化及びそれに続く抱合体（グルクロン酸及び硫酸）生成、M1 生成、M2 生成及び脱水素体の生成が推定された。ヒトにおける推定代謝経路は M2 生成、モノヒドロキシ体生成、ジヒドロキシ体生成、*O*-脱アルキル硫酸抱合体生成及びグルクロン酸抱合体生成が推定された。

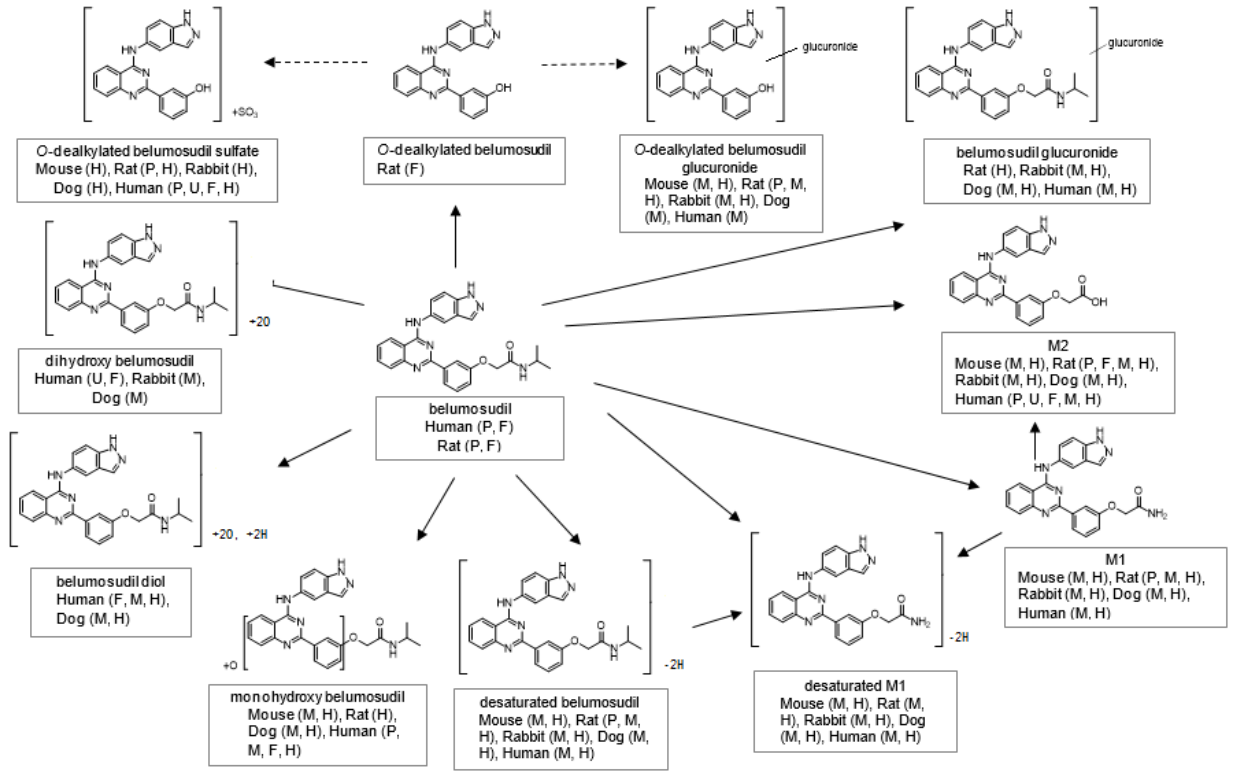


図 2.6.4-3 ベルモスジルの推定代謝経路

P = plasma、U = urine、F = feces、M = liver microsome、H = hepatocyte
Sources: Report KDM/03, KDM/05 (Study KD025-108), ADME-KAD-200420-LM-MetID and ADME-KAD-200420-Heps-MetID

2.6.4.5.2 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソームにおける代謝試験

【2.6.5.10.1】：4.2.2.4-02：ADME-KAD-200420-LM（参考資料）

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソームを用い、NADPH 及び UDPGA 存在下でベルモスジル（1 μmol/L）の代謝速度を検討した。ベルモスジルの代謝は、マウス、ラット、イヌ及びヒトで高い肝クリアランス（ER > 0.7）を示し、ウサギは中程度の肝クリアランス（0.3 < ER < 0.7）であることが示された。一方、NADPH 非存在下ではベルモスジルはほとんど代謝されなかった（ER < 0.3）。

表 2.6.4-30 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソームにおけるベルモスジルの代謝安定性

Species	Remaining at 60 min (%)	$t_{1/2}$ (min)	In vitro CL_{int} (μL/min/mg)	Scale-up CL_{int} (mL/min/kg)	Predicted Hepatic CL (mL/min/kg)	Hepatic ER [b)]
Mouse	0.00	3.11	445	1110	30.1	0.973
Rat	0.00	2.60	533	2331	86.7	0.963
Rabbit	15.6	22.9	60.6	109	36.6	0.663
Dog	18.3	24.7	56.1	140	25.3	0.819
Human	23.7	29.6	46.9	58.8	15.3	0.740
Mouse (without NADPH)	92.5	594	2.33	5.82	4.90	0.159
Rat	99.2	∞	0.00	0.00	0.00	0.00

(without NADPH) [a)]						
Rabbit (without NADPH)	92.3	565	2.45	4.39	4.07	0.0737
Dog (without NADPH)	85.8	330	4.20	10.5	7.83	0.253
Human (without NADPH) [a)]	102	∞	0.00	0.00	0.00	0.00

a) If the calculated in vitro CL_{int} was < 0, or the significant difference did not pass the T-test ($p \geq 0.05$) and the remaining percentage at 60 min ≥ 80%, indicated test article was stable in incubation system; report '∞'for $t_{1/2}$.
b) ER < 0.3 considered low clearance, ER > 0.7 considered high clearance, ER ratio > 0.3 and < 0.7 considered moderate clearance.
CL_{int} = intrinsic clearance, ER = extraction ratio

2.6.4.5.3 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝細胞における代謝試験

【2.6.5.10.2】：4.2.2.4-03：ADME-KAD-200420-Hepatocytes（参考資料）

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの肝細胞を用い、ベルモスジル（1 μmol/L）の代謝速度を検討した。ベルモスジルの代謝はマウス、ラット、イヌ及びヒトで高い肝クリアランス（ER > 0.7）を示し、ウサギでは中程度の肝クリアランス（0.3 < ER < 0.7）であることが示された。

表 2.6.4-31 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝細胞におけるベルモスジルの代謝安定性

Species	Remaining at 120 min (%)	$t_{1/2}$ (min)	In vitro CL_{int} (μL/min/10^6 cells)	Scaled-up CL_{int} (mL/min/kg)	Predicted Hepatic CL (mL/min/kg)	Hepatic ER [a)]
Mouse	1.29	19.2	72.4	8558	81.4	0.905
Rat	0.643	15.2	91.5	428	48.9	0.886
Rabbit	26.8	63.8	21.7	80.3	37.6	0.531
Dog	48.3	119	11.7	80.4	22.3	0.722
Human	21.9	52.5	26.4	67.2	15.8	0.764

a) ER < 0.3 considered low clearance, ER > 0.7 considered high clearance, ER ratio > 0.3 and < 0.7 considered moderate clearance.
CL_{int} = intrinsic clearance, ER = extraction ratio

2.6.4.5.4 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソームにおける代謝物同定

【2.6.5.10.3】：4.2.2.4-04：ADME-KAD-200420-LM-MetID（参考資料）

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソームによるベルモスジル（10 μmol/L）の代謝物プロファイルについて検討した。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソームとベルモスジルをインキュベーションしたところ、それぞれ 19、16、24、23 及び 14 種類の代謝物が検出された。マウスでは Peak No.36（*N*-脱アルキルに続く脱水素体）及び Peak No.42（脱水素体）、ラットとウサギでは Peak No.19（*N*-脱アルキル体、M1）及び Peak No.36、イヌでは Peak No.19（M1）及び Peak No.28（加水分解体、M2）の代謝物が 5%以上のピーク面積比で検出された。ヒトにおいては Peak No.21（グルクロン酸抱合体）及び Peak No.28（M2）の代謝物のみが 5%以上のピーク面積比で検出され、ヒトに特異的な代謝物は検出されなかった。

表 2.6.4-32 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソームにより生成したベルモスジル代謝物

Peak No.	R.T. (min)	Meas. m/z	Mass shift	Biotransformation	Normalized Peak Area at 120 min				
					Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
1	5.40	443.14575	-10.05712	De-alkylation + Oxidation	-	-	1.20%	-	-
2	5.47	295.11865	-158.08440	De-alkylation	0.15%	0.26%	0.70%	-	-
4	5.79	296.10269	-157.10038	De-alkylation + Hydrolysis	-	-	0.42%	-	-
5	5.83	513.19708	59.99464	De-alkylation + Glucuronidation	-	-	0.53%	-	-
6	5.96	603.18219	149.98005	De-alkylation + Oxidation + Glucuronidation	-	-	0.51%	0.24%	0.18%
7	6.06	445.16119	-8.04147	De-alkylation + Oxidation + Hydrogenation	-	-	-	0.51%	-
8	6.14	603.18219	149.98005	De-alkylation + Oxidation + Glucuronidation	0.08%	0.23%	0.44%	-	-
9	6.32	446.14542	-7.05745	Hydrolysis + Oxidation + Hydrogenation	-	-	-	0.78%	-
10	6.33	530.16638	76.96367	De-alkylation + Glucuronidation	0.16%	4.65%	0.29%	0.23%	0.22%
11	6.69	485.19260	31.98983	Oxidation	-	-	0.14%	0.19%	-
13	6.99	337.16565	-116.03745	De-alkylation	1.92%	1.08%	2.19%	-	-
14	7.04	427.15076	-26.05204	De-alkylation + Oxidation	-	-	0.06%	1.11%	-
15	7.05	588.17163	134.96915	Hydrolysis + Glucuronidation	-	-	-	2.03%	0.89%
16	7.11	441.16647	-12.03639	De-alkylation + Methylation + Oxidation	0.15%	0.51%	0.15%	0.39%	-
18	7.17	323.11856 (z=2)	192.02700	Oxidation + Glucuronidation	0.35%	0.71%	0.72%	2.42%	4.66%
19	**7.23**	**411.15573**	**-42.04695**	**De-alkylation (M1)**	4.46%	**18.25%**	**8.95%**	**16.16%**	2.19%
21	**7.24**	**629.23438**	**176.03209**	**Glucuronidation**	-	-	1.09%	0.12%	**6.14%**
22	7.25	665.21069	212.00859	Ribose Conjugation + Phosphorylation	1.29%	1.01%	0.08%	-	-
23	7.32	645.22882	192.02700	Oxidation + Glucuronidation	0.27%	0.42%	0.38%	0.37%	-
24	7.33	428.13452	-25.06802	Hydrolysis + Oxidation	-	-	0.15%	0.43%	-
26	7.47	469.19757	15.99492	Oxidation	0.30%	-	0.95%	0.25%	0.81%

表 2.6.4-31 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソームにより生成したベルモスジル代謝物（続き）

Peak No.	R.T. (min)	Meas. m/z	Mass shift	Biotransformation	Normalized Peak Area at 120 min				
					Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
27	7.48	487.20786	34.00548	Oxidation + Hydrogenation	-	-	-	2.38%	0.09%
28	**7.52**	**412.13989**	**-41.06293**	**Hydrolysis (M2)**	0.96%	2.75%	4.59%	**16.55%**	**10.97%**
29	7.81	585.24475	132.04226	Ribose Conjugation	0.88%	0.84%	-	-	-
30	7.92	510.22405	57.02146	Glycine Conjugation	0.21%	0.20%	0.14%	0.15%	0.34%
31	8.12	487.20798	34.00548	Oxidation + Hydrogenation	-	-	-	0.23%	-
32	8.24	469.19788	15.99492	Oxidation	0.13%	-	-	3.42%	0.98%
35	***8.54***	***453.20276***	***0.00000***	***Parent Drug* (Belumosudil)**	***54.20%***	***53.09%***	***66.98%***	***48.68%***	***69.12%***
36	**8.73**	**409.14023**	**-44.06260**	**De-alkylation + De-hydrogenation**	**6.66%**	**8.20%**	**6.48%**	0.65%	0.20%
39	9.26	410.12427	-43.07858	Hydrolysis + De-hydrogenation	0.53%	0.44%	1.53%	0.06%	0.07%
40	9.32	352.11899	-101.08406	De-alkylation + De-hydrogenation	0.12%	2.88%	-	0.12%	-
42	**10.19**	**451.18716**	**-2.01565**	**De-hydrogenation**	**27.00%**	4.48%	0.94%	2.53%	3.15%
44	11.35	483.17645	29.97418	Oxidation + De-hydrogenation	0.18%	-	0.39%	-	-

Metabolites >5% in bold, Parent compound in bold/italics

2.6.4.5.5 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝細胞における代謝物同定

【2.6.5.10.4】：4.2.2.4-05：ADME-KAD-200420-Heps-MetID（参考資料）

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝細胞によるベルモスジル（10 μmol/L）の代謝プロファイルについて検討した。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝細胞とベルモスジルをインキュベーションしたところ、それぞれ 15、18、22、16 及び 19 種類の代謝物が検出された。マウスでは Peak No.28（M2）及び Peak No.42、ラットとイヌでは Peak No.19（M1）及び Peak No.28（M2）、ウサギでは Peak No.19（M1）、Peak No.28（M2）及び Peak No.36 の代謝物が 5%以上のピーク面積比で検出された。ヒトにおいては Peak No.21 及び Peak No.28（M2）の代謝物のみが 5%以上のピーク面積比で検出され、ヒトに特異的な代謝物は検出されなかった。

表 2.6.4-33 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝細胞により生成したベルモスジル代謝物

Peak No.	R.T. (min)	Meas. *m/z*	Mass shift	Biotransformation	Normalized peak area percent at 240 min				
					Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
3	5.51	367.62033 (z=2)	281.03177	De-alkylation + Oxidation + Glutathione Conjugation	-	-	0.37%	-	-
8	6.13	603.18121	149.98005	De-alkylation + Oxidation + Glucuronidation	0.05%	0.04%	0.45%	-	-
10	6.30	530.16547	76.96367	De-alkylation + Glucuronidation	0.11%	0.14%	0.65%	-	-
12	6.88	427.15039	-26.05204	De-alkylation + Oxidation	-	-	0.66%	-	-
13	6.95	337.16544	-116.03745	De-alkylation	0.59%	0.15%	0.34%	0.05%	0.06%
15	7.06	588.17090	134.96915	Hydrolysis + Glucuronidation	-	0.21%	-	0.09%	1.40%
17	7.15	507.10675	53.90478	De-alkylation + Oxidation + Sulfation	-	-	1.00%	-	-
18	7.15	323.11819 (z=2)	192.02700	Oxidation + Glucuronidation	-	-	-	-	0.62%
19	**7.18**	**411.15561**	**-42.04695**	**De-alkylation (M1)**	4.77%	**13.61%**	**6.66%**	**8.38%**	0.55%
20	7.19	645.22876	192.02700	Oxidation + Glucuronidation	0.83%	0.45%	0.86%	0.03%	0.15%
21	**7.23**	**629.23383**	**176.03209**	**Glucuronidation**	-	0.12%	1.21%	0.05%	**6.63%**
23	7.28	645.22882	192.02700	Oxidation + Glucuronidation	0.07%	0.27%	0.34%	-	-
25	7.41	434.09088	-19.11160	De-alkylation + Sulfation	0.58%	3.98%	1.29%	0.07%	0.36%
26	7.42	469.19711	15.99492	Oxidation	2.35%	0.31%	2.02%	0.06%	0.16%
27	7.46	487.20740	34.00548	Oxidation + Hydrogenation	-	-	-	0.68%	0.20%
28	**7.50**	**412.13937**	**-41.06293**	**Hydrolysis (M2)**	**11.42%**	**8.68%**	**33.68%**	**8.94%**	**39.06%**
29	7.77	585.24426	132.04226	Ribose Conjugation	0.43%	0.08%	-	0.03%	0.14%
30	7.93	510.22372	57.02146	Glycine Conjugation	-	0.07%	0.09%	-	0.33%
32	8.20	469.19730	15.99492	Oxidation	0.06%	0.07%	-	0.03%	0.37%
33	8.46	469.19681	15.99492	Oxidation	-	-	0.07%	0.12%	0.22%
34	8.47	549.15350	95.95173	Oxidation + Sulfation	-	-	0.19%	0.42%	0.73%
35	***8.51***	***453.20227***	***0.00000***	***Parent Drug* (Belumosudil)**	***61.02%***	***67.86%***	***34.75%***	***80.28%***	***46.27%***

表 2.6.4-32 マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝細胞により生成したベルモスジル代謝物（続き）

Peak No.	R.T. (min)	Meas. *m/z*	Mass shift	Biotransformation	Normalized peak area percent at 240 min				
					Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
36	**8.69**	**409.14014**	**-44.06260**	**De-alkylation + De-hydrogenation**	1.53%	0.82%	**10.35%**	0.04%	0.15%
37	8.70	467.21808	14.01565	Methylation	0.05%	0.11%	-	0.14%	0.13%
38	9.04	431.17075	408.13347	De-alkylation + Condensation	-	-	1.22%	-	-
39	9.22	410.12405	-43.07858	Hydrolysis + De-hydrogenation	0.23%	0.10%	2.33%	-	0.18%
41	9.92	431.17075	408.13347	De-alkylation + Condensation	-	-	0.98%	-	-
42	**10.17**	**451.18686**	**-2.01565**	**De-hydrogenation**	**15.91%**	2.93%	0.13%	0.59%	2.30%
43	10.64	452.19360	450.18042	Condensation	-	-	0.36%	-	-

Metabolites >5% in bold, Parent compound in bold/italics

2.6.4.5.6 ベルモスジル及び M2 の代謝酵素推定

【2.6.5.10.5】：4.2.2.4-06：XT174009（評価資料）

ヒト CYP 発現系ミクロソーム（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4）によるベルモスジル（1 及び 10 μmol/L）の in vitro 代謝試験を行い、ベルモスジルの減少からベルモスジル代謝に関与する代謝酵素を検討した。またベルモスジルから M1 及び M2 への代謝、並びに M2 の代謝に関与する CYP 分子種についても推定した。

CYP1A2、CYP2C8、CYP2D6 及び CYP3A4 発現系ミクロソームとのインキュベーションでは、それぞれ約 99、70、40 及び 97%代謝され、これらの酵素がベルモスジルの代謝に関与していると考えられた。ベルモスジルから M1 への代謝は、主に CYP2C8 及び CYP3A4 発現系ミクロソームにおいて確認され、ベルモスジルから M2 への代謝は CYP3A4 発現系ミクロソームにおいてのみ確認された。M2（0.1 及び 1 μmol/L）を CYP 発現系ミクロソームとインキュベートした結果、M2 の減少率は 13%未満であり、M2 の代謝における CYP 分子種の関与は大きくないと考えられた。

ベルモスジル及び M2 の代謝に関与する UGT 分子種推定のため、ヒト UGT 発現系ミクロソーム（UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A7、UGT1A8、UGT1A9、UGT1A10、UGT2B4、UGT2B7、UGT2B10、UGT2B15 及び UGT2B17）によるベルモスジル（1 μmol/L）及び M2（0.1 μmol/L）の in vitro 代謝試験を行い、ベルモスジルの減少からベルモスジル及び M2 の代謝に関与する代謝酵素を検討した。

UGT1A9 発現系ミクロソームとのインキュベーションでは約 63%代謝され、UGT1A9 がベルモスジルの代謝に関与していると考えられた。また、M2 については UGT1A1 発現系ミクロソームとのインキュベーションでは約 86%代謝され、M2 の代謝には UGT1A1 が関与していると考えられた。

2.6.4.5.7 ベルモスジル代謝おける CYP 分子種の寄与率の推定

【2.6.5.10.6】：4.2.2.4-07：XT184060（評価資料）

ヒト肝ミクロソームを用いたベルモスジル（3 μmol/L）代謝への CYP 分子種特異的阻害剤の影響を検討することにより、ベルモスジル代謝に寄与する CYP 分子種の寄与率を算出した。

ゲムフィブロジルグルクロン酸抱合体（CYP2C8 阻害剤）、キニジン（CYP2D6 阻害剤）及びケトコナゾール（CYP3A4/5 阻害剤）併用により、ベルモスジルの代謝活性が低下し、CYP2C8, CYP2D6 及び CYP3A4/5 の相対的寄与率はそれぞれ 14.2、21.7 及び 41.9%であった。CYP1A2 及び CYP2C19 の相対的寄与率は 5%よりも低い値であった。ベルモスジルの代謝には主に CYP3A4/5 が、寄与は小さいものの CYP2C8 及び CYP2D6 も関与していると考えられた。

また、ベルモスジルから M2 への代謝に関与する CYP 分子種を同定するため、ヒト肝ミクロソームを用いた M2 生成における CYP 分子種特異的阻害剤の影響を検討した。

ベルモスジルから M2 への代謝活性は、ケトコナゾール添加により 41.8～54.6%低下した。その他の阻害剤では、ゲムフィブロジルグルクロン酸抱合体及びエソメプラゾール（CYP2C19 阻害剤）により、それぞれ最大 10%程度及び 15～30%低下が認められたが、フラフィリン（CYP1A2 阻害剤）及びキニジンでは代謝活性の低下は認められなかった。これらの結果はベルモスジルの代謝に対する CYP3A4/5 の関与が大きいという上述の結果と矛盾しなかった。

表 2.6.4-34 ヒト肝ミクロソームにおけるベルモスジル代謝に対する CYP 分子種の寄与率

CYP enzymes	Inhibitor	% Contribution
CYP1A2	Furafylline [a)]	< 5%
CYP2C8	Gemfibrozil glucuronide [a)]	14.2%
CYP2C19	Esomeprazole [a)]	< 5%
CYP2D6	Quinidine [b)]	21.7%
CYP3A4/5	Ketoconazole [b)]	41.9%

a) Metabolism-dependent inhibitor
b) Direct-acting inhibitor

2.6.4.5.8 ラットを用いた in vivo 代謝物同定

【2.6.5.9.1】：4.2.2.2-05：KDM/03（参考資料）

雌雄ラットに[^{14}C]ベルモスジルを 150 mg/kg（3.7 MBq/kg）単回経口投与し、血漿及び糞中代謝物を分析した。血漿中放射能の主成分は未変化体（血漿中総放射能に対して雄は 13.54～30.67%、雌は 46.85～68.28%）であった。血漿中総放射能の 10%を上回る代謝物として、*O*-脱アルキル硫酸抱合体、M2、M1 及びベルモスジル脱水素体が認められた。一方、糞中放射能の主成分は未変化体（投与総放射能に対して雄は 27.33%、雌は 44.46%）であり、投与放射能の 10%を上回る代謝物として M2 及び *O*-脱アルキル体が認められた。

ラットにおける推定代謝経路として、*O*-脱アルキル化及びそれに続く抱合体（グルクロン酸及び硫酸）生成、*N*-脱アルキル化による M1 の生成、加水分解による M2 の生成及び脱水素体の生成と推定された。

表 2.6.4-35 血漿及び糞中のベルモスジル代謝物分析

	血漿 [a)]		糞 [b)]	
代謝物	雄	雌	雄	雌
O-脱アルキルグルクロン酸抱合体	1.49～15.18	1.02	-	-
O-脱アルキル硫酸抱合体	18.74～29.52	1.00～13.25	-	-
M2	10.08～20.73	4.29～9.18	11.30	9.76
O-脱アルキル体	-	-	19.75	10.24
M1	7.52～19.13	4.24～9.07	-	-
ベルモスジル脱水素体	2.36～7.01	7.54～17.84	-	-
ベルモスジル	13.54～30.67	46.85～68.28	27.33	44.46

a) 0.5～24 時間のプール血漿中総放射能に対する割合(%)
b) 投与総放射能に対する割合(%)

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与時の尿及び糞中排泄

【2.6.5.13.1】：4.2.2.2-05：KDM/03（参考資料）

雌雄ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を 150 mg/kg（3.7 MBq/kg）単回経口投与し、投与後 120 時間までの尿、糞及び呼気中への放射能の排泄を検討した。

雄性ラットに投与後の尿及び糞中には、それぞれ投与量の 0.54 及び 92.83%が排泄され、雌性ラットに投与後の尿及び糞中には、それぞれ投与量の 0.79 及び 89.49%が排泄されており（表 2.6.4-36）、排泄率に明らかな性差は認められなかった。投与 120 時間後における体内残存率は投与量の 0.5%未満であった。なお、呼気中への排泄は認められなかった。

以上の結果から、ラットにおける放射能の主排泄経路は糞中排泄であった。

表 2.6.4-36 ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与後の尿及び糞中放射能排泄率

Sample	Recovery (mean ± S.D.) [a)]	
	Male	Female
Urine	0.54 ± 0.05	0.79 ± 0.21
Feces	92.83 ± 3.76	89.49 ± 5.14

a) 投与総放射能に対する割合(%)

2.6.4.6.2 乳汁移行試験

該当する試験は実施していない。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 CYP 阻害

【2.6.5.12.2】：4.2.2.6-02：XT175017（評価資料）

【2.6.5.12.2】：4.2.2.6-05：XT215067（評価資料）

ヒト肝ミクロソームを用い、ベルモスジル（0.025～25 µmol/L）及び M2（0.1～100 µmol/L）の CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5）に対する可逆的阻害作用を評価した。また、ベルモスジルの代謝依存的阻害（時間及び NADPH 依存的な阻害）作用を評価するため、プレインキュベーションの有無及び NADPH の存在下又は非存在下による評価も実施した。評価は、各 CYP 分子種に特異的な典型基質の代謝活性を指標に行った。

ベルモスジルの CYP2C8 及び CYP2C9 に対する可逆的阻害の IC_{50} 値は 1 µmol/L 以下であり、CYP2C8 に対しては競合的阻害（Ki = 0.46 µmol/L）、CYP2C9 に対しては混合阻害（競合阻害と非競合阻害、Ki = 0.92 µmol/L）の阻害様式を示した。CYP1A2、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 に対するベルモスジルの IC_{50} 値は 1 µmol/L 以上（それぞれ 12、2.7、24 及び 3.4～11 µmol/L）であった。CYP2B6 に対する IC_{50} 値は 25 µmol/L より高値であった。

ベルモスジルの代謝依存的阻害作用を評価したところ、CYP1A2、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 に対する代謝依存的な阻害が認められた。これら分子種について代謝依存的阻害作用について詳細な検討を行った結果、ベルモスジルの CYP1A2、CYP2C19 及び CYP3A4/5（ミダゾラム）に対する代謝依存的な阻害作用は、ミクロソームの再分離やフェリシアン化カリウム処理で代謝活性が回復しないことから、不可逆的な阻害であると考えられた。CYP2D6 については、プレインキュベーション時間の増加に伴うベルモスジルによる阻害の増加は認められなかったため、ベルモスジルは CYP2D6 に対する代謝依存的阻害剤ではないと考えられた。一方、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP2C9 に対して代謝依存的阻害は認められなかった。

M2 の CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5（テストステロン）に対する可逆的阻害の IC_{50} 値はそれぞれ 4.9, 1.1, 26 及び 86 µmol/L であった。一方、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5（ミダゾラム）に対する IC_{50} 値は 100 µmol/L より高値であった。

M2 の代謝依存的阻害作用を評価した結果、CYP3A4/5 に対して代謝依存的な阻害が認められたが、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対する代謝依存的な阻害は認められなかった。

表 2.6.4-37 ベルモスジルの CYP 分子種に対する in vitro 阻害作用

CYP 分子種	基質	IC_{50} (μmol/L)			代謝依存阻害の有無
		可逆的阻害 a)	時間依存阻害 b)	代謝依存阻害 c)	
CYP1A2	Phenacetin	12	13	3.1	あり d)
CYP2B6	Efavirenz	> 25	> 25	> 25	なし d)
CYP2C8	Amodiaquine	0.45	0.51	0.38	なし d)
CYP2C9	Diclofenac	0.74	1.1	0.73	なし d)
CYP2C19	*S*-Mephenytoin	2.7	2.7	1.5	あり d)
CYP2D6	Dextromethorphan	24	> 25	15	なし e)
CYP3A4/5	Midazolam	11	23	0.23	あり d)
	Testosterone	3.4	5.4	0.26	あり d)

a) プレインキュベーションなし
b) NADPH 非存在下で 30 分プレインキュベーション
c) NADPH 存在下で 30 分プレインキュベーション
d) 代謝依存阻害の有無は、プレインキュベーションの有無及びプレインキュベーション時の NADPH の有無による IC_{50} の比較、すべてのプレインキュベーション条件における阻害率の比較及び IC_{50} プロットの形状から判定
e) 代謝依存阻害の有無について、追加で異なるプレインキュベーション時間による IC_{50} 値の変化を比較することで判定

表 2.6.4-38 M2 の CYP 分子種に対する in vitro 阻害作用

CYP 分子種	基質	IC_{50} (μmol/L)			代謝依存阻害の有無 d)
		可逆的阻害 a)	時間依存阻害 b)	代謝依存阻害 c)	
CYP1A2	Phenacetin	4.9	5.3	8.4	なし
CYP2B6	Efavirenz	> 100	> 100	> 100	なし
CYP2C8	Amodiaquine	1.1	2.0	1.3	なし
CYP2C9	Diclofenac	26	37	26	なし
CYP2C19	*S*-Mephenytoin	> 100	> 100	> 100	なし
CYP2D6	Dextromethorphan	> 100	> 100	> 100	なし
CYP3A4/5	Midazolam	> 100	> 100	27	あり
	Testosterone	86	> 100	32	あり

a) プレインキュベーションなし
b) NADPH 非存在下で 30 分プレインキュベーション
c) NADPH 存在下で 30 分プレインキュベーション
d) 代謝依存阻害の有無は、プレインキュベーションの有無及びプレインキュベーション時の NADPH の有無による IC_{50} の比較、すべてのプレインキュベーション条件における阻害率の比較及び IC_{50} プロットの形状から判定

2.6.4.7.2 UGT 阻害

【2.6.5.12.3】：4.2.2.6-03：ADME-KAD-200630-UGT Inhibition（参考資料）

ヒト UGT 発現系ミクロソームを用い、ベルモスジル及び M2（0.1～100 μmol/L）の UGT 分子種（UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9、UGT2B7、UGT2B15 及び UGT2B17）に対する阻害作用を評価した。

ベルモスジルの UGT1A1 及び UGT1A9 に対する IC_{50} 値は、それぞれ 0.0609 及び 0.861 μmol/L であり、その他の UGT 分子種（UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT2B7、UGT2B15 及び UGT2B17）に対する IC_{50} 値は 1 μmol/L より高値であった。

M2 の UGT1A1 に対する IC_{50} 値は、0.629 μmol/L であり、その他の UGT 分子種（UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9、UGT2B7、UGT2B15 及び UGT2B17）に対する IC_{50} 値は 10 μmol/L より高値であった。

表 2.6.4-39 ヒト UGT 分子種に対するベルモスジル及び M2 の IC_{50} 値

UGT 分子種	基質	IC_{50} (μmol/L)	
		ベルモスジル	M2
UGT1A1	β-Estradiol	0.0609	0.629
UGT1A3	β-Estradiol	2.15	26.9
UGT1A4	trifluoperazine	> 10	46.6
UGT1A6	7-Hydroxy-4-trifluoromethylcoumarin (7-HFC)	> 10	94.7
UGT1A9	Propofol	0.861	11.2
UGT2B7	Zidovudine	4.14	40.5
UGT2B15	7-Hydroxy-4-trifluoromethylcoumarin (7-HFC)	7.98	47.8
UGT2B17	Testosterone	> 100	53.7

2.6.4.7.3 酵素誘導

【2.6.5.12.1】：4.2.2.6-01：XT173022（評価資料）

3 ドナーのヒト凍結肝細胞を用い、ベルモスジル（0.15～15 μmol/L）及び M2（0.3～100 μmol/L）の CYP1A2、CYP2B6 並びに CYP3A4 の誘導作用を、mRNA 増加率を算出することにより評価した。

ベルモスジル曝露後の CYP1A2 mRNA レベルは、3 ドナーすべてにおいて濃度依存的に 2.35～6.43 倍まで増加した。M2 曝露では、3 ドナー中 1 ドナーにおいて、最大濃度（100 μmol/L）のときに 2.44 倍まで増加が認められた。ベルモスジルと M2 による CYP1A2 mRNA レベルの増加は、陽性対照であるオメプラゾールの 10.5%以下であった。

ベルモスジル曝露後の CYP2B6 mRNA レベルは、3 ドナー中 1 ドナーにおいて最大 2.22 倍まで増加したが、その増加は、陽性対照であるフェノバルビタールの 14.3%に過ぎなかった。M2 曝露では CYP2B6 mRNA レベルにほとんど影響を及ぼさなかった。

ベルモスジル曝露後の CYP3A4 mRNA レベルは、3 ドナーすべてにおいて濃度依存的に 2.19～4.54 倍に増加したが、その増加は陽性対照であるリファンピシンの 18.2%であった。M2 曝露では CYP3A4 mRNA レベルにほとんど影響を及ぼさなかった。

ベルモスジルは CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA レベルを 2 倍以上増加させたが、その増加は各陽性対照の 20%未満であり、臨床的意義は低かった。一方、M2 は CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 mRNA レベルに対してほとんど誘導作用を示さなかった。

表 2.6.4-40 ベルモスジル及び M2 による CYP1A2、CYP2B6 並びに CYP3A4 mRNA 発現変動

Test articles	Concentration (μmol/L)	Hepatocyte Cell Line	CYP1A2		CYP2B6		CYP3A4	
			Fold induction	% Positive Control	Fold induction	% Positive Control	Fold induction	% Positive Control
ベルモスジル	0.1% DMSO	HC10-23	1.00	0	1.00	0	1.00	0
		HC5-24	1.00	0	1.00	0	1.00	0
		HC7-12	1.00	0	1.00	0	1.00	0
	0.15	HC10-23	1.27	0.311	1.07	1.10	1.08	0.188
		HC5-24	1.21	0.484	1.14	1.62	1.22	1.39
		HC7-12	1.25	0.490	1.06	0.939	1.20	1.18
	0.5	HC10-23	1.36	0.418	1.01	0.151	1.17	0.402
		HC5-24	1.01	0.0235	1.13	1.55	0.817	-1.16
		HC7-12	1.24	0.461	1.09	1.36	1.36	2.12
	1.5	HC10-23	1.69	0.790	1.20	3.07	1.55	1.31
		HC5-24	1.39	0.918	1.24	2.78	1.33	2.08
		HC7-12	1.68	1.32	1.18	2.70	1.32	1.90
	5	HC10-23	2.99	2.28	1.49	7.48	1.91	2.18
		HC5-24	0.971	-0.0681	1.44	5.13	0.943	-0.361
		HC7-12	1.91	1.76	1.16	2.37	1.75	4.38
	10	HC10-23	3.38	2.73	1.48	7.22	2.57	3.74
		HC5-24	1.94	2.20	2.22	14.3	1.81	5.14
		HC7-12	4.20	6.17	1.53	7.86	2.40	8.24
	15	HC10-23	5.64	5.33	1.89	13.5	4.54	8.42
		HC5-24	2.35	3.16	2.22	14.3	2.19	7.52
		HC7-12	6.43	10.5	1.86	12.8	4.10	18.2

Test articles	Concentration (μmol/L)	Hepatocyte Cell Line	CYP1A2		CYP2B6		CYP3A4	
			Fold induction	% Positive Control	Fold induction	% Positive Control	Fold induction	% Positive Control
M2	0.1% DMSO	HC10-23	1.00	0	1.00	0	1.00	0
		HC5-24	1.00	0	1.00	0	1.00	0
		HC7-12	1.00	0	1.00	0	1.00	0
	0.3	HC10-23	0.890	-0.126	1.05	0.742	1.33	0.776
		HC5-24	0.938	-0.146	0.887	-1.32	1.29	1.81
		HC7-12	0.970	-0.0579	0.786	-3.19	1.10	0.593
	1	HC10-23	0.966	-0.0391	1.17	2.51	1.39	0.929
		HC5-24	0.983	-0.0399	0.846	-1.80	1.04	0.266
		HC7-12	0.870	-0.251	0.630	-5.52	0.922	-0.458
	3	HC10-23	0.842	-0.182	0.983	-0.257	1.10	0.248
		HC5-24	0.788	-0.498	0.762	-2.78	0.962	-0.241
		HC7-12	0.853	-0.284	0.664	-5.01	1.02	0.106
	10	HC10-23	0.894	-0.122	0.842	-2.39	0.769	-0.550
		HC5-24	0814	-0.437	0.779	-2.58	1.07	0.418
		HC7-12	0.996	-0.00772	0.715	-4.25	1.28	1.63
	30	HC10-23	1.21	0.237	1.20	2.97	1.04	0.100
		HC5-24	1.30	0.693	1.09	1.00	1.31	1.97
		HC7-12	1.41	0.790	1.06	0.865	1.05	0.270
	100	HC10-23	2.44	1.66	0.975	-0.378	0.656	-0.819
		HC5-24	1.64	1.51	1.10	1.14	0.804	-1.24
		HC7-12	1.48	0.923	0.503	-7.41	0.2320	-4.51

2.6.4.7.4 トランスポーター基質性評価

【2.6.5.15.1】：4.2.2.6-04：XT178018（評価資料）

ベルモスジル及び M2 のトランスポーター（P-gp、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K）における基質性について、発現細胞又は膜ベシクルを用いて評価した。P-gp 及び BCRP を介した輸送については、トランスポーター発現細胞及びコントロール細胞を用い、ベルモスジル又は M2 について頂側膜側から基底膜側（A to B）及び基底膜側から頂側膜側（B to A）への膜透過を測定し、それぞれの方向の見かけの透過係数（Papp）から efflux ratio を算出した。BSEP を介した輸送については膜ベシクルを用いて ATP 又は AMP 存在下でのベルモスジル又は M2 の排泄を測定し、efflux ratio を算出した。OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K を介した輸送については、各トランスポーター発現細胞及びコントロール細胞を用い、ベルモスジル又は M2 の細胞への取り込み量を測定し、uptake ratio を算出した。

P-gp を介した輸送について、阻害剤非存在下においてベルモスジルの efflux ratio は 15.5 であったが、P-gp 阻害剤の添加により 1.83 に低下したことから、ベルモスジルは P-gp の基質であると考えられた。BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K については uptake ratio 及び efflux ratio が 2 未満であったことから、ベルモスジルは基質でないと考えられた。

BSEP を介した輸送について、阻害非存在下では M2 の uptake ratio は 2.38 であったが、BSEP 阻害剤の添加により 1.73 に低下したことから、M2 は BSEP の基質であると考えられた。また OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び MATE2-K を介した輸送について、阻害剤非存在下における M2 の uptake ratio はいずれも 2 以上であったが、それぞれのトランスポーターの阻害剤添加により uptake ratio が低下した。このことから M2 は OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び MATE2-K の基質でもあると考えられた。その他 P-gp、BCRP、OCT2 及び MATE1 については uptake ratio 又は efflux ratio が 2 未満であったことから、M2 は基質ではないと考えられた。

表 2.6.4-41 ベルモスジル及び M2 の各種トランスポーターに対する基質性の有無

トランスポーター	試験系	基質性 uptake 又は efflux ratio≥2、かつ阻害剤で減少 （基質濃度：μmol/L）	
		ベルモスジル	M2
P-gp	MDCKII-P-gp cells	あり（1）	なし（10）
BCRP	MDCKII-BCRP cells	なし（1）	なし（10）
BSEP	Vesicles	なし（1）	あり（10）
OATP1B1	HEK293 cells	なし（1）	あり（10）
OATP1B3		なし（1）	あり（10）
OAT1		なし（1）	あり（10）
OAT3		なし（1）	あり（10）
OCT2		なし（1）	なし（10）
MATE1		なし（10）	なし（10）
MATE2-K		なし（10）	あり（10）

2.6.4.7.5 トランスポーター阻害

【2.6.5.15.1】：4.2.2.6-04：XT178018（評価資料）

ベルモスジル及び M2 のトランスポーター（P-gp、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K）における阻害能について、発現細胞又は膜ベシクルを用い

て評価した。P-gp 及び BCRP を介した輸送については、トランスポーター発現細胞及びコントロール細胞を用い、ベルモスジル又は M2 存在下において頂側膜側から基底膜側（A to B）及び基底膜側から頂側膜側（B to A）への典型基質薬物の膜透過を測定し、それぞれの方向の見かけの透過係数（Papp）から efflux ratio を算出した。BSEP を介した輸送については膜ベシクルにベルモスジル又は M2 を添加しプレインキュベーションしたのち、ATP 又は AMP 存在下での典型基質薬物の排泄量を測定し、efflux ratio を算出した。OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K を介した輸送については、各トランスポーター発現細胞及びコントロール細胞を用い、ベルモスジル又は M2 存在下での典型基質薬物の細胞への取り込み量を測定し、uptake ratio を算出した。ベルモスジルの P-gp、BCRP、OATP1B1、MATE1 及び MATE2-K に対する IC_{50} 値はそれぞれ 0.198、0.0310、0.235、0.397 及び 0.224 μmol/L であり、ベルモスジルは P-gp、BCRP、OATP1B1、MATE1 及び MATE2-K の阻害剤であると考えられた。一方、BSEP、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 に対する IC_{50} 値は 1 μmol/L より高値であったことから、ベルモスジルは BSEP、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 を阻害しないと考えられた。

M2 の OATP1B1 に対する IC_{50} 値は 0.390 μmol/L であり、BCRP、BSEP、OATP1B3、OAT3、MATE1 及び MATE2-K に対する IC_{50} 値は 100 μmol/L 以下であった（それぞれ 7.73、48.2、1.55、15.9、70.8 及び 13.2 μmol/L）。この結果より M2 は BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT3、MATE1 及び MATE2-K の阻害剤であることが考えられた。一方、P-gp、OAT1 及び OCT2 に対する IC_{50} 値は 500 μmol/L より高値であったことから、M2 は P-gp、OAT1 及び OCT2 を阻害しないと考えられた。

表 2.6.4-42 各種トランスポーターに対するベルモスジル及び M2 の IC_{50} 値

トランスポーター	試験系	IC_{50} (μmol/L)（基質濃度：μmol/L）	
		ベルモスジル	M2
P-gp	Caco-2 cells	0.198 (0.01~1)	> 600 (60, 600)
BCRP	MDCKII-BCRP cells	0.0310 (0.01~1)	7.73 (1~100)
BSEP	Vesicles	> 1 (0.1, 1)	48.2 (1~400)
OATP1B1	HEK293 cells	0.235 (0.01~1)	0.390 (0.1~50)
OATP1B3		> 1 (0.1, 1)	1.55 (0.1~50)
OAT1		> 1 (0.1, 1)	>500 (50, 500)
OAT3		> 1 (0.1, 1)	15.9 (0.1~50)
OCT2		> 1 (0.1, 1)	>500 (50, 500)
MATE1		0.397 (0.01~10)	70.8 (5~500)
MATE2-K		0.224 (0.01~10)	13.2 (5~500)

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

該当する試験は実施していない。

2.6.4.9 考察及び結論

2.6.4.9.1 吸収

マウス及びラットにベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与したとき、ベルモスジルは速やかに吸収された（t_{max} は 100 mg/kg の経口投与で 30～120 分）。C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$ については用量比を上回って増加する傾向が認められた。投与量の増加に伴ってバイオアベイラビリティが高くなる傾向が認められた（15～85%）。その原因として初回通過効果の飽和及び消化管の排泄トランスポーターによる汲み出しが飽和していることが考えられ、ベルモスジルが P-gp の基質であることとも一致する。マウスにおいて経口投与時のベルモスジルの $AUC_{0-\infty}$に対する M1 及び M2 の $AUC_{0-\infty}$比が静脈内投与時に比べ高かったことから、経口投与時には初回通過効果でも M1 及び M2 が生成していると考えられた。ラットにおいて経口投与時のベルモスジルの $AUC_{0-\infty}$に対する M1 及び M2 の $AUC_{0-\infty}$比は 10～30 mg/kg 投与群で高く、100～150 mg/kg 投与群で低いことから、ラットへの 100 mg/kg 以上での投与では M1 及び M2 の生成が飽和している可能性が考えられた。

雌雄ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与したところ、血漿中総放射能の濃度推移や放射能濃度の動態パラメータは雌雄で比較的類似しており、明らかな性差は認められなかった。一方、ベルモスジルメシル酸塩を単回及び反復経口投与時のベルモスジルの C_{max} や AUC は雄に比べ、雌で大きく、M1 及び M2 の C_{max} や AUC は雌に比べ雄で大きい傾向が認められた。ラットにベルモスジルメシル酸塩を反復経口投与したときの累積係数は、雄に比べ、雌の方が高い傾向が見られた。これは、ベルモスジルの代謝に関与している代謝酵素活性が雌性ラットに比べ、雄性ラットで大きいことが原因と考えられた。なお、イヌではこのような累積の性差は認められず、雌雄共に累積係数は 3 倍以内であった。

2.6.4.9.2 分布

[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を雌雄白色ラット及び有色ラットに単回経口投与し組織における放射能濃度を測定したところ、白色ラットにおいては経口投与後の放射能は全身に速やかに分布し、投与後 1 時間で多くの組織で放射能は最高濃度を示した。投与 48 時間後には多くの組織で放射能濃度は定量下限付近あるいは検出限界未満となった。一方、有色ラットにおいては雌雄ともにメラニン含有組織（ぶどう膜及び有色皮膚）において高い放射能濃度が認められ、ベルモスジルあるいはその代謝物はメラニン親和性があることが示された。メラニン含有組織においても時間の経過とともに放射能濃度の低下が認められた。

ベルモスジルの in vitro 血漿蛋白結合率は濃度に依存せず、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトのすべての動物種において 99%以上であった。またヒト血漿中においてベルモスジルとヒト血清アルブミン及び α_1-酸性糖蛋白との結合率はどちらも約 99%と高かったものの、ヒト血清アルブミンとの結合率は濃度依存的な変動が認められない一方で、α_1-酸性糖蛋白との結合率はベルモスジルの濃度上昇に伴い結合率が低下し結合の飽和が示唆された。これらのことからベルモスジルはヒト血清アルブミンに主に結合していると考えられた。M2 の in vitro 血漿蛋白結合率は濃度に依存せず、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトは 96%～99%以上であった。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血液を用いてベルモスジルの血球移行性を検討したところ、マウス、ラット、イヌ及びヒトでは血球移行性は低かった。一方、ウサギ血液において血球への移行が認められた。

2.6.4.9.3 代謝

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソーム並びに肝細胞を用いた in vitro 代謝試験において、いずれの動物種においてもベルモスジルの代謝は中程度～高い肝クリアランスを示した。また、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト肝ミクロソーム並びに肝細胞を用いベルモスジルの代謝プロファイルを検討したところ、合計で 44 種類の代謝物が認められた。また主要代謝物として M1（*N*-脱アルキル体）及び M2（加水分解体）が認められた。ヒト試料中においては M2 とグルクロン酸抱合体の 2 種類の代謝物が 5%以上のピーク面積比で検出され、ヒト特異的な代謝物は検出されなかった。

ベルモスジルの主な初発代謝は M1、M2、酸化体、脱水素体、*O*-脱アルキル体及びグルクロン酸抱合体と推定された。ベルモスジルの代謝には種差が認められ、ラットでは、*O*-脱アルキル化及びそれに続く抱合体（グルクロン酸及び硫酸）、M1、M2 及び脱水素体の生成が代謝経路として推定された。ヒトでは、M2、モノヒドロキシ体、ジヒドロキシ体、*O*-脱アルキルに続く *O*-脱アルキル硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の生成が代謝経路として推定された。

ヒト CYP 発現系ミクロソーム及びヒト肝ミクロソームを用いた in vitro での検討から、ベルモスジルの代謝には主に CYP3A4 が関与し、寄与は小さいものの CYP2C8 及び CYP2D6 の関与が示された。またベルモスジルから M2 への代謝には CYP3A4 が関与することが示された。さらに、ヒト UGT 発現系ミクロソームを用いた検討により、ベルモスジルの代謝には UGT1A9 が、M2 の代謝には UGT1A1 の関与が示された。

2.6.4.9.4 排泄

ラットに[^{14}C]ベルモスジルメシル酸塩を単回経口投与したところ、雌雄ともに投与量の約 90%の放射能が糞中に排泄された。尿中への排泄率も雌雄ともに 1%未満であり、排泄経路に性差は認められなかった。また投与 120 時間後における体内残存率は投与量の 0.5%未満であり、呼気中への排泄も認められなかったことから、ラットにおけるベルモスジル及びその代謝物の主排泄経路は糞中排泄であると考えられた。

2.6.4.9.5 薬物相互作用

ヒト肝ミクロソームを用いベルモスジルのヒト CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5）に対する可逆的阻害作用を検討した結果、CYP2C8 及び CYP2C9 に対する阻害が認められた（IC_{50} 値はそれぞれ 0.45 及び 0.74 μmol/L）。CYP2C8 に対しては競合的阻害（Ki = 0.46 μmol/L）、CYP2C9 に対しては混合阻害（競合阻害と非競合阻害、Ki = 0.92 μmol/L）の阻害様式を示した。CYP1A2、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 に対する IC_{50} 値は 1 μmol/L より高値であった。ベルモスジルの代謝依存的阻害作用を詳細に検討したところ、CYP1A2、CYP2C19 及び CYP3A4/5 に対する代謝依存的な阻害も認められ、ミクロソームの再分離やフェリシアン化カリウム処理で代謝活性が回復しないことから、不可逆的な阻害であると考えられた。M2 のヒト CYP 分子種に対する可逆的阻害作用を検討したところ、CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5（テストステロン）に対する可逆的阻害が認められた（IC_{50} 値はそれぞれ 4.9、1.1、26 及び 86 μmol/L）。また M2 の代謝依存的阻害作用を検討したところ、CYP3A4/5 に対する代謝依存的な阻害作用も認められた。

ヒト UGT 発現系ミクロソームを用いベルモスジルの UGT 分子種（UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9、UGT2B7、UGT2B15 及び UGT2B17）に対する阻害作用を検討したところ、ベルモスジルは UGT1A1 及び UGT1A9 をそれぞれ 0.0609 及び 0.861 μmol/L の IC_{50} 値で阻害した。

UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT2B7、UGT2B15 及び UGT2B17 に対する IC_{50} 値は 1 μmol/L より高値であった。また M2 の UGT 分子種に対する阻害作用を検討したところ、UGT1A1 を 0.629 μmol/L の IC_{50} 値で阻害したが、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9、UGT2B7、UGT2B15 及び UGT2B17 に対する IC_{50} 値は 10 μmol/L より高値であった。

ヒト肝細胞においてベルモスジルの CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用を検討したところ、ベルモスジルはこれらの CYP 分子種の mRNA レベルを 2 倍以上増加させた。しかしその増加は陽性対照であるオメプラゾール、フェノバルビタール及びリファンピシンの増加の 20%未満であり、臨床的意義は低いと考えられた。M2 はいずれの CYP 分子種の mRNA レベルに対して誘導作用を示さなかった。

In vitro 評価系を用いてベルモスジルの各種トランスポーター（P-gp、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K）に対する基質性を検討したところ、P-gp を介したベルモスジル輸送の efflux ratio は 2 以上かつ P-gp 阻害剤の添加によりその efflux ratio が減少したことから、ベルモスジルは P-gp の基質であることが示された。同様に M2 の各種トランスポーターに対する基質性を検討したところ、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び MATE2-K を介したベルモスジル輸送の uptake ratio は 2 以上かつそれぞれのトランスポーターに対する阻害剤の添加によりその uptake ratio が低下した。このことから M2 は BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び MATE2-K の基質であることが示された。

In vitro 評価系を用いてベルモスジルの各種トランスポーター（P-gp、BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K）に対する阻害作用を検討したところ、ベルモスジルは P-gp、BCRP、OATP1B1、MATE1 及び MATE2-K に対して阻害作用を示し、その IC_{50} 値はそれぞれ 0.198、0.0310、0.235、0.397 及び 0.224 μmol/L であった。同様に M2 の各種トランスポーターに対する阻害作用を検討したところ、M2 は BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OAT3、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用を示し、その IC_{50} 値はそれぞれ 7.73、48.2、0.390、1.55、15.9、70.8 及び 13.2 μmol/L であった。

臨床において薬物相互作用の影響が懸念される薬物代謝酵素及びトランスポーターについては、それぞれの基質及び阻害剤とベルモスジルを併用した際の影響を、メカニズムに基づく静的薬物速度論（MSPK）モデル及び生理学的薬物速度論（PBPK）モデルを用いて検討した。CYP3A4 阻害剤であるフルコナゾール、エリスロマイシン及び CYP3A4 誘導薬のエファビレンツがベルモスジルの PK に及ぼす影響について PBPK モデルにてシミュレーションした結果、フルコナゾールの併用によりベルモスジルの C_{max} 及び AUC はそれぞれ 1.09 及び 1.22 倍、エリスロマイシンを併用した場合は 1.10 及び 1.25 倍になると計算された。またエファビレンツを併用した場合のベルモスジルの C_{max} 及び AUC はそれぞれ 0.81 及び 0.65 倍になると計算された【2.7.2.3.4】。次に CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4 の典型的基質であるカフェイン、レパグリニド、S-ワーファリン、オメプラゾール及びミダゾラムをベルモスジルと併用したときの各典型基質の PK をシミュレーションしたところ、カフェインの C_{max} 及び AUC は単独投与時と比較してそれぞれ 1.08 倍及び 1.58 倍、ミダゾラムの C_{max} 及び AUC はそれぞれ 1.32 倍及び 1.64 倍になると計算された【2.7.2.3.6.1】。UGT については MSPK モデルにおいて、ベルモスジル併用により UGT1A1、UGT1A3 及び UGT1A9 に対する AUC 変化比（AUCR）が 1.25 以上を示した。さらに P-gp、BCRP、OATP1B1 及び MATE1/MATEs の典型的基質であるダビガトラン、スルファサラジン、プラバスタチン及びメトホルミンをベルモスジルと併用したときの各典型基質の PK を PBPK モデルにてシミュレーションした結果、ベルモスジル併用により各典型基質の C_{max} 及び AUC はぞれぞれ最大 1.64 及び 1.60 倍になると計算された【2.7.2.3.6.3】。

2.6.4.10 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 3
2.6.5.1 薬物動態試験一覧 3
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 7
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 10
2.6.5.3.1 Solubility in several buffers 10
2.6.5.3.2 Permeability of belumosudil in Caco-2 Cell Line 11
2.6.5.3.3 Bioavailability of Belumosudil Following Intravenous and Oral Administration in Swiss Mice 12
2.6.5.3.4 Bioavailability of Belumosudil Following Intravenous and Oral Administration in Male Sprague-Dawley Rats 14
2.6.5.3.5 Respiratory Safety Assessment of Single Dose Belumosudil in Sprague-Dawley Rats 16
2.6.5.3.6 Respiratory Safety Assessment of Single Dose Belumosudil in Sprague-Dawley Rats 18
2.6.5.3.7 Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test 19
2.6.5.3.8 Single Oral Dose of Belumosudil to Male and Female Sprague-Dawley Rats 21
2.6.5.3.9 Cardiovascular Safety Assessment of Single Dose Belumosudil in Beagle Dogs 22
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 24
2.6.5.4.1 7-Day Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study in Male C57BL/6 Mice 24
2.6.5.4.2 28-Day Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study with Belumosudil in Sprague-Dawley Rats 25
2.6.5.4.3 Combination Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Sprague-Dawley Rats 28
2.6.5.4.4 6-Month Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study in Sprague-Dawley Rats with a 3-Month Interim Termination 30
2.6.5.4.5 Pilot Prenatal Developmental Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats 35
2.6.5.4.6 Prenatal Developmental Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats 38
2.6.5.4.7 Pilot Prenatal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits 41
2.6.5.4.8 Prenatal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits 44
2.6.5.4.9 28-Day Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs 47
2.6.5.4.10 3-Month Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs 50
2.6.5.4.11 39-Week Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs with 13-Week Interim Termination 54
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 58
2.6.5.5.1 Tissue Distribution Pattern Following a Single Oral Administration of [^{14}C]Belumosudil to Male Rats 58
2.6.5.5.2 Distribution of [^{14}C]Belumosudil in Male/Female Albino and Partially Pigmented Rats 60
2.6.5.6 蛋白結合 62
2.6.5.6.1 Pharmacokinetics: Plasma Protein Binding In Vitro 62
2.6.5.6.2 Pharmacokinetics: Human Plasma Protein Binding In Vitro 63
2.6.5.6.3 Pharmacokinetics: Plasma Protein Binding In Vitro 64
2.6.5.6.4 Pharmacokinetics: Blood/Plasma Partitioning In Vitro 65
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 66
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 67

2.6.5.9 薬物動態試験：in vivo における代謝....68
2.6.5.9.1 Chromatographic Analysis and Metabolite Identification in Sprague-Dawley Rats....68
2.6.5.9.2 Mass Balance and Metabolite ID of Belumosudil in Humans....72
2.6.5.10 薬物動態試験：in vitro における代謝....74
2.6.5.10.1 In Vitro Evaluation of Microsomal Metabolism of Belumosudil in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Liver Microsomes....74
2.6.5.10.2 In Vitro Evaluation of Hepatocyte Metabolism of Belumosudil in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Hepatocytes....75
2.6.5.10.3 In Vitro Metabolite Identification of Belumosudil in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Liver Microsomes....76
2.6.5.10.4 In Vitro Metabolite Identification of Belumosudil in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Hepatocytes....78
2.6.5.10.5 In Vitro Reaction Phenotyping of Belumosudil and M2 in Human Liver Microsomes and Recombinant Human CYP and UGT Enzymes....80
2.6.5.10.6 Determination of Relative Contribution of Various CYP Enzymes to the Metabolism of Belumosudil in Human Liver Microsomes....82
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路....88
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害....89
2.6.5.12.1 In Vitro Evaluation of Belumosudil and M2 Effects on CYP Induction in Human Hepatocytes....89
2.6.5.12.2 In Vitro Evaluation of Belumosudil and M2 as Inhibitors of CYP Enzymes in Human Liver Microsomes....91
2.6.5.12.3 In Vitro Evaluation of KD025 and KD025m2 as an Inhibitor of Human Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferases (UGT): UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B7, UGT2B15 and UGT2B17....93
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄....94
2.6.5.13.1 Mass Balance Study Following a Single Oral Administration of [^{14}C]Belumosudil to Male/Female Albino Rats....94
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄....95
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用....96
2.6.5.15.1 In Vitro Evaluation of Belumosudil and M2 as Inhibitors and Substrates of Human ABC and SLC Transporters....96
2.6.5.16 薬物動態試験：その他....98

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験一覧

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location on CTD
Absorption					
Solubility Determination	In vitro	NA	[redacted]	ADME-KAD-200402-Kinetic Solubility	4.2.2.2-01
Permeability in Caco-2 Cells	In vitro	NA	[redacted]	ADME-KAD-200410-Caco-2	4.2.2.2-02
Single Dose Absorption					
Single Dose Absorption	Mouse	Intravenous, Oral	Surface Logix, Inc.	SLx-PK-096	4.2.2.2-03
Single Dose Absorption	Rat	Intravenous, Oral	Surface Logix, Inc.	SLx-PK-113-213	4.2.2.2-04
Single Dose Absorption	Rat	Oral	[redacted]	KDM/03	4.2.2.2-05
Repeat Dose Absorption					
Repeat Dose Absorption	Mouse	Oral	Surface Logix, Inc.	SLx-PK-239	4.2.2.2-06
Repeat Dose Absorption	Rat	Oral	[redacted]	1173-028 [a)]	4.2.3.2-01
Repeat Dose Absorption	Rat	Oral	[redacted]	029502 [a)]	4.2.3.2-02
Repeat Dose Absorption	Dog	Oral	[redacted]	1173-029 [a)]	4.2.3.2-05
Repeat Dose Absorption	Dog	Oral	[redacted]	029281 [a)]	4.2.3.2-06
Repeat Dose Absorption	Dog	Oral	[redacted]	8289750 [a)]	4.2.3.2-07
Reproductive and Developmental					
Rodent Fertility (Segment 1)	Rat	Oral	[redacted]	2420-008 [a)]	4.2.3.5.1-01
Embryo-fetal Toxicology (Segment 2)	Rat	Oral	[redacted]	2420-004	4.2.3.5.2-01

2.6.5.1 薬物動態試験一覧（続き）

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location on CTD
Reproductive and Developmental (continued)					
Embryo-fetal Toxicology (Segment 2)	Rat	Oral	[redacted]	2420-006 [a)]	4.2.3.5.2-02
Embryo-fetal Toxicology (Segment 2)	Rabbit	Oral	[redacted]	[redacted]-005	4.2.3.5.2-03
Embryo-fetal Toxicology (Segment 2)	Rabbit	Oral	[redacted]	2420-007 [a)]	4.2.3.5.2-04
Safety Pharmacology					
Safety Pharmacology Respiratory Assessment	Rat	Oral	[redacted]	[redacted]-602030 [a)]	4.2.1.3-04
Safety Pharmacology Respiratory Assessment	Rat	Oral	[redacted]	8289751 [a)]	4.2.1.3-05
Safety Pharmacology Cardiovascular Assessment	Dog	Oral	[redacted]	[redacted]-602029 [a)]	4.2.1.3-03
Genotoxicity					
Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test	Rat	Oral	[redacted]	AB44FM.125.BTL [a)]	4.2.3.3.2-01
Distribution					
Single Dose Tissue Distribution	Rat	Oral	[redacted]	KDM/01 [a)]	4.2.2.3-01
Single Dose Tissue Distribution	Rat	Oral	[redacted]	KDM/03	4.2.2.2-05
Plasma Protein Binding	In vitro (mouse, rat, rabbit, dog, human)	NA	[redacted]	ADME-KAD-200410-PPB	4.2.2.3-02

2.6.5.1 薬物動態試験一覧（続き）

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location on CTD
Distribution (continued)					
Plasma, HSA, AGP Protein Binding	In vitro (human)	NA	[redacted]	KDM/06	4.2.2.3-03
Plasma Protein Binding	In vitro (mouse, rat, rabbit, dog, human)	NA	[redacted]	[redacted]PPB	4.2.2.3-05
Blood/Plasma Partitioning	In vitro (mouse, rat, rabbit, dog, human)	NA	[redacted]	[redacted]Blood Partition	4.2.2.3-04
Metabolism					
Metabolism In Vivo					
In Vivo Metabolite Analysis	Rat	Oral	[redacted]	KDM/03	4.2.2.2-05
In Vivo Metabolite Analysis	Human	Oral	[redacted]	KDM/05	4.2.2.4-01
Metabolism In Vitro					
In Vitro Metabolic Stability (liver microsomes)	In vitro (mouse, rat, rabbit, dog, human)	NA	[redacted]	ADME-KAD-200420-LM	4.2.2.4-02
In Vitro Metabolic Stability (hepatocytes)	In vitro (mouse, rat, rabbit, dog, human)	NA	[redacted]	ADME-KAD-200420-Hepatocytes	4.2.2.4-03
In Vitro Metabolite Identification (liver microsomes)	In vitro (mouse, rat, rabbit, dog, human)	NA	[redacted]	ADME-KAD-200420-LM-MetID	4.2.2.4-04
In Vitro Metabolite Identification (hepatocytes)	In vitro (mouse, rat, rabbit, dog, human)	NA	[redacted]	ADME-KAD-200420-Heps-MetID	4.2.2.4-05
In Vitro Metabolism (CYP/UGT) (liver microsomes)	In vitro (human)	NA	[redacted]	XT174009	4.2.2.4-06

2.6.5.1 薬物動態試験一覧（続き）

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location on CTD
Metabolism In Vitro (continued)					
In Vitro Metabolism/ Relative Contribution (liver microsomes)	In vitro (human)	NA	[redacted]	XT184060	4.2.2.4-07
Induction/Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes					
Induction of Drug Metabolizing Enzymes (hepatocytes)	In vitro (human)	NA	[redacted]	XT173022	4.2.2.6-01
Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes (liver microsomes, CYP)	In vitro (human)	NA	[redacted]	XT175017	4.2.2.6-02
Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes (liver microsomes, CYP)	In vitro (human)	NA	[redacted]	XT215067	4.2.2.6-05
Inhibition of Drug Metabolizing Enzymes (liver microsomes, UGT)	In vitro (human)	NA	[redacted]	ADME-KAD-200630-UGT Inhibition	4.2.2.6-03
Excretion					
Excretion	Rat	Oral	[redacted]	KDM/03	4.2.2.2-05
Pharmacokinetic Drug Interactions					
Inhibition/ Substrate Evaluation of ABC and SLC Transporters	In vitro (human)	NA	[redacted]	XT178018	4.2.2.6-04

a) Study was conducted in accordance with Good Laboratory Practice (GLP) regulations
ABC = ATP-binding cassette, AGP = α_1-acid glycoprotein, CYP = cytochrome P450, UGT = uridine 5'-diphosphate glucuronosyltransferase, HSA = human serum albumin, NA = not applicable, SLC = solute carrier

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

Study / report number (Study Type)	Analyte	Matrix	Method	Analytical test site	Analytical report no.	GLP compliant (Y/N)	Reference to analytical method	Sample preparation	Assay range	Stability Duration	Validation status
[redacted]-602030 (Rat Pulmonary Study)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	602030	Y	602030	Protein Precipitation	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 12 mo M1 = 6 mo M2 = 12 mo at -20°C	Validated ([redacted]-602032)
8289751 (Rat Pulmonary Study)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	8289751	Y	[redacted]	Protein Precipitation	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 159 days M1 = 159 days M2 = 159 days at -20°C	Validated (8291392)
1173-028 (28-Day Rat Tox)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	P0002676	Y	[redacted]0003229	Protein Precipitation	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 14 mo M1 = 6 mo M2 = 14 mo at -20°C	Validated (1173-054, [redacted]0002490)
029502 (3/6 Month Rat Tox)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	029502	Y	[redacted]-02/C	Protein Precipitation	20-5000 ng/mL	Belumosudil = 510 days M1 = 510 days M2 = 510 days at -80°C	Validated (031722)
2420-006 (Rat Embryo-Fetal Tox)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	8327843	Y	[redacted]	Protein Precipitation	10-2000 ng/mL	Belumosudil = 159 days M1 = 159 days M2 = 159 days at -20°C	Validated (8291392)

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

Study / report number (Study Type)	Analyte	Matrix	Method	Analytical test site	Analytical report no.	GLP compliant (Y/N)	Reference to analytical method	Sample preparation	Assay range	Stability Duration	Validation status
2420-008 (Rat Fertility Tox)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	8336-730	Y	[redacted]	Protein Precipitation	10-2000 ng/mL	Belumosudil = 159 days M1 = 159 days M2 = 159 days at -20°C	Validated (8291392)
2420-007 (Rabbit Embryo-Fetal Tox)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	8327846	Y	[redacted]	Protein Precipitation	10-2000 ng/mL	Belumosudil = 77 days M1 = 77 days at -80°C M2 = 77 days at -20°C	Validated (8325599)
[redacted]-602029 (Dog Cardiovascular Study)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	602029	Y	602029	Protein Precipitation	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 12 mo M1 = 90 days M2 = 12 mo at -20°C	Validated ([redacted]-602032)
1173-029 (Dog 28-Day Tox)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	[redacted]0003131	Y	[redacted]0003229	Protein Precipitation	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 12 mo M1 = 90 days M2 = 12 mo at -20°C	Validated (1173-040, [redacted]0002870)

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

Study / report number (Study Type)	Analyte	Matrix	Method	Analytical test site	Analytical report no.	GLP compliant (Y/N)	Reference to analytical method	Sample preparation	Assay range	Stability Duration	Validation status
029281 (Dog 3 Month Tox)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	029281	Y	[redacted] -01/C	Protein Precipitation	20-5000 ng/mL	Belumosudil = 510 days M1 = 510 days M2 = 510 days at -80°C	Validated (031721)
8289750 (Dog 39-WeekTox)	Belumosudil, M1 and M2	K_3-EDTA Plasma	LC-MS/MS	[redacted]	8289750	Y	[redacted]	Protein Precipitation	10-5000 ng/mL	Belumosudil = 156 days M1 = 156 days M2 = 156 days at -20°C	Validated (8289747)

EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, mo = month

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3.1 Solubility in several buffers

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.2-01
試験番号：ADME-KAD-200402-Kinetic Solubility

Test Article: Belumosudil			
Study No:	ADME-KAD-200402-Kinetic Solubility		
Study System:	The kinetic solubility of belumosudil was analyzed in buffer with pH 2.0, 4.5 and 6.8. Following incubation for 2 hours at 25°C, each sample was filtered and analyzed by UPLC-MS/MS.		
Buffer	**pH 2.0**	**pH 4.5**	**pH 6.8**
Solubility (µmol/L)	223.98	2.27	< 0.26 [a)]

a) The signal response of the buffer samples in solubility assay was below the limit of detection, and peak area of 50 was used in the calculation.
UPLC-MS/MS = ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry

2.6.5.3.2 Permeability of belumosudil in Caco-2 Cell Line

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.2-02
試験番号：ADME-KAD-200410-Caco-2

Test Article: Belumosudil					
Study No:	ADME-KAD-200410-Caco-2				
Study System:	Cells were incubated with 1, 10, and 100 µmol/L belumosudil and incubated at 37°C for 2 hours; digoxin, atenolol, and minoxidil were used as controls. Permeation was determined by UPLC-MS/MS.				
Permeability of belumosudil in Caco-2 Cell Line					
Test Article	**P_{app} (cm/s × 10^{-6})**		**Recovery (%)**		**Efflux Ratio**
	A to B	**B to A**	**A to B**	**B to A**	
Belumosudil (1 µmol/L) [a)]	< 0.919	1.83	< 32.7 [b)]	33.1 [b)]	> 2.06
Belumosudil (10 µmol/L)	0.294	1.12	42.1 [b)]	42.3 [b)]	4.01
Belumosudil (100 µmol/L)	0.276	0.201	49.8 [b)]	68.6 [b)]	0.727
Controls					
Digoxin (5 µmol/L)	0.925	21.6	98.4	95.1	23.7
Atenolol (5 µmol/L)	0.566	0.668	84.3	95.5	1.19
Minoxidil (5 µmol/L)	4.75	7.73	86.5	93.6	1.63

a) The concentration in the receiver was below the limit of quantification, the P_{app}, percent recovery and efflux ratio were calculated with cut-off of LLOQ (1 nmol/L).
b) Low belumosudil solubility and recovery in the assay may impact the interpretation of this study.
A to B = apical to basolateral, B to A = basolateral to apical, P_{app} = apparent permeability, UPLC-MS/MS = ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry

2.6.5.3.3 Bioavailability of Belumosudil Following Intravenous and Oral Administration in Swiss Mice

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.2-03
試験番号：SLx-PK-096

Test Article: Belumosudil			
Study No:	SLx-PK-096		
Species:	Swiss Mice		
Sex (M/F)/Number of animals:	45M per dose group		
Feeding Conditions:	Fed		
Vehicle/Formulation:	5% Dextrose (IV), 0.4% Methyl cellulose (PO)		
Method of Administration:	IV, PO		
Dose (mg/kg):	1 (IV), 20, 40, 60, 100 (PO)		
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma		
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2		
Assay:	LC-MS/MS		
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [a)]	**M1** [a)]
t_{max} (min)			
1 mg/kg (IV)	5.0	5.0	10.0
20 mg/kg (PO)	15.0	30.0	15.0
40 mg/kg (PO)	30.0	30.0	30.0
60 mg/kg (PO)	60.0	30.0	30.0
100 mg/kg (PO)	30.0	30.0	30.0
C_{max} (ng/mL)			
1 mg/kg (IV)	1620	171	74
20 mg/kg (PO)	683	218	230
40 mg/kg (PO)	2159	1034	1058
60 mg/kg (PO)	3521	1607	1614
100 mg/kg (PO)	4481	2276	2481
AUC_{inf} (ng·hr/mL)			
1 mg/kg (IV)	459	44	27
20 mg/kg (PO)	1359	369	485
40 mg/kg (PO)	6937	1893	2151
60 mg/kg (PO)	15208	3903	4418
100 mg/kg (PO)	38884	11651	12147

2.6.3.3.3 Bioavailability of Belumosudil Following Intravenous and Oral Administration in Swiss Mice（続き）

PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [a)]	**M1** [a)]
$t_{1/2}$ (min)			
1 mg/kg (IV)	16.0	18.0	24.0
V_z (L/kg)			
1 mg/kg (IV)	0.81	9.8	21.6
CL (mL/min/kg)			
1 mg/kg (IV)	36.3	381	624
Metabolite Ratio [b)]			
1 mg/kg (IV)	NA	0.10	0.06
20 mg/kg (PO)	NA	0.27	0.36
40 mg/kg (PO)	NA	0.27	0.31
60 mg/kg (PO)	NA	0.26	0.29
100 mg/kg (PO)	NA	0.30	0.31
%F			
20 mg/kg (PO)	15%	NA	NA
40 mg/kg (PO)	38%	NA	NA
60 mg/kg (PO)	55%	NA	NA
100 mg/kg (PO)	85%	NA	NA

a) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.

b) Metabolite Ratio = metabolite AUC_{inf} / belumosudil AUC_{inf}

F = female, IV = intravenous, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, PO = oral, %F = bioavailability

2.6.5.3.4 Bioavailability of Belumosudil Following Intravenous and Oral Administration in Male Sprague-Dawley Rats

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.2-04
試験番号：SLx-PK-113-213

Test Article: Belumosudil			
Study No:	SLx-PK-113-213		
Species:	Sprague-Dawley Rat		
Sex (M/F)/Number of animals:	21M (5M IV; 4M per PO dose group)		
Feeding Conditions:	Fasted		
Vehicle/Formulation:	5% DMSO, 45% PEG400, 50% 0.9% Saline (IV) 0.4% Methyl cellulose (PO)		
Method of Administration:	IV, PO		
Dose (mg/kg):	1 (IV), 10, 30, 100, 150 (PO)		
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma		
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2		
Assay:	LC-MS/MS		
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [a)]	**M1** [a)]
t_{max} (min)			
1 mg/kg (IV)	5.0	5.0	15.0
10 mg/kg (PO)	30.0	60.0	60.0
30 mg/kg (PO)	60.0	60.0	60.0
100 mg/kg (PO)	120.0	60.0	60.0
150 mg/kg (PO)	120.0	120.0	60.0
C_{max} (ng/mL)			
1 mg/kg (IV)	555	124	151
10 mg/kg (PO)	178	102	201
30 mg/kg (PO)	353	340	949
100 mg/kg (PO)	2081	467	1192
150 mg/kg (PO)	2662	560	1238
AUC_{last} (ng·hr/mL)			
1 mg/kg (IV)	236	83	116
10 mg/kg (PO)	371	187	522
30 mg/kg (PO)	826	894	2443
100 mg/kg (PO)	12609	2435	6226
150 mg/kg (PO)	18057	3946	7722

2.6.5.3.4 Bioavailability of Belumosudil Following Intravenous and Oral Administration in Male Sprague-Dawley Rats（続き）

PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [a]	**M1** [a]
$t_{1/2}$ (min)			
1 mg/kg (IV)	23.0	29.0	30.0
V_z (L/kg)			
1 mg/kg (IV)	2.3	7.8	5.8
CL (mL/min/kg)			
1 mg/kg (IV)	69.0	134	189
Metabolite Ratio [b]			
1 mg/kg (IV)	NA	0.35	0.49
10 mg/kg (PO)	NA	0.50	1.41
30 mg/kg (PO)	NA	1.08	2.96
100 mg/kg (PO)	NA	0.19	0.49
150 mg/kg (PO)	NA	0.22	0.43
%F			
10 mg/kg (PO)	16%	NA	NA
30 mg/kg (PO)	12%	NA	NA
100 mg/kg (PO)	53%	NA	NA
150 mg/kg (PO)	51%	NA	NA

a) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.

b) Metabolite Ratio = metabolite AUC_{last} / belumosudil AUC_{last}

DMSO = dimethyl sulfoxide, F = female, IV = intravenous, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, PEG = polyethylene glycol, PO = oral, %F = bioavailability

2.6.5.3.5 Respiratory Safety Assessment of Single Dose Belumosudil in Sprague-Dawley Rats

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.1.3-04
試験番号：[redacted]-602030

Test Article: Belumosudil						
Study No:	[redacted]-602030 (GLP)					
Species:	Sprague-Dawley Rats					
Sex (M/F)/Number of animals:	18M/18F (Toxicokinetic analysis) (6M/6F per dose group)					
Feeding Conditions:	Fasted					
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose					
Method of Administration:	PO					
Dose (mg/kg):	50, 175, 350					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma					
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2					
Assay:	LC-MS/MS					
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a)]		**M1** [a)]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
50 mg/kg	2	2	2	4	2	4
175 mg/kg	2	2	2	24	4	24
350 mg/kg	2	2	2	4	2	4
C_{max} (ng/mL)						
50 mg/kg	1283	3810	375	154	695	295
175 mg/kg	3557	6411	610	298	905	469
350 mg/kg	6354	7492	1026	294	1536	553
AUC_{last} (ng·hr/mL) [b)]						
50 mg/kg	11468 [d)]	19530	3182 [d)]	1028	6222 [d)]	1834
175 mg/kg	18661	65323	4415	4995	7694	7907
350 mg/kg	29110	79490	6853	5727	11229	9169

2.6.5.3.5 Respiratory Safety Assessment of Single Dose Belumosudil in Sprague-Dawley Rats（続き）

PK parameters:	Belumosudil		M2 [a]		M1 [a]	
	M	F	M	F	M	F
Metabolite Ratio [c]						
50 mg/kg	NA	NA	0.28	0.05	0.54	0.09
175 mg/kg	NA	NA	0.24	0.08	0.41	0.12
350 mg/kg	NA	NA	0.24	0.07	0.39	0.12

a) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.
b) AUC_{last} = $AUC_{0\text{-}24hr}$ for all groups
c) Metabolite Ratio = metabolite AUC_{last}/belumosudil AUC_{last}
d) The $AUC_{0\text{-}tlast}$ for males receiving 50 mg/kg was 5737, 2009, and 4052 for belumosudil, M2, and M1, respectively, when excluding the single measurable sample at 24 hours post-dosing.
F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography tandem mass spectrometry, NA = not applicable, PO = oral

2.6.5.3.6 Respiratory Safety Assessment of Single Dose Belumosudil in Sprague-Dawley Rats

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.1.3-05
試験番号：8289751

Test Article: Belumosudil						
Study No:	8289751 (GLP)					
Species:	Sprague-Dawley Rats					
Sex (M/F)/Number of animals:	27M/27F (Toxicokinetic analysis) (9M/9F per dose group)					
Feeding Conditions:	Fed					
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose					
Method of Administration, Dose (mg/kg):	PO, 50, 175, 350					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma					
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2					
Assay:	LC-MS/MS					
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a]		**M1** [a]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
50 mg/kg	6.00	6.00	4.00	24.0	4.00	24.0
175 mg/kg	16.0	2.00	24.0	24.0	24.0	24.0
350 mg/kg	6.00	2.00	24.0	24.0	24.0	24.0
C_{max} (ng/mL)						
50 mg/kg	2000	3390	543	183	804	287
175 mg/kg	3060	6450	746	416	933	487
350 mg/kg	3940	6570	839	722	1230	1100
AUC_{last} (ng·hr/mL) [b]						
50 mg/kg	20300	60500	5100	3270	8400	5360
175 mg/kg	55100	86400	12300	5050	17400	6650
350 mg/kg	75300	115000	14500	8150	22400	10800
Metabolite Ratio [c]						
50 mg/kg	NA	NA	0.251	0.0541	0.413	0.0886
175 mg/kg	NA	NA	0.224	0.0585	0.315	0.0770
350 mg/kg	NA	NA	0.193	0.0706	0.298	0.0939

a) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.
b) AUC_{last} = $AUC_{0\text{-}24hr}$ for all groups
c) Metabolite Ratio = metabolite AUC_{last}/ belumosudil AUC_{last}.
F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, PO = oral

2.6.5.3.7 Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.3.2-01
試験番号：AB44FM.125.BTL

Test Article: Belumosudil						
Study No:	AB44FM.125.BTL (GLP)					
Species:	Sprague-Dawley Rats					
Sex (M/F)/Number of animals:	18M/18F (Toxicokinetic analysis) (3M/3F per dose group)					
Feeding Conditions:	Fasted					
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose					
Method of Administration:	PO					
Dose (mg/kg):	500, 1000, 2000					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma					
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2					
Assay:	LC-MS/MS					
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a]		**M1** [a]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
500 mg/kg	24	24	24	24	24	24
1000 mg/kg	4	24	24	24	24	24
2000 mg/kg	4	24	24	24	24	24
C_{max} (ng/mL)						
500 mg/kg	8537	9407	2220	1283	4240	2370
1000 mg/kg	12867	11133	1997	1807	3327	4083
2000 mg/kg	12403	11120	2293	1487	4450	2943
C_{max}/Dose ((ng/mL)/(mg/kg))						
500 mg/kg	17.1	18.8	4.4	2.6	8.5	4.7
1000 mg/kg	12.9	11.1	2.0	1.8	3.3	4.1
2000 mg/kg	6.2	5.6	1.1	0.74	2.2	1.5
AUC_{last} (ng·hr/mL) [b]						
500 mg/kg	161977	204268	39574	19208	65652	36150
1000 mg/kg	141983	195740	34077	20028	57520	43744
2000 mg/kg	174789	181366	41422	18420	71895	35583

2.6.5.3.7 Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test（続き）

PK parameters:	Belumosudil		M2 [a]		M1 [a]	
	M	F	M	F	M	F
AUC_{last}/Dose ((ng·hr/mL)/(mg/kg)) [b]						
500 mg/kg	324	409	79.1	38.4	131.3	72.3
1000 mg/kg	142	196	34.1	20.0	57.5	43.7
2000 mg/kg	87.4	90.7	20.7	9.2	35.9	17.8
Metabolite Ratio [c]						
500 mg/kg	NA	NA	0.24	0.09	0.41	0.18
1000 mg/kg	NA	NA	0.24	0.10	0.41	0.22
2000 mg/kg	NA	NA	0.24	0.10	0.41	0.20

a) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.

b) AUC_{last} = $AUC_{0\text{-}24hr}$ for all groups

c) Metabolite Ratio = metabolite AUC_{last} / belumosudil AUC_{last}

F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, PO = oral

2.6.5.3.8 Single Oral Dose of Belumosudil to Male and Female Sprague-Dawley Rats

被験物質：[^{14}C]ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.2-05
試験番号：KDM/03

Test Article: [^{14}C]Belumosudil		
Study No:	KDM/03 (non-GLP)	
Species:	Sprague-Dawley Rat	
Sex (M/F)/Number of animals:	4M/4F	
Feeding Conditions:	Fed	
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose	
Method of Administration:	PO	
Dose free base (mg/kg):	150	
Radioactivity (MBq/kg):	3.7	
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma	
Analyte:	[^{14}C]Belumosudil	
Assay:	LC-MS/MS	
PK parameters:	**M**	**F**
t_{max} (hr)	8.00	24.0
C_{max} (µg equivalents/g)	9.59	8.94
AUC_{0-t} (µg equivalents/g)	243	237
AUC_{inf} (µg equivalents/g)	249	239
$t_{1/2}$ (hr)	7.26	4.94

F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, PO = oral

2.6.5.3.9 Cardiovascular Safety Assessment of Single Dose Belumosudil in Beagle Dogs

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.1.3-03
試験番号：[redacted]-602029

Test Article: Belumosudil						
Study No:	[redacted]-602029 (GLP)					
Species:	Beagle Dogs					
Sex (M/F)/Number of animals:	12M/12F (Toxicokinetic analysis) (4M/4F per dose group)					
Feeding Conditions:	Fasted					
Vehicle/Formulation:	Gelatin capsules					
Method of Administration, Dose (mg/kg):	PO					
Dose (mg/kg):	25, 75, 150					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma					
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2					
Assay:	LC-MS/MS					
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a)]		**M1** [a)]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
25 mg/kg	2.7	3.0	6.0	3.5	4.0	3.3
75 mg/kg	4.0	6.3	7.0	6.0	7.0	5.3
150 mg/kg	6.5	7.0	8.7	9.0	8.7	6.0
C_{max} (ng/mL)						
25 mg/kg	392	914	36.8	67.6	27.3	91.0
75 mg/kg	1688	2717	158	161	269	386
150 mg/kg	2019	4224	222	281	417	573
C_{max}/Dose ((ng/mL)/(mg/kg))						
25 mg/kg	15.7	36.6	1.47	2.70	1.09	3.64
75 mg/kg	22.5	36.2	2.11	2.14	3.59	5.15
150 mg/kg	13.5	28.2	1.48	1.87	2.78	3.82

2.6.5.3.9 Cardiovascular Safety Assessment of Single Dose Belumosudil in Beagle Dogs（続き）

PK parameters:	Belumosudil		M2 [a]		M1 [a]	
	M	F	M	F	M	F
AUC_{last} (ng·hr/mL)						
25 mg/kg	1954	3156	154	227	131	296
75 mg/kg	12417	15870	1228	1109	1821	2389
150 mg/kg	20270	40294	2264	3127	3720	5509
AUC_{last}/Dose ((ng·hr/mL)/(mg/kg))						
25 mg/kg	78.2	126	6.17	9.09	5.23	11.8
75 mg/kg	166	212	16.4	14.8	24.3	31.8
150 mg/kg	135	269	15.1	20.8	24.8	36.7
$t_{1/2}$ (hr)						
25 mg/kg	1.0	0.9	NC	1.6	NC	1.3
75 mg/kg	1.5	2.4	2.2	NC	1.6	2.1
150 mg/kg	2.3	2.8	2.0	2.0	2.0	1.5
Metabolite Ratio [b]						
25 mg/kg	NA	NA	0.03	0.07	0.02	0.09
75 mg/kg	NA	NA	0.06	0.06	0.11	0.10
150 mg/kg	NA	NA	0.08	0.09	0.15	0.12

a) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.

b) Metabolite ratios are based on AUC_{last}

F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated if there were fewer than 3 measurable time points at or after C_{max}, PO = oral

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

2.6.5.4.1 7-Day Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study in Male C57BL/6 Mice

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.2-06
試験番号：SLx-PK-239

Test Article: Belumosudil			
Study No:	SLx-PK-239		
Species:	C57BL/6 Mice		
Sex (M/F)/Number of animals:	23M (3-4M per time point)		
Feeding Conditions:	Fasted (prior to acute portion)		
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose		
Method of Administration:	PO		
Dose (mg/kg):	60 (once daily for 7 days)		
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma		
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2		
Assay:	LC-MS/MS		
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [a)]	**M1** [a)]
t_{max} (min)	60.0	60.0	60.0
C_{max} (ng/mL)	2918	1680	1287
AUC_{last} (ng·hr/mL)	15014	5264	3747
Metabolite Ratio [b)]	NA	0.35	0.25

a) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.
b) Metabolite Ratio = metabolite AUC_{last}/ belumosudil AUC_{last}
F = female, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, PO = oral

2.6.5.4.2 28-Day Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study with Belumosudil in Sprague-Dawley Rats

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.2-01
試験番号：1173-028

Test Article: Belumosudil						
Study No:	1173-028 (GLP)					
Species:	Sprague-Dawley Rat					
Sex (M/F)/Number of animals:	36M/36F (Toxicokinetic analysis), (12M/12F per dose group)					
Feeding Conditions:	Fed					
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose					
Method of Administration:	PO					
Dose (mg/kg):	50, 150, 375 (once daily for 28 days)					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma					
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2					
Assay:	LC-MS/MS					
Day 1						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a)]		**M1** [a)]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
50 mg/kg	8.0	2.0	8.0	8.0	8.0	8.0
150 mg/kg	4.0	1.0	4.0	8.0	4.0	16.0
375 mg/kg	2.0	4.0	2.0	24.0	2.0	24.0
C_{max} (ng/mL)						
50 mg/kg	1590	3900	567	293	1070	642
150 mg/kg	3970	6540	968	260	1560	594
375 mg/kg	3920	7870	908	465	1750	1010
C_{max}/Dose ((ng/mL)/(mg/kg))						
50 mg/kg	31.9	78.1	11.3	5.86	21.4	12.8
150 mg/kg	26.5	43.6	6.45	1.73	10.4	3.96
375 mg/kg	10.5	21.0	2.42	1.24	4.66	2.69
AUC_{last} (ng·hr/mL)						
50 mg/kg	12700	39300	5430	3590	9930	6220
150 mg/kg	38600	65700	11100	4320	20000	8890
375 mg/kg	51200	90600	15800	8920	29100	16700

2.6.5.4.2 28-Day Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study with Belumosudil in Sprague-Dawley Rats（続き）

Day 1						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2 [a)]**		**M1 [a)]**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
AUC_{last}/Dose ((ng·hr/mL)/(mg/kg))						
50 mg/kg	254	786	109	71.7	199	124
150 mg/kg	257	438	74.2	28.8	133	59.3
375 mg/kg	136	242	42.2	23.8	77.7	44.4
Metabolite Ratio [b)]						
50 mg/kg	NA	NA	0.43	0.09	0.78	0.16
150 mg/kg	NA	NA	0.29	0.07	0.52	0.14
375 mg/kg	NA	NA	0.31	0.10	0.57	0.18
Day 28						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2 [a)]**		**M1 [a)]**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
50 mg/kg	6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
150 mg/kg	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
375 mg/kg	6.0	4.0	8.0	2.0	8.0	8.0
C_{max} (ng/mL)						
50 mg/kg	1950	4010	512	276	975	554
150 mg/kg	5750	9640	1140	758	1970	1480
375 mg/kg	13900	23000	1350	1210	2850	2820
C_{max}/Dose ((ng/mL)/(mg/kg))						
50 mg/kg	39.0	80.2	10.2	5.51	19.5	11.1
150 mg/kg	38.3	64.3	7.58	5.06	13.1	9.89
375 mg/kg	37.0	61.2	3.60	3.23	7.60	7.53
AUC_{last} (ng·hr/mL)						
50 mg/kg	14400	40400	4350	3290	8140	6520
150 mg/kg	68500	98000	11500	7950	20800	17500
375 mg/kg	150000	369000	18000	24100	34200	46400

2.6.5.4.2 28-Day Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study with Belumosudil in Sprague-Dawley Rats（続き）

Day 28						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2 [a)]**		**M1 [a)]**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
AUC_{last}/Dose ((ng·hr/mL)/(mg/kg))						
50 mg/kg	288	808	87.0	65.8	163	130
150 mg/kg	457	653	76.9	53.0	139	116
375 mg/kg	400	985	48.0	64.3	91.2	124
Accumulation Ratio [c)]						
50 mg/kg	1.13	1.03	0.80	0.92	0.82	1.05
150 mg/kg	1.77	1.49	1.04	1.84	1.04	1.97
375 mg/kg	2.93	4.07	1.14	2.70	1.18	2.78
Metabolite Ratio [b)]						
50 mg/kg	NA	NA	0.30	0.08	0.57	0.16
150 mg/kg	NA	NA	0.17	0.08	0.30	0.18
375 mg/kg	NA	NA	0.12	0.07	0.23	0.13

a) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.
b) Metabolite Ratio = metabolite AUC_{last}/ belumosudil AUC_{last}
c) Accumulation Ratio = AUC_{last} on Day 28/AUC_{last} on Day 1
F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M= male, NA = not applicable, PO = oral

2.6.5.4.3 Combination Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Sprague-Dawley Rats

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.5.1-01
試験番号： 2420-008

Test Article: Belumosudil						
Study No:	2420-008 (GLP)					
Species:	Sprague-Dawley Rat					
Sex (M/F)/Number of animals:	30M/30F (Toxicokinetic analysis) (10M/10F per dose group)					
Feeding Conditions:	Fed					
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose					
Method of Administration:	PO					
Dose (mg/kg):	50, 150, 275 (dosed once daily for 70 and 14 days for M and F, respectively)					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma					
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2					
Assay:	LC-MS/MS					
Day 1						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a)]		**M1** [a)]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
50 mg/kg	8.00	2.00	8.00	8.00	8.00	8.00
150 mg/kg	8.00	1.00	24.0	12.0	24.0	24.0
275 mg/kg	24.0	2.00	24.0	24.0	24.0	24.0
C_{max} (ng/mL)						
50 mg/kg	2170	4540	501	135	934	369
150 mg/kg	5370	5670	686	398	1420	1050
275 mg/kg	7200	7050	1680	925	2820	2020
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)						
50 mg/kg	20100	49200	5440	2100	10500	5000
150 mg/kg	81600	95700	13600	6860	25600	16100
275 mg/kg	96400	122000	21500	11500	35600	24900
$t_{1/2}$ (hr)						
50 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC
150 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC
275 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC

2.6.5.4.3 Combination Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Sprague-Dawley Rats（続き）

Day 1						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2 [a)]**		**M1 [a)]**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Metabolite Ratio [b)]						
50 mg/kg	NA	NA	0.270	0.0429	0.520	0.102
150 mg/kg	NA	NA	0.166	0.0716	0.314	0.168
275 mg/kg	NA	NA	0.223	0.0946	0.369	0.204
	Day 14 (F)			**Day 70 (M)**		
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2 [a)]**	**M1 [a)]**	**Belumosudil**	**M2 [a)]**	**M1 [a)]**
t_{max} (hr)						
50 mg/kg	2.00	2.00	2.00	8.00	8.00	8.00
150 mg/kg	2.00	8.00	8.00	4.00	8.00	4.00
275 mg/kg	4.00	2.00	8.00	8.00	8.00	8.00
C_{max} (ng/mL)						
50 mg/kg	3200	125	294	2480	410	770
150 mg/kg	9860	523	1260	10100	1070	1800
275 mg/kg	14900	1480	2290	20400	1900	3350
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)						
50 mg/kg	26200	1390	3690	21600	4080	8460
150 mg/kg	99500	7110	18200	70100	9520	16200
275 mg/kg	209000	20700	37000	191000	28900	44200
$t_{1/2}$ (hr)						
50 mg/kg	2.06	9.57	NC	NC	NC	NC
150 mg/kg	4.46	4.38	NC	NC	NC	NC
275 mg/kg	6.11	7.41	NC	NC	NC	NC
Accumulation Ratio [b)]						
50 mg/kg	0.533	0.657	0.738	1.07	0.750	0.807
150 mg/kg	1.04	1.04	1.13	0.859	0.701	0.634
275 mg/kg	1.72	1.80	1.49	1.98	1.35	1.24
Metabolite Ratio [b)]						
50 mg/kg	NA	0.0529	0.141	NA	0.189	0.393
150 mg/kg	NA	0.0715	0.183	NA	0.136	0.231
275 mg/kg	NA	0.0991	0.177	NA	0.151	0.232

a) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.

b) Accumulation Ratios and Metabolite Ratios are based on $AUC_{0\text{-}24hr.}$

F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated, PO = oral

2.6.5.4.4 6-Month Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study in Sprague-Dawley Rats with a 3-Month Interim Termination

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.2-02
試験番号：029502

Test Article: Belumosudil						
Study No:	029502 (GLP)					
Species:	Sprague-Dawley Rat					
Sex (M/F)/Number of animals:	54M/54F (Toxicokinetic analysis) (18M/18F per dose group)					
Feeding Conditions:	Fed					
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose					
Method of Administration:	PO					
Dose (mg/kg):	50, 125, 275 (once daily for 91 or 179 days)					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma					
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2					
Assay:	LC-MS/MS					
Day 1						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a)]		**M1** [a)]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
50 mg/kg	8.0	4.0	8.0	4.0	8.0	8.0
125 mg/kg	6.0	2.0	4.0	24.0	6.0	24.0
275 mg/kg	24.0	24.0	24.0	24.0	24.0	24.0
C_{max} (ng/mL)						
50 mg/kg	4170	3830	506	183	950	329
125 mg/kg	5030	6220	977	438	1300	670
275 mg/kg	8930	9180	1390	671	2530	1410
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)						
50 mg/kg	26700	43400	4600	2330	8130	4530
125 mg/kg	60900	81600	11600	5580	20200	9430
275 mg/kg	120000	115000	21200	7460	33200	14000
$t_{1/2}$ (hr)						
50 mg/kg	NC	3.37	NC	3.04	NC	2.91
125 mg/kg	3.72	4.87	9.25	NC	7.54	NC
275 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC

2.6.5.4.4 6-Month Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study in Sprague-Dawley Rats with a 3-Month Interim Termination（続き）

Day 1						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a]		**M1** [a]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
C_{max} Ratio (M/F)						
50 mg/kg	1.09	NA	2.77	NA	2.89	NA
125 mg/kg	0.809	NA	2.23	NA	1.94	NA
275 mg/kg	0.973	NA	2.07	NA	1.79	NA
AUC_{0-24hr} Ratio (M/F)						
50 mg/kg	0.615	NA	1.97	NA	1.79	NA
125 mg/kg	0.746	NA	2.08	NA	2.14	NA
275 mg/kg	1.04	NA	2.84	NA	2.37	NA
Metabolite Ratio [b]						
50 mg/kg	NA	NA	0.17	0.05	0.30	0.10
125 mg/kg	NA	NA	0.19	0.07	0.33	0.12
275 mg/kg	NA	NA	0.18	0.06	0.28	0.12
Day 91						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a]		**M1** [a]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
50 mg/kg	4.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
125 mg/kg	6.0	6.0	6.0	8.0	6.0	8.0
275 mg/kg	6.0	12.0	8.0	6.0	8.0	6.0
C_{max} (ng/mL)						
50 mg/kg	3640	8670	557	440	1040	911
125 mg/kg	10400	15800	1150	1090	2110	1610
275 mg/kg	13900	29600	1550	1250	2950	2930
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)						
50 mg/kg	24000	60400	5000	3430	8230	6940
125 mg/kg	68300	164000	11900	11400	20900	23100
275 mg/kg	162000	394000	19000	18400	38700	40300

2.6.5.4.4 6-Month Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study in Sprague-Dawley Rats with a 3-Month Interim Termination（続き）

Day 91						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2 [a)]**		**M1 [a)]**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
$t_{1/2}$ (hr)						
50 mg/kg	2.11	2.00	NC	NC	NC	NC
125 mg/kg	2.02	1.68	2.87	2.35	2.35	2.38
275 mg/kg	2.09	NC	NC	2.80	NC	2.50
C_{max} Ratio (M/F)						
50 mg/kg	0.420	NA	1.27	NA	1.14	NA
125 mg/kg	0.658	NA	1.06	NA	1.31	NA
275 mg/kg	0.470	NA	1.24	NA	1.01	NA
AUC_{0-24} Ratio (M/F)						
50 mg/kg	0.397	NA	1.46	NA	1.19	NA
125 mg/kg	0.416	NA	1.04	NA	0.905	NA
275 mg/kg	0.411	NA	1.03	NA	0.960	NA
C_{max} Ratio (Day 91/Day 1)						
50 mg/kg	0.873	2.26	1.10	2.40	1.09	2.77
125 mg/kg	2.07	2.54	1.18	2.49	1.62	2.40
275 mg/kg	1.56	3.22	1.12	1.86	1.17	2.08
Accumulation Ratio [c)]						
50 mg/kg	0.90	1.39	1.09	1.47	1.01	1.53
125 mg/kg	1.12	2.01	1.03	2.04	1.03	2.45
275 mg/kg	1.35	3.43	0.90	2.47	1.17	2.88
Metabolite Ratio [b)]						
50 mg/kg	NA	NA	0.21	0.06	0.34	0.11
125 mg/kg	NA	NA	0.17	0.07	0.31	0.14
275 mg/kg	NA	NA	0.12	0.05	0.24	0.10

2.6.5.4.4 6-Month Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study in Sprague-Dawley Rats with a 3-Month Interim Termination（続き）

Day 179						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2 [a)]**		**M1 [a)]**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
50 mg/kg	6.0	8.0	6.0	8.0	4.0	8.0
125 mg/kg	6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
275 mg/kg	6.0	2.0	8.0	2.0	8.0	12.0
C_{max} (ng/mL)						
50 mg/kg	2980	7390	662	412	710	865
125 mg/kg	7100	14900	1430	1090	2100	2060
275 mg/kg	10600	29500	1650	1250	2180	3090
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)						
50 mg/kg	25000	73500	5500	4390	8020	7920
125 mg/kg	61500	167000	14400	11700	19700	23000
275 mg/kg	112000	474000	17300	24400	31900	52700
$t_{1/2}$ (hr)						
50 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC
125 mg/kg	2.19	1.39	2.04	2.15	2.32	NC
275 mg/kg	1.74	6.89	2.73	NC	1.82	NC
C_{max} Ratio (M/F)						
50 mg/kg	0.403	NA	1.61	NA	0.821	NA
125 mg/kg	0.477	NA	1.31	NA	1.02	NA
275 mg/kg	0.359	NA	1.32	NA	0.706	NA
$AUC_{0\text{-}24hr}$ Ratio (M/F)						
50 mg/kg	0.340	NA	1.25	NA	1.01	NA
125 mg/kg	0.368	NA	1.23	NA	0.857	NA
275 mg/kg	0.236	NA	0.709	NA	0.605	NA
C_{max} Ratio (Day 179/Day 1)						
50 mg/kg	0.715	1.93	1.31	2.25	0.747	2.63
125 mg/kg	1.41	2.40	1.46	2.49	1.62	3.07
275 mg/kg	1.19	3.21	1.19	1.86	0.862	2.19
Accumulation Ratio [c)]						
50 mg/kg	0.94	1.70	1.20	1.88	0.99	1.75
125 mg/kg	1.01	2.05	1.24	2.10	0.98	2.44
275 mg/kg	0.93	4.12	0.82	3.27	0.96	3.76

2.6.5.4.4 6-Month Repeat-Dose Oral Gavage Toxicokinetic Study in Sprague-Dawley Rats with a 3-Month Interim Termination（続き）

PK parameters:	Belumosudil		M2 [a]		M1 [a]	
	M	F	M	F	M	F
Metabolite Ratio [b]						
50 mg/kg	NA	NA	0.22	0.06	0.32	0.11
125 mg/kg	NA	NA	0.23	0.07	0.32	0.14
275 mg/kg	NA	NA	0.15	0.05	0.28	0.11

a) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.
b) Metabolite Ratio = metabolite $AUC_{0\text{-}24h}$/ belumosudil $AUC_{0\text{-}24hr}$
c) Accumulation Ratios are based on $AUC_{0\text{-}24hr}$
F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated, PO = oral

2.6.5.4.5 Pilot Prenatal Developmental Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-01
試験番号：2420-004

Test Article: Belumosudil			
Study No:	2420-004 (non-GLP)		
Species:	Sprague-Dawley Rat		
Gestation Day (GD)/No. of Animals:	GD 6 - GD 17 (Toxicokinetic analysis) [a)] 24F (6F per dose group)		
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose		
Method of Administration:	PO		
Dose (mg/kg):	25, 50, 150, 300 (once daily from GD 6 – GD 17)		
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma		
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2		
Assay:	LC-MS/MS		
GD 6			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b)]	**M1** [b)]
t_{max} (hr)			
25 mg/kg	2.00	2.00	2.00
50 mg/kg	4.00	12.0	12.0
150 mg/kg	8.00	24.0	24.0
300 mg/kg	24.0	24.0	24.0
C_{max} (ng/mL)			
25 mg/kg	2330	136	226
50 mg/kg	3080	241	468
150 mg/kg	3790	477	907
300 mg/kg	7880	1410	2590
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)			
25 mg/kg	18500	1580	2720
50 mg/kg	33600	3730	6550
150 mg/kg	61300	7090	13700
300 mg/kg	114000	16400	27500

2.6.5.4.5 Pilot Prenatal Developmental Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats（続き）

GD 6			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b)]	**M1** [b)]
$t_{1/2}$ (hr)			
25 mg/kg	8.55	NC	NC
50 mg/kg	NC	NC	NC
150 mg/kg	NC	NC	NC
300 mg/kg	NC	NC	NC
Metabolite Ratio [c)]			
25 mg/kg	NA	0.085	0.147
50 mg/kg	NA	0.111	0.195
150 mg/kg	NA	0.116	0.224
300 mg/kg	NA	0.144	0.242
GD 17			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b)]	**M1** [b)]
t_{max} (hr)			
25 mg/kg	4.00	4.00	4.00
50 mg/kg	2.00	12.0	12.0
150 mg/kg	8.00	8.00	8.00
300 mg/kg	4.00	12.0	8.00
C_{max} (ng/mL)			
25 mg/kg	1800	127	176
50 mg/kg	5110	423	643
150 mg/kg	8790	684	1300
300 mg/kg	14700	1110	1620
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)			
25 mg/kg	20400	1480	2230
50 mg/kg	61800	6200	9680
150 mg/kg	120000	9400	19200
300 mg/kg	193000	18000	27100
$t_{1/2}$ (hr)			
25 mg/kg	2.48	NC	NC
50 mg/kg	2.16	NC	NC
150 mg/kg	NC	NC	NC
300 mg/kg	3.44	NC	NC

2.6.5.4.5 Pilot Prenatal Developmental Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats（続き）

GD 17			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b]	**M1** [b]
Accumulation Ratio [c]			
25 mg/kg	1.10	0.936	0.820
50 mg/kg	1.84	1.66	1.48
150 mg/kg	1.95	1.33	1.39
300 mg/kg	1.70	1.10	0.985
Metabolite Ratio [c]			
25 mg/kg	NA	0.0724	0.109
50 mg/kg	NA	0.100	0.157
150 mg/kg	NA	0.0785	0.160
300 mg/kg	NA	0.0930	0.140

a) Pregnant animals only

b) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.

c) Accumulation Ratios and Metabolite Ratios are based on $AUC_{0\text{-}24hr.}$

F = female, GD = gestation day, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, NA = not applicable, NC = not calculated, PO = oral

2.6.5.4.6 Prenatal Developmental Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-02
試験番号：2420-006

Test Article: Belumosudil			
Study No:	2420-006 (GLP)		
Species:	Sprague-Dawley Rat		
Gestation Day (GD)/No. of Animals:	GD 6 - GD 17 (Toxicokinetic analysis) [a)] 30F (10F per dose group)		
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose		
Method of Administration:	PO		
Dose (mg/kg):	15, 50, 150 (once daily from GD 6- GD 17)		
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma		
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2		
Assay:	LC-MS/MS		
	GD 6		
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b)]	**M1** [b)]
t_{max} (hr)			
15 mg/kg	2.00	2.00	2.00
50 mg/kg	2.00	12.0	12.0
150 mg/kg	8.00	24.0	12.0
C_{max} (ng/mL)			
15 mg/kg	1530	76.2	152
50 mg/kg	3000	191	349
150 mg/kg	5150	519	955
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)			
15 mg/kg	9750	515	978
50 mg/kg	37700	3050	5040
150 mg/kg	89400	10500	16400
$t_{1/2}$ (hr)			
15 mg/kg	5.56	NC	5.46
50 mg/kg	2.38	NC	NC
150 mg/kg	NC	NC	NC

2.6.5.4.6 Prenatal Developmental Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats（続き）

GD 6			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b]	**M1** [b]
Metabolite Ratio [c]			
15 mg/kg	NA	0.0528	0.100
50 mg/kg	NA	0.0809	0.134
150 mg/kg	NA	0.117	0.183
GD 17			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b]	**M1** [b]
t_{max} (hr)			
15 mg/kg	8.00	8.00	2.00
50 mg/kg	2.00	8.00	8.00
150 mg/kg	2.00	8.00	8.00
C_{max} (ng/mL)			
15 mg/kg	1320	55.6	93.3
50 mg/kg	4360	350	434
150 mg/kg	7800	972	1310
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)			
15 mg/kg	11900	572	948
50 mg/kg	33300	3580	4780
150 mg/kg	88300	11100	16600
$t_{1/2}$ (hr)			
15 mg/kg	NC	NC	NC
50 mg/kg	1.55	NC	NC
150 mg/kg	2.39	NC	NC
Accumulation Ratio [c]			
15 mg/kg	1.22	1.11	0.969
50 mg/kg	0.882	1.17	0.947
150 mg/kg	0.988	1.06	1.02

2.6.5.4.6 Prenatal Developmental Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats（続き）

GD 17			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b)]	**M1** [b)]
Metabolite Ratio [c)]			
15 mg/kg	NA	0.0482	0.0799
50 mg/kg	NA	0.108	0.143
150 mg/kg	NA	0.125	0.188

a) Pregnant animals only
b) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.
c) Accumulation Ratios and Metabolite Ratios are based on $AUC_{0\text{-}24hr.}$
F = female, GD = gestation day, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, NA = not applicable, NC = not calculated, PO = oral

2.6.5.4.7 Pilot Prenatal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-03
試験番号：[redacted]-005

Test Article: Belumosudil			
Study No:	[redacted]-005 (non-GLP)		
Species:	New Zealand White Rabbits		
Gestation Day (GD)/No. of Animals:	GD 6 - GD 18 (Toxicokinetic analysis) [a)] 16F (4F per dose group)		
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose		
Method of Administration:	PO		
Dose (mg/kg):	25, 50, 100, 250 (once daily from GD 6 - GD 18)		
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma		
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2		
Assay:	LC-MS/MS		
GD 6			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b)]	**M1** [b)]
t_{max} (hr)			
25 mg/kg	2.00	1.25	1.75
50 mg/kg	2.00	2.00	2.00
100 mg/kg	2.50	2.00	2.00
250 mg/kg	3.00	2.00	1.50
C_{max} (ng/mL)			
25 mg/kg	277	315	145
50 mg/kg	1240	948	431
100 mg/kg	2970	2070	1030
250 mg/kg	4870	1930	1230
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)			
25 mg/kg	1120	1110	524
50 mg/kg	5020	3370	1380
100 mg/kg	16700	10400	4880
250 mg/kg	62600	24300	14100

2.6.5.4.7 Pilot Prenatal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits（続き）

GD 6			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b)]	**M1** [b)]
$t_{1/2}$ (hr)			
25 mg/kg	1.51	NC	NC
50 mg/kg	1.52	1.49	NC
100 mg/kg	3.03	2.72	1.82
250 mg/kg	3.40	3.73	3.33
Metabolite Ratio [c)]			
25 mg/kg	NA	0.952	0.426
50 mg/kg	NA	0.684	0.275
100 mg/kg	NA	0.633	0.285
250 mg/kg	NA	0.390	0.218
GD 18			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b)]	**M1** [b)]
t_{max} (hr)			
25 mg/kg	1.29	1.29	1.29
50 mg/kg	2.00	1.00	1.00
100 mg/kg	2.29	1.03	1.28
250 mg/kg	4.00	1.63	1.07
C_{max} (ng/mL)			
25 mg/kg	207	606	270
50 mg/kg	621	1090	528
100 mg/kg	699	2120	984
250 mg/kg	2100	3080	1040
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)			
25 mg/kg	568	1220	545
50 mg/kg	2480	2990	1320
100 mg/kg	3610	8280	3010
250 mg/kg	15600	19700	4760
$t_{1/2}$ (hr)			
25 mg/kg	1.59	1.21	NC
50 mg/kg	1.76	1.23	1.36
100 mg/kg	3.37	2.66	3.28
250 mg/kg	2.86	2.86	2.05

2.6.5.4.7 Pilot Prenatal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits（続き）

GD 18			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b]	**M1** [b]
Accumulation Ratio [c]			
25 mg/kg	0.528	1.16	1.18
50 mg/kg	0.483	0.927	0.979
100 mg/kg	0.231	0.866	0.711
250 mg/kg	0.263	0.837	0.372
Metabolite Ratio [c]			
25 mg/kg	NA	2.32	0.988
50 mg/kg	NA	1.31	0.564
100 mg/kg	NA	2.50	0.938
250 mg/kg	NA	1.30	0.338

a) Pregnant animals only

b) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.

c) Accumulation Ratios and Metabolite Ratios are based on $AUC_{0\text{-}24hr.}$

F = female, GD = gestation day, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, NA = not applicable, NC = not calculated, PO = oral

2.6.5.4.8 Prenatal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-04
試験番号：2420-007

Test Article: Belumosudil			
Study No:	2420-007 (GLP)		
Species:	New Zealand White Rabbits		
Gestation Day (GD)/No. of Animals:	GD 6 - GD 18 (Toxicokinetic analysis) [a] 15F (5F per dose group)		
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose		
Method of Administration:	PO		
Dose (mg/kg):	50, 125, 225 (once daily from GD 6 to GD 18)		
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma		
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2		
Assay:	LC-MS/MS		
GD 6			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b]	**M1** [b]
t_{max} (hr)			
50 mg/kg	2.20	1.80	1.60
125 mg/kg	3.60	1.80	1.40
225 mg/kg	5.60	2.60	2.60
C_{max} (ng/mL)			
50 mg/kg	919	1170	750
125 mg/kg	3030	2180	1250
225 mg/kg	4140	3190	1790
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)			
50 mg/kg	3870	4180	2470
125 mg/kg	21400	13600	7490
225 mg/kg	55700	42400	21300
$t_{1/2}$ (hr)			
50 mg/kg	1.53	1.27	1.27
125 mg/kg	2.92	1.71	1.55
225 mg/kg	3.53	3.28	3.33

2.6.5.4.8 Prenatal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits（続き）

GD 6			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b]	**M1** [b]
Metabolite Ratio [c]			
50 mg/kg	NA	1.10	0.655
125 mg/kg	NA	0.652	0.344
225 mg/kg	NA	0.774	0.393
GD 18			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b]	**M1** [b]
t_{max} (hr)			
50 mg/kg	1.20	1.00	1.00
125 mg/kg	2.80	1.40	1.20
225 mg/kg	4.40	1.80	1.20
C_{max} (ng/mL)			
50 mg/kg	437	1120	569
125 mg/kg	1670	3610	1350
225 mg/kg	2580	4620	1680
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)			
50 mg/kg	1590	2470	1220
125 mg/kg	9290	16700	5740
225 mg/kg	23500	41500	14800
$t_{1/2}$ (hr)			
50 mg/kg	1.79	1.28	1.51
125 mg/kg	2.89	2.63	2.12
225 mg/kg	7.20	3.39	3.41
Accumulation Ratio [c]			
50 mg/kg	0.481	0.664	0.551
125 mg/kg	0.445	1.26	0.821
225 mg/kg	0.421	0.897	0.685
Metabolite Ratio [c]			
50 mg/kg	NA	1.65	0.820
125 mg/kg	NA	1.98	0.627
225 mg/kg	NA	1.64	0.515

2.6.5.4.8 Prenatal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits（続き）

GD 18			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b]	**M1** [b]
Metabolite Ratio [c]			
50 mg/kg	NA	1.65	0.820
125 mg/kg	NA	1.98	0.627
225 mg/kg	NA	1.64	0.515

a) Pregnant animals only

b) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.

c) Accumulation Ratios and Metabolite Ratios are based on $AUC_{0\text{-}24hr.}$

F = female, GD = gestation day, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, NA = not applicable, PO = oral

2.6.5.4.9 28-Day Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.2-05
試験番号：1173-029

Test Article: Belumosudil			
Study No:	1173-029 (GLP)		
Species:	Beagle Dogs		
Sex (M/F)/Number of animals:	14M/14F (Toxicokinetic analysis) (4-6 animals per dose group)		
Feeding Conditions:	Fed		
Vehicle/Formulation:	Gelatin capsules		
Method of Administration:	PO		
Dose (mg/kg):	25, 75, 200/125 (once daily for 28 days) [a)]		
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma		
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2		
Assay:	LC-MS/MS		
Day 1			
PK parameters:	**Belumosudil** **M/F [c)]**	**M2 [b)]** **M/F [c)]**	**M1 [b)]** **M/F [c)]**
t_{max} (hr)			
25 mg/kg	6.00	7.14	6.86
75 mg/kg	6.75	7.43	7.00
200/125 mg/kg	8.73	11.8	9.20
C_{max} (ng/mL)			
25 mg/kg	681	26.8	90.9
75 mg/kg	1330	63.8	187
200/125 mg/kg	1870	43.7	305
C_{max}/Dose			
25 mg/kg	27.3	1.07	3.64
75 mg/kg	17.8	0.850	2.50
200/125 mg/kg	9.34	0.218	1.53

2.6.5.4.9 28-Day Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs（続き）

Day 1			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b]	**M1** [b]
	M/F [c]	**M/F** [c]	**M/F** [c]
AUC_{last} (ng·hr/mL)			
25 mg/kg	3500	122	452
75 mg/kg	9560	438	1200
200/125 mg/kg	19400	418	2830
AUC_{last}/Dose			
25 mg/kg	140	4.89	18.1
75 mg/kg	128	5.85	16.0
200/125 mg/kg	96.9	2.09	14.1
$t_{1/2}$ (hr)			
25 mg/kg	1.60	2.77	2.66
75 mg/kg	1.32	4.83	2.58
200/125 mg/kg	5.27	4.54	2.78
Metabolite Ratio [d]			
25 mg/kg	NA	0.03	0.13
75 mg/kg	NA	0.05	0.13
200/125 mg/kg	NA	0.02	0.15
Day 28			
PK parameters:	**Belumosudil**	**M2** [b]	**M1** [b]
	M/F [c]	**M/F** [c]	**M/F** [c]
t_{max} (hr)			
25 mg/kg	3.88	4.50	4.38
75 mg/kg	4.33	8.67	6.00
200/125 mg/kg	7.33	10.8	9.00
C_{max} (ng/mL)			
25 mg/kg	2690	98.2	278
75 mg/kg	5790	129	1000
200/125 mg/kg	7330	169	1590
C_{max}/Dose ((ng/mL)/(mg/kg))			
25 mg/kg	108	3.93	11.1
75 mg/kg	77.2	1.72	13.4
200/125 mg/kg	58.7	1.35	12.7

2.6.5.4.9 28-Day Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs（続き）

PK parameters:	Day 28		
	Belumosudil	**M2** [b]	**M1** [b]
	M/F [c]	**M/F** [c]	**M/F** [c]
AUC_{last} (ng·hr/mL)			
25 mg/kg	12800	567	1350
75 mg/kg	41200	1150	8010
200/125 mg/kg	60100	1680	14100
AUC_{last}/Dose ((ng·hr/mL)/(mg/kg))			
25 mg/kg	513	22.7	54.0
75 mg/kg	549	15.3	107
200/125 mg/kg	481	13.4	113
$t_{1/2}$ (hr)			
25 mg/kg	1.15	2.20	1.90
75 mg/kg	2.02	2.24	2.69
200/125 mg/kg	2.56	4.72	2.93
Accumulation Ratio [e]			
25 mg/kg	3.66	4.65	2.99
75 mg/kg	4.31	2.63	6.68
200/125 mg/kg	NC	NC	NC
Metabolite Ratio [d]			
25 mg/kg	NA	0.04	0.11
75 mg/kg	NA	0.03	0.19
200/125 mg/kg	NA	0.03	0.23

a) Animals received 200 mg/kg/day from Day 1 through Day 14, were given a drug holiday until Day 19 due to significant weight loss and continued at 125 mg/kg/day until Day 28.
b) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.
c) There were no differences in the TK parameters, thus data is shown as combined data for male and female dogs.
d) Metabolite Ratio = metabolite AUC_{last}/ belumosudil AUC_{last}
e) Accumulation Ratios are based on AUC_{last}
F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated, PO = oral

2.6.5.4.10 3-Month Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.2-06
試験番号：029281

Test Article: Belumosudil						
Study No:	029281 (GLP)					
Species:	Beagle Dogs					
Sex (M/F)/Number of animals:	28M/28F (Toxicokinetic analysis) (8M/8F at 35 and 70 mg/kg and 12M/12F at 125 mg/kg)					
Feeding Conditions:	Fed					
Vehicle/Formulation:	Gelatin capsules					
Method of Administration:	PO					
Dose (mg/kg):	35, 70, 125 (once daily for 91 days) [a)]					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma					
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2					
Assay:	LC-MS/MS					
Day 1						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [b)]		**M1** [b)]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
35 mg/kg	5.50	4.25	6.50	6.29	5.75	6.29
70 mg/kg	7.50	7.25	8.75	8.25	8.25	8.00
125 mg/kg	8.17	6.83	11.2	11.7	9.33	8.83
C_{max} (ng/mL)						
35 mg/kg	1660	1870	88.3	75.4	156	229
70 mg/kg	2650	2950	135	132	281	495
125 mg/kg	4150	5030	171	176	566	971
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)						
35 mg/kg	11600	13100	611	625	1010	1700
70 mg/kg	25700	24200	1530	1260	2660	3840
125 mg/kg	41600	51400	2120	2220	5470	10000

2.6.5.4.10 3-Month Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs（続き）

Day 1						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [b]		**M1** [b]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
$t_{1/2}$ (hr)						
35 mg/kg	1.89	1.65	4.19	NC	4.48	NC
70 mg/kg	2.49	1.97	4.53	3.32	NC	NC
125 mg/kg	3.32	2.26	NC	NC	3.82	2.52
C_{max} Ratio (Male/Female)						
35 mg/kg	0.888	NA	1.17	NA	0.681	NA
70 mg/kg	0.898	NA	1.02	NA	0.568	NA
125 mg/kg	0.825	NA	0.972	NA	0.583	NA
AUC_{0-24} Ratio (Male/Female)						
35 mg/kg	0.885	NA	0.978	NA	0.594	NA
70 mg/kg	1.06	NA	1.21	NA	0.693	NA
125 mg/kg	0.809	NA	0.955	NA	0.547	NA
Metabolite Ratio [c]						
35 mg/kg	NA	NA	0.05	0.05	0.09	0.13
70 mg/kg	NA	NA	0.06	0.05	0.10	0.16
125 mg/kg	NA	NA	0.05	0.04	0.13	0.19
Day 91 [a]						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [b]		**M1** [b]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
30 mg/kg	4.25	5.00	5.75	5.75	4.75	5.50
70 mg/kg	3.75	8.50	6.81	10.3	6.25	9.75
125 mg/kg	TE	TE	TE	TE	TE	TE
C_{max} (ng/mL)						
30 mg/kg	4910	4620	151	150	445	430
70 mg/kg	6170	7250	149	175	761	1210
125 mg/kg	TE	TE	TE	TE	TE	TE

2.6.5.4.10 3-Month Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs（続き）

Day 91 [a]						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [b]		**M1** [b]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)						
30 mg/kg	25200	23300	979	969	2290	2360
70 mg/kg	44800	50100	1610	1590	6050	8840
125 mg/kg	TE	TE	TE	TE	TE	TE
$t_{1/2}$ (hr)						
30 mg/kg	1.10	1.15	NC	2.16	NC	1.32
70 mg/kg	3.11	1.50	NC	2.89	1.78	1.72
125 mg/kg	TE	TE	TE	TE	TE	TE
C_{max} Ratio (Male/Female)						
30 mg/kg	1.06	NA	1.01	NA	1.03	NA
70 mg/kg	0.851	NA	0.851	NA	0.629	NA
125 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC
$AUC_{0\text{-}24hr}$ Ratio (Male/Female)						
30 mg/kg	1.08	NA	1.01	NA	0.970	NA
70 mg/kg	0.894	NA	1.01	NA	0.684	NA
125 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC
C_{max} Ratio (Day 91/Day 1)						
30 mg/kg	2.96	2.47	1.71	1.99	2.85	1.88
70 mg/kg	2.33	2.46	1.10	1.33	2.71	2.44
125 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Accumulation Ratio [d]						
35 mg/kg	2.17	1.78	1.60	1.55	2.27	1.39
70 mg/kg	1.74	2.07	1.05	1.26	2.27	2.30
125 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC

2.6.5.4.10 3-Month Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs（続き）

PK parameters:	Belumosudil		M2 [b]		M1 [b]	
	M	F	M	F	M	F
Metabolite Ratio [c]						
35 mg/kg	NA	NA	0.04	0.04	0.09	0.10
70 mg/kg	NA	NA	0.04	0.03	0.14	0.18
125 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC

a) Due to loss of animal weight, animals for the 125 mg/kg/day dose group received the test article until Day 20 in females and Day 21 in males followed by a 28-day recovery period. Two animals were euthanized on Day 20/21 with the remainder of the group euthanized on Day 50/51 (10 females/8 males).
b) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.
c) Metabolite Ratio = metabolite AUC_{last}/ belumosudil AUC_{last}
d) Accumulation Ratios are based on $AUC_{last.}$
F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated, PO = oral, TE= terminated earlier

2.6.5.4.11 39-Week Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs with 13-Week Interim Termination

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.3.2-07
試験番号：8289750

Test Article: Belumosudil						
Study No:	8289750 (GLP)					
Species:	Beagle Dogs					
Sex (M/F)/Number of animals:	30M/30F (Toxicokinetic analysis) (8M/8F at 5 mg/kg, 10M/10F at 20 mg/kg, 12M/12F at 40 mg/kg)					
Feeding Conditions:	Fed					
Vehicle/Formulation:	Gelatin capsules					
Method of Administration:	PO					
Dose (mg/kg):	5, 20, 40 (daily for 13 or 39 weeks)					
Sample (e.g., whole blood, plasma, serum):	Plasma					
Analyte:	Belumosudil, M1 and M2					
Assay:	LC-MS/MS					
Day 1						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a), b)]		**M1** [a), b)]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
5 mg/kg	2.17	3.00	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	4.89	4.56	5.56	6.29	5.33	5.14
40 mg/kg	6.83	5.36	7.50	10.2	7.33	8.89
C_{max} (ng/mL)						
5 mg/kg	89.2	112	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	805	768	37.8	43.8	65.5	90.5
40 mg/kg	1700	858	74.7	47.1	168	121
C_{max}/Dose ((ng/mL)/(mg/kg))						
5 mg/kg	17.8	22.5	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	40.2	38.4	1.89	2.19	3.27	4.53
40 mg/kg	42.6	21.4	1.87	1.18	4.21	3.03
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)						
5 mg/kg	550	574	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	4570	5600	274	228	411	505
40 mg/kg	11600	8170	537	515	1160	1150

2.6.5.4.11 39-Week Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs with 13-Week Interim Termination（続き）

Day 1						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a), b)]		**M1** [a), b)]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
$AUC_{0\text{-}24hr}$/Dose ((ng·hr/mL)/(mg/kg))						
5 mg/kg	110	115	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	229	280	13.7	11.4	20.6	25.2
40 mg/kg	289	204	13.4	12.9	28.9	28.6
$t_{1/2}$ (hr)						
5 mg/kg	NC	0.874	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	0.932	1.37	NC	NC	NC	NC
40 mg/kg	1.33	1.25	NC	NC	NC	NC
Metabolite Ratio [c)]						
5 mg/kg	NA	NA	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	NA	NA	0.06	0.04	0.09	0.09
40 mg/kg	NA	NA	0.05	0.06	0.10	0.14
Week 13						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a)]		**M1** [a)]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
5 mg/kg	3.50	2.40	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	4.00	4.22	4.67	4.89	4.33	4.89
40 mg/kg	3.63	3.05	4.89	4.50	4.67	4.00
C_{max} (ng/mL)						
5 mg/kg	120	178	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	1910	2300	88.9	97.6	114	210
40 mg/kg	2120	1440	144	82.4	186	226
C_{max}/Dose ((ng/mL)/(mg/kg))						
5 mg/kg	24.0	35.6	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	95.4	115	4.45	4.88	5.72	10.5
40 mg/kg	52.9	35.9	3.61	2.06	4.64	5.65
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)						
5 mg/kg	537	566	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	8660	11500	607	576	704	1030
40 mg/kg	14700	9700	1080	862	1290	2790

2.6.5.4.11 39-Week Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs with 13-Week Interim Termination（続き）

Week 13						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a]		**M1** [a]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
$AUC_{0\text{-}24hr}$/Dose ((ng·hr/mL)/(mg/kg))						
5 mg/kg	107	113	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	433	576	30.3	28.8	35.2	51.3
40 mg/kg	369	242	27.0	21.5	32.1	69.8
$t_{1/2}$ (hr)						
5 mg/kg	NC	NC	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	1.03	1.08	1.74	1.55	NC	NC
40 mg/kg	1.16	1.26	2.25	NC	1.50	1.72 [e]
Accumulation Ratio [d]						
5 mg/kg	0.98	0.99	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	1.90	2.05	2.22	2.53	1.71	2.04
40 mg/kg	1.27	1.19	2.01	1.67	1.11	2.43
Metabolite Ratio [c]						
5 mg/kg	NA	NA	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	NA	NA	0.07	0.05	0.08	0.09
40 mg/kg	NA	NA	0.07	0.09	0.09	0.29
Week 39						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a, b]		**M1** [a, b]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (hr)						
5 mg/kg	4.00	3.33	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	4.33	3.75	4.80	5.60	4.80	4.80
40 mg/kg	4.00	3.58	5.00	6.60	6.00	5.00
C_{max} (ng/mL)						
5 mg/kg	386 [e]	249	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	854	1480	61.9	89.8	54.7	153
40 mg/kg	2060	3220	141	175	239	379
C_{max}/Dose ((ng/mL)/(mg/kg))						
5 mg/kg	77.2 [e]	49.7	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	42.7	74.0	3.10	4.49	2.74	7.65
40 mg/kg	51.5	80.6	3.52	4.37	5.97	9.49

2.6.5.4.11 39-Week Repeat-Dose Oral Capsule Toxicokinetic Study in Beagle Dogs with 13-Week Interim Termination（続き）

Week 39						
PK parameters:	**Belumosudil**		**M2** [a), b)]		**M1** [a), b)]	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)						
5 mg/kg	1180	833	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	4040	8400	335	538	304	712
40 mg/kg	15500	22500	1390	1520	1430	2710
$AUC_{0\text{-}24hr}$/Dose ((ng·hr/mL)/(mg/kg))						
5 mg/kg	237 [e)]	167	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	202	420	16.7	26.9	15.2	35.6
40 mg/kg	388	563	34.7	37.9	35.8	67.6
$t_{1/2}$ (hr)						
5 mg/kg	NA	NA	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	1.02 [e)]	1.13	NC	2.33	NC	NC
40 mg/kg	1.06	1.39	2.10	NC	NC	1.27 [e)]
Accumulation Ratio [d)]						
5 mg/kg	2.15	1.45	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	0.88	1.50	1.22	2.36	0.74	1.41
40 mg/kg	1.34	2.75	2.59	2.95	1.23	2.36
Metabolite Ratio [c)]						
5 mg/kg	NA	NA	NC	NC	NC	NC
20 mg/kg	NA	NA	0.08	0.06	0.08	0.08
40 mg/kg	NA	NA	0.09	0.07	0.09	0.12

a) No toxicokinetic parameters were reported for M1 and M2 at the 5 mg/kg/day dose level as the majority of concentrations were below the limit of quantification.
b) M2 and M1 are measured in plasma after administration of belumosudil.
c) Metabolite Ratio = metabolite AUC_{last}/ belumosudil AUC_{last}
d) Accumulation Ratios are based on $AUC_{last.}$
e) Value is not a mean (n =1) and is presented for informational purposes only.
F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated, PO = oral

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1 Tissue Distribution Pattern Following a Single Oral Administration of [^{14}C]Belumosudil to Male Rats

被験物質：[^{14}C]ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.3-01
試験番号：KDM/01

Test Article: [^{14}C]Belumosudil					
Study No.	KDM/01 (GLP)				
Species, Sex (M/F)/Number of animals:	Sprague-Dawley Rat, 5M				
Feeding Conditions:	Fed				
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose				
Method of Administration:	PO				
Dose (free base mg/kg):	150 (3.7 MBq/kg)				
Specific Activity:	4.03 MBq/mg				
Tissues/Organs	**Concentration (µg equivalents/g)**				
	1 hr	**6 hr**	**24 hr**	**72 hr**	**120 hr**
Adrenal gland	47.5	30.2	10.9	0.888	BLQ
Aorta	13.2	14.2	5.29	BLQ	BLQ
Bone	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Bone marrow	8.69	5.58	1.34	BLQ	BLQ
Brain	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Caecum contents	5.48	687	414	0.974	BLQ
Caecum mucosa	9.92	67.8	23.5	BLQ	BLQ
Choroid plexus	6.71	4.41	1.52	BLQ	BLQ
Epididymis	3.73	3.94	0.958	BLQ	BLQ
Ex-orbital lachrymal gland	12.9	8.45	1.62	BLQ	BLQ
Fat : Brown	9.73	7.26	2.02	BLQ	BLQ
Fat: White	2.55	2.12	0.782	BLQ	BLQ
Fur	BLQ	BLQ	BLQ	21.1	23.9
Gastric mucosa	69.5	20.5	3.07	BLQ	BLQ
Harderian gland	8.45	10.5	2.13	BLQ	BLQ
Heart blood	7.49	4.77	1.68	BLQ	BLQ
Kidney: Cortex	32.9	19.2	9.99	1.31	BLQ
Kidney: Medulla	15.9	7.27	2.79	BLQ	BLQ
Large intestine contents	3.00	3094 [a)]	508	1.25	BLQ

2.6.5.5.1 Tissue Distribution Pattern Following a Single Oral Administration of [^{14}C]-Belumosudil to Male Rats（続き）

Tissues/Organs	**Concentration (µg equivalents/g)**				
	1 hr	**6 hr**	**24 hr**	**72 hr**	**120 hr**
Large intestine mucosa	9.47	51.1	30.6	BLQ	BLQ
Lens	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Liver	58.1	35.9	22.8	3.57	1.39
Lung	9.67	6.95	2.58	BLQ	BLQ
Lymph node	10.4	8.05	1.65	BLQ	BLQ
Myocardium	13.4	7.51	1.65	BLQ	BLQ
Pancreas	20.1	13.1	2.55	BLQ	BLQ
Pineal body	NS	7.85	2.01	BLQ	BLQ
Pituitary gland	11.6	8.73	1.13	BLQ	BLQ
Prostate gland	4.07	3.11	1.11	BLQ	BLQ
Salivary gland	17.2	11.1	2.51	BLQ	BLQ
Sciatic nerve	0.765	2.88	0.868	BLQ	BLQ
Skeletal muscle	6.22	4.41	0.885	BLQ	BLQ
Skin: Non-pigmented	6.00	6.52	3.17	BLQ	BLQ
Small intestine contents	7435 [a)]	392	476	BLQ	BLQ
Small intestine mucosa	361	335	47.3	BLQ	BLQ
Spinal cord	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Spinal nerve	12.2	14.8	5.38	BLQ	BLQ
Spleen	12.7	7.29	1.75	BLQ	BLQ
Stomach contents	4553 [a)]	3129 [a)]	921	BLQ	BLQ
Testis	0.889	2.54	0.818	BLQ	BLQ
Thymus	6.18	5.88	1.17	BLQ	BLQ
Thyroid gland	15.2	8.73	3.00	BLQ	BLQ
Urinary bladder: Contents	4.04	NS	2.65	BLQ	BLQ
Urinary bladder: Wall	10.7	NS	2.25	BLQ	BLQ
Uveal tract	6.52	3.51	1.05	BLQ	BLQ

a) Above limit of quantification (>1052 µg equivalents/g)

Items in **Bold** are tissues with notable distribution.

BLQ = below limit of quantification (<0.612 µg equivalents/g), GLP = Good Laboratory Practice, M = male, NS = no sample - tissue not sectioned, PO = oral

2.6.5.5.2 Distribution of [^{14}C]Belumosudil in Male/Female Albino and Partially Pigmented Rats

被験物質：[^{14}C]ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.2-05
試験番号：KDM/03

Test Article: [^{14}C]Belumosudil							
Study No.	KDM/03 (non-GLP)						
Species:	Sprague-Dawley Rat / Lister Hooded						
Sex (M/F)/Number of animals:	5M/5F, (5M/5F)						
Feeding Conditions:	Fed						
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose						
Method of Administration:	PO						
Dose (free base mg/kg):	150 (3.70 MBq/kg)						
Specific Activity:	2.18 GBq/mmol						
	Concentration (µg equivalents/g)						
Tissues/Organs	**1 hr**	**8 hr**	**24 hr**	**48 hr**	**120 hr**	**168 hr**	**336 hr**
Male							
Adrenal gland	51.9	49.6 (37.8)	11.4 (11.1)	1.32 (1.02)	0.664	(ND)	(ND)
Blood	4.64	1.77 (2.94)	0.642 (0.880)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Bone marrow	6.24	4.23 (6.21)	ND (0.876)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Brain	BLQ	ND (BLQ)	ND (BLQ)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Eye: uveal tract	1.74	ND (142)	ND (201)	ND (100)	ND	(68.0)	(58.3)
Kidney: whole	23.0	13.2 (15.0)	5.51 (5.54)	0.993 (0.885)	BLQ	(BLQ)	(BLQ)
Liver	63.0	29.7 (38.8)	19.5 (26.1)	5.19 (3.40)	1.48	(BLQ)	(BLQ)
Lung	8.28	5.37 (5.25)	0.993 (1.02)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Lymph node	7.58	4.58 (8.03)	0.783 (0.787)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Myocardium	9.60	4.71 (8.21)	ND (0.899)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Pancreas	13.6	11.8 (14.8)	ND (0.914)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Prostate	5.98	2.64 (6.53)	0.714 (0.670)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Skin: non-pigmented	3.01	4.00	0.882	BLQ	BLQ	NA	NA
Skin: pigmented	(NA)	(5.19)	(9.43)	(14.9)	(NA)	(ND)	(ND)
Spinal cord	BLQ	ND (BLQ)	ND (BLQ)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Spleen	8.03	6.30 (7.86)	ND (0.804)	ND (BLQ)	ND	(ND)	(ND)
Urinary bladder wall	27.3	6.19 (8.01)	1.24 (1.71)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)

2.6.5.1.2 Distribution of [^{14}C]Belumosudil in Male/Female Albino and Partially Pigmented Rats（続き）

Tissues/Organs	1 hr	8 hr	24 hr	48 hr	120 hr	168 hr	336 hr
Female							
Adrenal gland	70.0	48.1 (61.2)	58.0 (44.2)	3.83 (2.04)	2.35	(ND)	(ND)
Blood	6.55	2.66 (5.55)	7.14 (4.18)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Bone marrow	10.5	4.44 (7.38)	11.5 (5.28)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Brain	BLQ	BLQ (BLQ)	BLQ (BLQ)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Eye: uveal tract	1.63	BLQ (240)	6.61 (148)	ND (148)	ND	(101)	(78.1)
Kidney: whole	20.1	8.59 (18.0)	21.8 (15.7)	0.661 (1.06)	0.697	(BLQ)	(ND)
Liver	44.7	25.0 (43.2)	59.3 (49.7)	5.84 (5.36)	1.46	(BLQ)	(BLQ)
Lung	11.4	5.89 (8.71)	14.8 (6.50)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Lymph node	12.6	5.00 (10.6)	11.3 (7.48)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Myocardium	16.5	6.94 (13.4)	13.2 (7.29)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Ovary	11.9	9.96 (11.9)	7.86 (8.80)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Pancreas	24.9	9.72 (22.1)	24.1 (11.9)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Skin: non-pigmented	4.87	5.22	8.07	2.67	ND	NA	NA
Skin: pigmented	(NA)	(12.8)	(4.55)	(8.82)	(NA)	(ND)	(ND)
Spinal cord	BLQ	BLQ (BLQ)	BLQ (BLQ)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Spleen	13.6	7.46 (12.2)	14.0 (6.79)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)
Urinary bladder wall	8.24	NS (14.2)	11.0 (6.62)	ND (ND)	ND	(ND)	(ND)

Items in **Bold** are tissues with notable distribution.
Values not in brackets represent data for albino animals (Sprague-Dawley) whilst those in brackets represent data for partially-pigmented animals (Lister Hooded).
BLQ = below limit of quantification (<0.632 µg equivalents/g), F = female, GLP = Good Laboratory Practice, M = male, NA = not applicable, ND = not detected, NS = no sample - tissue not sectioned, PO = oral

2.6.5.6 蛋白結合

2.6.5.6.1 Pharmacokinetics: Plasma Protein Binding In Vitro

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.3-02
試験番号：ADME-KAD-200410-PPB

Test Article: Belumosudil					
Study No:	ADME-KAD-200410-PPB				
Study System:	In vitro binding of belumosudil to mouse, rat, rabbit, and dog plasma proteins was measured using the equilibrium dialysis method.				
Species	**Belumosudil Conc.**	**Bound Fraction (%)**	**Unbound Fraction (%)**	**Recovery (%)**	**Remaining (%)**
Mouse	1 µmol/L	99.6	0.383	96.2	97.7
	10 µmol/L	99.5	0.547	87.5	93.0
	100 µmol/L	99.2	0.832	90.7	100
Rat	1 µmol/L	99.6	0.364	88.6	95.6
	10 µmol/L	99.6	0.397	82.6	93.3
	100 µmol/L	99.5	0.529	82.3	90.7
Rabbit	1 µmol/L	99.6	0.356	98.2	99.1
	10 µmol/L	99.6	0.373	93.3	95.5
	100 µmol/L	99.5	0.507	93.0	102
Dog	1 µmol/L	98.9	1.11	87.8	92.9
	10 µmol/L	99.1	0.852	103	112
	100 µmol/L	99.3	0.733	92.0	106

2.6.5.6.2 Pharmacokinetics: Human Plasma Protein Binding In Vitro

被験物質：ベルモスジル、[^{14}C]ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.3-02, 4.2.2.3-03
試験番号：ADME-KAD-200410-PPB, KDM/06

Test Article: Belumosudil and [^{14}C]Belumosudil					
Study No: ADME-KAD-200410-PPB, KDM/06					
Study System: Binding of belumosudil to human plasma proteins was assessed through equilibrium dialysis methods.					
Species	**Belumosudil Conc.**	**% Plasma Bound**	**% HSA Bound**	**% AGP Bound**	**Study No.**
Human [a)]	0.2-2 µg/mL	99.88	99.91	98.64	KDM/06
Human	1 µmol/L	99.8	NA	NA	ADME-KAD-200410-PPB
	10 µmol/L	99.9	NA	NA	
	100 µmol/L	100.0	NA	NA	

a) Assay using [^{14}C]Belumosudil
AGP = α_1- acid glycoprotein, HSA = human serum albumin, NA = not applicable

2.6.5.6.3 Pharmacokinetics: Plasma Protein Binding In Vitro

被験物質：M2
CTD における記載箇所：4.2.2.3-05
試験番号：[redacted]PPB

Test Article: Belumosudil					
Study No:	[redacted]PPB				
Study System:	In vitro binding of M2 to mouse, rat, rabbit, dog and human plasma proteins was measured using the equilibrium dialysis method.				
Species	**Belumosudil Conc.**	**Bound Fraction (%)**	**Unbound Fraction (%)**	**Recovery (%)**	**Remaining (%)**
Mouse	1 µmol/L	99.3	0.731	87.0	90.0
	10 µmol/L	99.2	0.784	88.3	89.5
	100 µmol/L	99.0	0.956	91.6	82.9
Rat	1 µmol/L [a)]	> 99.9	< 0.133	< 93.8	98.0
	10 µmol/L	99.9	0.0514	90.6	97.9
	100 µmol/L	99.9	0.0747	89.5	98.5
Rabbit	1 µmol/L [a)]	> 99.9	< 0.128	< 99.5	104
	10 µmol/L	99.9	0.0859	95.2	103
	100 µmol/L	99.9	0.104	93.3	93.8
Dog	1 µmol/L	97.1	2.91	81.3	93.9
	10 µmol/L	97.0	2.99	89.8	101
	100 µmol/L	96.1	3.92	83.1	94.8
Human	1 µmol/L [a)]	> 99.9	< 0.125	< 100	96.3
	10 µmol/L [a)]	> 99.99	< 0.0123	< 93.9	89.0
	100 µmol/L	99.99	0.00760	91.1	89.2

a) The free concentration was below the lower limit of quantitation

2.6.5.6.4 Pharmacokinetics: Blood/Plasma Partitioning In Vitro

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.3-04
試験番号：[redacted]Blood Partition

Test Article: Belumosudil

Study No: [redacted]Blood Partition

Study System: The blood to plasma partitioning of belumosudil was determined in mouse, rat, rabbit, dog, and human samples. Belumosudil (1 µmol/L) was incubated in plasma or whole blood from each species and incubated at 37°C for 1 hour; the blood samples were then analyzed by UPLC-MS/MS.

Species	H	$K_{WB/PL}$	$K_{RBC/PL}$
Mouse	0.53	0.91	0.84
Rat	0.38	0.92	0.78
Rabbit	0.51	1.26	1.51
Dog	0.50	0.92	0.85
Human	0.49	0.71	0.40

H = hematocrit (percent of total blood cells in whole blood sample v/v), $K_{RBC/PL}$ = red blood cell to plasma ratio, $K_{WB/PL}$ = blood to plasma ratio, UPLC-MS/MS = ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当する試験なし。

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

該当する試験なし。

2.6.5.9 薬物動態試験：in vivo における代謝

2.6.5.9.1 Chromatographic Analysis and Metabolite Identification in Sprague-Dawley Rats

被験物質：[^{14}C]ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.2-05
試験番号：KDM/03

Test Article: [^{14}C]Belumosudil	
Study Number:	KDM/03 (non-GLP)
Species:	Sprague-Dawley Rat
Sex (M/F) / Number of Animals:	Plasma: 12M/12F (3M/3F per group), Urine/Feces: 4M/4F
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose
Method of Administration:	PO
Dose (mg/kg):	150
Radioactivity (MBq/kg):	3.7
Analyte:	[^{14}C]Belumosudil

Plasma [a)]

Component	**Approximate Retention Time (min)**	**0.5 hr**		**2 hr**		**8 hr**		**24 hr**	
		M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
P1	7.73	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.96 (0.182)	NA
P2	9.45	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.55 (0.255)	NA
P3	10.57	NA	NA	1.72 (0.137)	NA	1.42 (0.175)	NA	8.49 (0.391)	1.87 (0.152)
P4	19.40	4.36 (0.317)	NA	1.49 (0.119)	NA	2.28 (0.280)	NA	**15.2 (0.698)**	1.02 (0.083)
P5	23.99	**18.7 (1.36)**	1.00 (0.091)	**29.5 (2.36)**	1.90 (0.131)	**19.6 (2.41)**	2.52 (0.199)	**21.3 (0.980)**	**13.3 (1.08)**
P6	24.47	**11.2 (0.816)**	4.29 (0.392)	**20.7 (1.65)**	5.38 (0.372)	**15.8 (1.94)**	4.30 (0.340)	**10.8 (0.464)**	9.18 (0.745)
P7	29.73	NA	NA	NA	1.00 (0.069)	NA	NA	1.55 (0.071)	NA
P8	30.48	1.03 (0.075)	NA	NA	NA	NA	NA	1.19 (0.055)	NA

2.6.5.9.1 Chromatographic Analysis and Metabolite Identification in Sprague-Dawley Rats（続き）

Plasma [a)]									
Component	**Approximate Retention Time (min)**	**0.5 hr**		**2 hr**		**8 hr**		**24 hr**	
		M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
P9	37.51	3.91 (0.284)	NA	1.61 (0.128)	NA	NA	NA	1.54 (0.071)	1.37 (0.111)
P10	39.42	6.03 (0.438)	2.92 (0.267)	7.36 (0.587)	3.90 (0.269)	6.07 (0.747)	3.58 (0.283)	5.97 (0.275)	6.61 (0.537)
P11	52.70	**19.1 (1.39)**	6.71 (0.613)	**13.3 (1.06)**	4.24 (0.293)	**11.7 (1.44)**	4.88 (0.386)	7.52 (0.346)	9.07 (0.736)
P12	65.93	3.41 (0.248)	**13.1 (1.20)**	3.45 (0.275)	**17.8 (1.23)**	7.01 (0.862)	**16.8 (1.33)**	2.36 (0.109)	**7.54 (0.612)**
P13 (Belumosudil)	86.91	**21.1 (1.53)**	**68.3 (6.24)**	**14.3 (1.14)**	**61.5 (4.25)**	**30.7 (3.77)**	**64.2 (5.07)**	**13.5 (0.623)**	**46.9 (3.80)**
P14	89.73	NA	NA	NA	1.02 (0.070)	NA	NA	NA	NA

2.6.5.9.1 Chromatographic Analysis and Metabolite Identification in Sprague-Dawley Rats（続き）

Urine (0-48 hr) [b)]			
Component	**Approximate Retention Time (min)**	**Male**	**Female**
U1	2.58	0.01 (1.80)	NA
U2	7.41	0.03 (6.31)	0.02 (2.23)
U3	8.48	0.02 (4.20)	0.02 (2.18)
U4	9.34	0.02 (4.20)	0.02 (2.41)
U5	9.98	0.01 (2.24)	0.01 (1.00)
U6	10.84	0.02 (3.24)	0.01 (1.33)
U7	11.70	0.01 (2.57)	0.01 (1.54)
U8	12.88	0.01 (2.14)	NA
U9	13.85	0.01 (1.19)	0.01 (1.05)
U10	15.14	0.01 (1.04)	0.01 (1.00)
U11	16.96	0.01 (1.27)	NA
U12	18.03	0.01 (1.08)	NA
U13	19.21	0.12 (21.8)	0.08 (10.34)
U14	20.72	0.01 (2.07)	0.02 (3.08)
U15	22.75	NA	0.09 (11.70)
U16	23.40	NA	0.05 (7.01)
U17	24.15	0.09 (16.6)	0.26 (33.3)
U18	24.69	0.03 (5.07)	NA
U19	27.48	NA	0.01 (1.04)
U20	29.30	0.01 (1.09)	0.02 (2.70)
U21	29.95	0.03 (4.79)	0.03 (4.00)
U22	30.91	0.05 (8.73)	NA
U23	39.39	0.02 (3.19)	0.07 (8.47)
U24	47.12	0.01 (2.58)	0.01 (1.02)

2.6.5.9.1 Chromatographic Analysis and Metabolite Identification in Sprague-Dawley Rats（続き）

Feces (0-72 hr) [c]			
Component	**Approximate Retention Time (min)**	**Male**	**Female**
F1	22.54	3.01 (3.25)	2.57 (2.88)
F2	23.18	1.11 (1.20)	NA
F3	23.72	**11.3 (12.2)**	9.76 (10.9)
F4	24.69	1.14 (1.23)	NA
F5	28.98	NA	0.92 (1.03)
F6	36.28	1.25 (1.35)	NA
F7	39.07	6.34 (6.84)	6.94 (7.77)
F8	46.91	**19.8 (21.3)**	**10.2 (11.5)**
F9	52.27	8.88 (9.58)	5.60 (6.27)
F10	61.82	0.98 (1.06)	NA
F11 (Belumosudil)	86.62	**27.3 (29.5)**	**44.5 (49.8)**
F12	112.49	0.95 (1.02)	NA

a) Results are expressed as % sample radioactivity (µg equivalents/g). Component identifiers (P1-P14) assigned in order of elution. Radioactive component P13 co-chromatographs with belumosudil. Values in bold represent components that each account for 10% or more of total sample radioactivity.

b) Results are expressed as % administered radioactivity (% sample radioactivity).

c) Results are expressed as % administered radioactivity (% sample radioactivity). Component identifiers (F1-F12) assigned in order of elution. Radioactive component F11 co-chromatographs with belumosudil.

F = female, GLP = Good Laboratory Practice, M = male, NA = less than 1 % of sample radioactivity or less than 0.01% of administered dose, PO = oral

2.6.5.9.2 Mass Balance and Metabolite ID of Belumosudil in Humans

被験物質：[^{14}C]ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.4-01
試験番号：KDM/05

Test Article: [^{14}C]Belumosudil															
Study Number:	KDM/05 (non-GLP)														
Species:	Human														
Number of Subjects/Sex (M/F):	5M														
Feeding Condition:	Fed														
Vehicle/Formulation:	Capsule														
Method of Administration:	PO														
Dose (mg):	200														
Radioactivity (MBq):	9.8														
Analyte:	[^{14}C]Belumosudil														
Plasma															
Metabolite No.	**S001, 0–48 hr AUC**		**S002, 0–72 hr AUC**		**S003, 0–96 hr AUC**		**S004, 0–48 hr AUC**		**S005, 0–72 hr AUC**		**S001–S005, 4 hr**		**S001–S005, 8 hr**	
	RT (mins)	**%ROI (%)**	**RT (mins)**	**%ROI (%)**	**RT (mins)**	**%ROI (%)**	**RT (mins)**	**%ROI (%)**	**RT (mins)**	**%ROI (%)**	**RT (mins)**	**%ROI (%)**	**RT (mins)**	**%ROI (%)**
P1	10.50	1.46	10.50	3.77	10.50	4.21	10.50	2.23	10.50	3.96	10.50	0.65	10.29	2.84
P2	17.79	1.48	17.79	3.55	17.79	2.00	17.79	1.99	17.79	2.68	17.79	0.88	17.79	2.93
P3	**25.08**	**6.77**	**24.65**	**7.18**	**24.86**	**18.25**	**25.08**	**16.84**	**25.08**	**8.64**	**25.08**	**13.25**	**24.86**	**16.96**
P4	**31.72**	**5.69**	**31.51**	**14.95**	**31.29**	**17.83**	**31.51**	**25.72**	**31.51**	**8.94**	**31.51**	**19.70**	**31.51**	**15.37**
P5	88.09	2.78	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
P6	**90.23**	**77.72**	**89.81**	**65.84**	**89.81**	**53.82**	**89.16**	**51.10**	**89.38**	**72.37**	**89.38**	**62.04**	**89.38**	**53.63**
P7	94.31	4.12	94.09	4.71	94.09	3.89	93.45	2.12	93.88	3.43	93.66	2.89	93.45	5.48

2.6.5.9.2 Mass Balance and Metabolite ID of Belumosudil in Humans（続き）

Urine												
Metabolite No.	**S001, 0–24hr**		**S002, 0–24hr**		**S003, 0–24hr**		**S004, 0–24hr**		**S005, 0–24hr**		**S001–S005, 6hr**	
	RT (min)	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**
U1	NO	NO	7.29	1.10	7.50	2.40	7.29	4.97	NO	NO	7.50	1.73
U2	8.14	1.64	8.14	2.10	NO	NO	8.14	6.05	8.14	1.34	8.14	0.79
U3	10.50	3.02	10.50	2.76	NO	NO	10.50	5.83	10.50	5.05	10.50	2.11
U4	12.43	1.96	12.43	3.54	12.43	0.85	12.22	4.98	12.22	4.74	12.22	2.04
U5	17.58	13.36	17.58	7.51	17.58	2.78	17.58	7.76	17.58	7.64	17.58	7.98
U6	19.50	3.44	19.50	2.76	19.50	2.35	NO	NO	19.29	2.66	19.29	3.28
U7	24.65	3.83	24.65	4.06	24.43	6.29	24.22	4.17	24.43	6.73	24.43	4.66
U8	30.86	72.75	30.65	73.44	30.65	82.18	30.22	66.24	30.22	69.31	30.22	76.11

Feces														
Metabolite No.	**S001, 24–96hr**		**S002, 0–72hr**		**S003, 0–48hr**		**S004, 24–72hr**		**S005, 0–48hr**		**S001-S005, 0–24hr**		**S001-S005, 24–48hr**	
	RT (min)	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**	**RT (min)**	**%ROI (%)**
F1	8.14	0.83	8.14	3.71	NO	NO	NO	NO	8.14	0.64	NO	NO	8.14	2.27
F2	12.00	1.07	12.00	3.78	11.57	3.50	NO	NO	11.79	2.10	11.79	2.44	11.79	2.08
F3	17.58	3.61	17.79	7.36	17.58	3.31	17.79	2.54	17.58	4.29	17.79	3.31	17.79	4.62
F4	22.51	1.89	22.51	4.45	22.51	2.40	22.51	1.23	22.29	2.89	22.51	1.61	22.72	2.61
F5	23.36	1.27	23.58	1.94	23.36	3.44	23.15	0.82	23.15	1.70	23.15	1.50	23.36	2.44
F6	**24.65**	**34.93**	**24.65**	**27.60**	**24.43**	**52.23**	**24.43**	**15.62**	**24.22**	**43.22**	**24.43**	**33.32**	**24.65**	**31.41**
F7	**42.44**	**7.33**	**41.58**	**13.47**	**41.37**	**15.23**	**41.37**	**4.00**	**41.58**	**9.55**	**41.58**	**16.64**	**42.01**	**9.55**
F8	**43.08**	**17.79**	**43.51**	**17.70**	**42.87**	**5.33**	**42.65**	**7.00**	**42.87**	**7.87**	**43.08**	**8.53**	**43.30**	**10.74**
F9	NO	NO	52.94	1.80	NO	NO	52.51	1.90	52.73	1.80	52.94	2.41	53.15	1.86
F10	**90.23**	**29.49**	**90.02**	**16.98**	**89.81**	**9.96**	**89.81**	**66.90**	**90.02**	**24.68**	**89.81**	**27.72**	**90.23**	**29.19**

Bold - Indicates components which require Met ID, i.e. components representing at least 10% of the dose in one or more sample (10% dose is equivalent to 11.83% ROI).
Components constituting less than 2% of the total sample radioactivity in all samples were not assigned a "Met Number" and are not detailed in this table.
AUC = area under the curve, NO = component not observed in the radiochromatogram for this sample (less than 2x background peak height),
ROI = region of interest (% contribution of this component to the total sample radioactivity), RT = retention time

2.6.5.10 薬物動態試験：in vitro における代謝

2.6.5.10.1 In Vitro Evaluation of Microsomal Metabolism of Belumosudil in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Liver Microsomes

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.4-02
試験番号：ADME-KAD-200420-LM

Test Article: Belumosudil							
Study No:	ADME-KAD-200420-LM (non-GLP)						
Study System:	The in vitro metabolism of 1 µmol/L belumosudil was evaluated in mouse, rat, rabbit, dog, and human liver microsomes following an incubation period of 60 minutes.						
Species	**Remaining at 60 min (%)**	**Conc. (µmol/L)**	**$t_{1/2}$ (min)**	**In vitro CL_{int} (µL/min/mg)**	**Scale-up CL_{int} (mL/min/kg)**	**Predicted hepatic CL (mL/min/kg)**	**Hepatic ER**
Mouse	0.00	1	3.11	445	1110	30.1	0.973
Rat	0.00	1	2.60	533	2331	86.7	0.963
Rabbit	15.6	1	22.9	60.6	109	36.6	0.663
Dog	18.3	1	24.7	56.1	140	25.3	0.819
Human	23.7	1	29.6	46.9	58.8	15.3	0.740
Mouse (without NADPH)	92.5	1	594	2.33	5.82	4.90	0.159
Rat (without NADPH) [a)]	99.2	1	∞	0.00	0.00	0.00	0.00
Rabbit (without NADPH)	92.3	1	565	2.45	4.39	4.07	0.0737
Dog (without NADPH)	85.8	1	330	4.20	10.5	7.83	0.253
Human (without NADPH) [a)]	102	1	∞	0.00	0.00	0.00	0.00

a) If the calculated in vitro CL_{int} was <0, or the significant difference didn't pass the T-test ($p \geq 0.05$) and the remaining percentage at 120 min ≥80%, indicated test article was stable in incubation system; report "∞" for $t_{1/2}$.
ER = extraction ratio, NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form

2.6.5.10.2 In Vitro Evaluation of Hepatocyte Metabolism of Belumosudil in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Hepatocytes

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.4-03
試験番号：ADME-KAD-200420-Hepatocytes

Test Article: Belumosudil							
Study No:	ADME-KAD-200420-Hepatocytes (non-GLP)						
Study System:	The in vitro metabolism of 1 µmol/L belumosudil was evaluated in mouse, rat, rabbit, dog, and human hepatocytes over a total incubation period of 120 minutes.						
Species	**Remaining at 120 min (%)**	**Conc. (µmol/L)**	**$t_{1/2}$ (min)**	**In vitro CL_{int} (µL/min/10^6 cells)**	**Scaled-up CL_{int} (mL/min/kg)**	**Predicted hepatic CL (mL/min/kg)**	**Hepatic ER**
Mouse	1.29	1	19.2	72.4	855	81.4	0.905
Rat	0.643	1	15.2	91.5	428	48.9	0.886
Rabbit	26.8	1	63.8	21.7	80.3	37.6	0.531
Dog	48.3	1	119	11.7	80.4	22.3	0.722
Human	21.9	1	52.5	26.4	67.2	15.8	0.764

ER = extraction ratio

2.6.5.10.3 In Vitro Metabolite Identification of Belumosudil in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Liver Microsomes

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.4-04
試験番号：ADME-KAD-200420-LM-MetID

Test Article: Belumosudil									
Study No:	ADME-KAD-200420-LM-MetID (non-GLP)								
Study System:	Belumosudil (10 µmol/L) was incubated with mouse, rat, rabbit, dog, and human liver microsomes for 0, 60 and 120 minutes. Verapamil was used as a control and incubated for 0 and 60 minutes. The remaining percentage of verapamil at 60 minutes was used to monitor the metabolic activity of liver microsomes.								
Peak No.	**R.T. (min)**	**Meas. *m/z***	**Mass shift**	**Biotransformation**	**Normalized peak area at 120 min**				
					Mouse	**Rat**	**Rabbit**	**Dog**	**Human**
1	5.40	443.14575	-10.05712	De-alkylation + Oxidation	-	-	1.20%	-	-
2	5.47	295.11865	-158.08440	De-alkylation	0.15%	0.26%	0.70%	-	-
4	5.79	296.10269	-157.10038	De-alkylation + Hydrolysis	-	-	0.42%	-	-
5	5.83	513.19708	59.99464	De-alkylation + Glucuronidation	-	-	0.53%	-	-
6	5.96	603.18219	149.98005	De-alkylation + Oxidation + Glucuronidation	-	-	0.51%	0.24%	0.18%
7	6.06	445.16119	-8.04147	De-alkylation + Oxidation + Hydrogenation	-	-	-	0.51%	-
8	6.14	603.18219	149.98005	De-alkylation + Oxidation + Glucuronidation	0.08%	0.23%	0.44%	-	-
9	6.32	446.14542	-7.05745	Hydrolysis + Oxidation + Hydrogenation	-	-	-	0.78%	-
10	6.33	530.16638	76.96367	De-alkylation + Glucuronidation	0.16%	4.65%	0.29%	0.23%	0.22%
11	6.69	485.19260	31.98983	Oxidation	-	-	0.14%	0.19%	-
13	6.99	337.16565	-116.03745	De-alkylation	1.92%	1.08%	2.19%	-	-
14	7.04	427.15076	-26.05204	De-alkylation + Oxidation	-	-	0.06%	1.11%	-
15	7.05	588.17163	134.96915	Hydrolysis + Glucuronidation	-	-	-	2.03%	0.89%
16	7.11	441.16647	-12.03639	De-alkylation + Methylation + Oxidation	0.15%	0.51%	0.15%	0.39%	-
18	7.17	323.11856 (*z*=2)	192.02700	Oxidation + Glucuronidation	0.35%	0.71%	0.72%	2.42%	4.66%
19	**7.23**	**411.15573**	**-42.04695**	**De-alkylation (M1)**	4.46%	**18.25%**	**8.95%**	**16.16%**	2.19%

2.6.5.10.3 In Vitro Metabolite Identification of Belumosudil in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Liver Microsomes（続き）

Peak No.	R.T. (min)	Meas. *m/z*	Mass shift	Biotransformation	Normalized peak area at 120 min				
					Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
21	**7.24**	**629.23438**	**176.03209**	**Glucuronidation**	**-**	**-**	1.09%	0.12%	**6.14%**
22	7.25	665.21069	212.00859	Ribose Conjugation + Phosphorylation	1.29%	1.01%	0.08%	-	-
23	7.32	645.22882	192.02700	Oxidation + Glucuronidation	0.27%	0.42%	0.38%	0.37%	-
24	7.33	428.13452	-25.06802	Hydrolysis + Oxidation	-	-	0.15%	0.43%	-
26	7.47	469.19757	15.99492	Oxidation	0.30%	-	0.95%	0.25%	0.81%
27	7.48	487.20786	34.00548	Oxidation + Hydrogenation	-	-	-	2.38%	0.09%
28	**7.52**	**412.13989**	**-41.06293**	**Hydrolysis (M2)**	0.96%	2.75%	4.59%	**16.55%**	**10.97%**
29	7.81	585.24475	132.04226	Ribose Conjugation	0.88%	0.84%	-	-	-
30	7.92	510.22405	57.02146	Glycine Conjugation	0.21%	0.20%	0.14%	0.15%	0.34%
31	8.12	487.20798	34.00548	Oxidation + Hydrogenation	-	-	-	0.23%	-
32	8.24	469.19788	15.99492	Oxidation	0.13%	-	-	3.42%	0.98%
35	***8.54***	***453.20276***	***0.00000***	***Parent Drug (Belumosudil)***	***54.20%***	***53.09%***	***66.98%***	***48.68%***	***69.12%***
36	**8.73**	**409.14023**	**-44.06260**	**De-alkylation + De-hydrogenation**	**6.66%**	**8.20%**	**6.48%**	0.65%	0.20%
39	9.26	410.12427	-43.07858	Hydrolysis + De-hydrogenation	0.53%	0.44%	1.53%	0.06%	0.07%
40	9.32	352.11899	-101.08406	De-alkylation + De-hydrogenation	0.12%	2.88%	-	0.12%	-
42	**10.19**	**451.18716**	**-2.01565**	**De-hydrogenation**	**27.00%**	4.48%	0.94%	2.53%	3.15%
44	11.35	483.17645	29.97418	Oxidation + De-hydrogenation	0.18%	-	0.39%	-	-

Metabolites >5% in bold, Parent compound in bold/italics

m/z = mass-to-charge ratio, R.T. = retention time, "-" = not observed

2.6.5.10.4 In Vitro Metabolite Identification of Belumosudil in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Hepatocytes

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.4-05
試験番号：ADME-KAD-200420-Heps-MetID

Test Article: Belumosudil	
Study No:	ADME-KAD-200420-Heps-MetID (non-GLP)
Study System:	Belumosudil (10 µmol/L) was incubated with mouse, rat, rabbit, dog, and human hepatocytes for 0, 120, and 240 minutes. Verapamil was used as a control and incubated for 0 and 240 min. The remaining percentage of verapamil at 240 minutes was used to monitor the metabolic activity of hepatocytes.

Peak No.	**R.T. (min)**	**Meas. *m/z***	**Mass shift**	**Biotransformation**	**Normalized peak area at 240 min**				
					Mouse	**Rat**	**Rabbit**	**Dog**	**Human**
3	5.51	367.62033 (z=2)	281.03177	De-alkylation + Oxidation + Glutathione Conjugation	-	-	0.37%	-	-
8	6.13	603.18121	149.98005	De-alkylation + Oxidation + Glucuronidation	0.05%	0.04%	0.45%	-	-
10	6.30	530.16547	76.96367	De-alkylation + Glucuronidation	0.11%	0.14%	0.65%	-	-
12	6.88	427.15039	-26.05204	De-alkylation + Oxidation	-	-	0.66%	-	-
13	6.95	337.16544	-116.03745	De-alkylation	0.59%	0.15%	0.34%	0.05%	0.06%
15	7.06	588.17090	134.96915	Hydrolysis + Glucuronidation	-	0.21%	-	0.09%	1.40%
17	7.15	507.10675	53.90478	De-alkylation + Oxidation + Sulfation	-	-	1.00%	-	-
18	7.15	323.11819 (z=2)	192.02700	Oxidation + Glucuronidation	-	-	-	-	0.62%
19	**7.18**	**411.15561**	**-42.04695**	**De-alkylation (M1)**	4.77%	**13.61%**	**6.66%**	**8.38%**	0.55%
20	7.19	645.22876	192.02700	Oxidation + Glucuronidation	0.83%	0.45%	0.86%	0.03%	0.15%
21	**7.23**	**629.23383**	**176.03209**	**Glucuronidation**	**-**	0.12%	1.21%	0.05%	**6.63%**
23	7.28	645.22882	192.02700	Oxidation + Glucuronidation	0.07%	0.27%	0.34%	-	-
25	7.41	434.09088	-19.11160	De-alkylation + Sulfation	0.58%	3.98%	1.29%	0.07%	0.36%
26	7.42	469.19711	15.99492	Oxidation	2.35%	0.31%	2.02%	0.06%	0.16%
27	7.46	487.20740	34.00548	Oxidation + Hydrogenation	-	-	-	0.68%	0.20%

2.6.5.10.4 In Vitro Metabolite Identification of Belumosudil in Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Hepatocytes（続き）

Peak No.	R.T. (min)	Meas. *m*/*z*	Mass shift	Biotransformation	Normalized peak area at 240 min				
					Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
28	**7.50**	**412.13937**	**-41.06293**	**Hydrolysis (M2)**	**11.42%**	**8.68%**	**33.68%**	**8.94%**	**39.06%**
29	7.77	585.24426	132.04226	Ribose Conjugation	0.43%	0.08%	-	0.03%	0.14%
30	7.93	510.22372	57.02146	Glycine Conjugation	-	0.07%	0.09%	-	0.33%
32	8.20	469.19730	15.99492	Oxidation	0.06%	0.07%	-	0.03%	0.37%
33	8.46	469.19681	15.99492	Oxidation	-	-	0.07%	0.12%	0.22%
34	8.47	549.15350	95.95173	Oxidation + Sulfation	-	-	0.19%	0.42%	0.73%
35	***8.51***	***453.20227***	***0.00000***	***Parent Drug (Belumosudil)***	***61.02%***	***67.86%***	***34.75%***	***80.28%***	***46.27%***
36	**8.69**	**409.14014**	**-44.06260**	**De-alkylation + De-hydrogenation**	1.53%	0.82%	**10.35%**	0.04%	0.15%
37	8.70	467.21808	14.01565	Methylation	0.05%	0.11%	-	0.14%	0.13%
38	9.04	431.17075 (z=2)	408.13347	De-alkylation + Condensation	-	-	1.22%	-	-
39	9.22	410.12405	-43.07858	Hydrolysis + De-hydrogenation	0.23%	0.10%	2.33%	-	0.18%
41	9.92	431.17075 (z=2)	408.13347	De-alkylation + Condensation	-	-	0.98%	-	-
42	**10.17**	**451.18686**	**-2.01565**	**De-hydrogenation**	**15.91%**	2.93%	0.13%	0.59%	2.30%
43	10.64	452.19360 (z=2)	450.18042	Condensation	-	-	0.36%	-	-

Metabolites >5% in **bold**, Parent compound in bold/italics

m/*z* = mass-to-charge ratio, R.T. = retention time, "-" = not observed

2.6.5.10.5 In Vitro Reaction Phenotyping of Belumosudil and M2 in Human Liver Microsomes and Recombinant Human CYP and UGT Enzymes

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.4-06
試験番号：XT174009

Test Article: Belumosudil and M2

Study Number: XT174009 (non-GLP)

Method:
Recombinant human CYP Enzymes: Belumosudil (1 and 10 µmol/L) and M2 (0.1 and 1 µmol/L) were incubated separately with recombinant human CYP enzymes (rCYP1A2, rCYP2B6, rCYP2C8, rCYP2C9, rCYP2C19, rCYP2D6, and rCYP3A4, 10 pmol CYP per incubation) at 37 ± 2 °C for 0 and 60 min.
Recombinant human UGT Enzymes: Belumosudil (1 µmol/L) and M2 (0.1 µmol/L) were incubated separately with recombinant human UGT enzymes (rUGT1A1, rUGT1A3, rUGT1A4, rUGT1A6, rUGT1A7, rUGT1A8, rUGT1A9, rUGT1A10, rUGT2B4, rUGT2B7, rUGT2B10, rUGT2B15, and rUGT2B17, 0.1 mg protein per incubation) at 37 ± 2 °C for 0 and 60 min.

Tabulated Results:

Test System	Incubation Time (min)	CYP/mL (pmol)	Substrate Detected (area ratio)	Substrate Loss (%)	Substrate Remaining (%)	M2 Detected (pmol)	M1 Detected (pmol)
Metabolism of Belumosudil 1 µmol/L by rCYPs [a)]							
Control Bactosomes	0	0	35.7	NA	100	ND	ND
	60		34.2	4.2	95.8	ND	ND
Reductase Bactosomes	0		36.5	NA	100	ND	ND
	60		32.8	10.1	89.9	ND	ND
CYP1A2	0	50	35.4	NA	100	ND	ND
	60		0.441	98.8	1.2	ND	ND
CYP2C8 + b_5	0		32.2	NA	100	ND	ND
	60		9.67	70.0	30.0	BLQ	83.3
CYP2D6	0		34.5	NA	100	ND	ND
	60		21.1	38.8	61.2	ND	BLQ
CYP3A4 + b_5	0		32.0	NA	100	ND	ND
	60		1.06	96.7	3.3	5.50	104
Metabolism of Belumosudil 10 µmol/L by rCYPs [a)]							
Control Bactosomes	0	0	185	NA	100	2.28 [b)]	ND
	60		174	6.4	93.6	ND	ND
Reductase Bactosomes	0		162	NA	100	ND	ND
	60		153	5.5	94.5	ND	ND

2.6.5.10.5 In Vitro Reaction Phenotyping of Belumosudil and M2 in Human Liver Microsomes and Recombinant Human CYP and UGT Enzymes（続き）

Test System	Incubation Time (min)	CYP/mL (pmol)	Substrate Detected (area ratio)	Substrate Loss (%)	Substrate Remaining (%)	M2 Detected (pmol)	M1 Detected (pmol)
Metabolism of Belumosudil 10 µmol/L by rCYPs [a)]							
CYP1A2	0	50	158	NA	100	ND	ND
	60		65.1	58.9	41.1	ND	ND
CYP2C8 + b_5	0		210	NA	100	2.59	ND
	60		139	33.7	66.3	ND	69.4
CYP2D6	0		183	NA	100	2.00 [b)]	ND
	60		140	23.2	76.8	ND	4.87
CYP3A4 + b_5	0		140	NA	100	ND	ND
	60		104	25.3	74.7	10.2	270

Test System	Incubation Time (min)	Protein (mg/mL)	Substrate Detected (area ratio)	Substrate Loss (%)	Substrate Remaining (%)
Metabolism of Belumosudil 1 µmol/L by rUGTs [c)]					
Insect Cell Control	0	0.5	24.7	NA	100
	60		24.6	0.7	99.3
rUGT1A9	0		25.3	NA	100
	60		9.40	62.9	37.1
Metabolism of M2 0.1 µmol/L by rUGTs [d)]					
Insect Cell Control	0	0.5	20.5	NA	100
	60		20.6	0.0	100
rUGT1A1	0		17.7	NA	100
	60		2.46	86.1	13.9

a) CYP incubations that led to a loss of belumosudil > 25% are displayed.
b) One replicate was ND or BLQ.
c) Only rUGT1A9 is displayed as belumosudil was stable in incubations with all other rUGTs.
d) Only rUGT1A1 is displayed as M2 was stable in incubations with all other rUGTs.
Values are the mean of duplicate determinations and are rounded to three significant figures. Percentages < 100% are rounded to one decimal point. Percentages ≥ 100% are rounded to the nearest whole number.
b_5 = expressed with cytochrome b_5, BLQ = below the limit of quantification, CYP = cytochrome P450, ND = not detected, rCYP = recombinant cytochrome P450, rUGT = recombinant uridine 5'-diphosphate glucuronosyltransferase, UGT = uridine 5'-diphosphate glucuronosyltransferase

2.6.5.10.6 Determination of Relative Contribution of Various CYP Enzymes to the Metabolism of Belumosudil in Human Liver Microsomes

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.4-07
試験番号：XT184060

Test Article: Belumosudil

Study No: XT184060 (non-GLP)

Type of Study: In vitro

Method:

Direct Inhibition: Incubations of Belumosudil (3 µmol/L) in the presence and absence of direct-acting chemical inhibitors known to inhibit cytochrome P450 (CYP) enzymes were conducted to evaluate the role of these enzymes in the clearance of belumosudil and formation of a metabolite (M2). Human liver microsomes (1 mg protein/mL) were incubated with the direct inhibitors quinidine (CYP2D6) and ketoconazole (CYP3A4/5) for 0, 15, 30, 60, 90 and 120 min at 37 ± 2°C in duplicate.

Metabolism-dependent Inhibition: Incubations of belumosudil (3 µmol/L) with human liver microsomes (0.5 mg protein/mL) were conducted manually at 37 ± 2°C in the presence and absence of the chemical inhibitors furafylline (CYP1A2), gemfibrozil glucuronide (CYP2C8), and esomeprazole (CYP2C19). Inhibitors were preincubated for 30 min with human liver microsomes (1 mg protein/mL) prior to the addition of belumosudil to incubation. Reactions were initiated by the addition of the NADPH-regenerating system. belumosudil was then added to the mixtures and incubated for 15, 30, 60, 90 and 120 min.

Tabulated Results:

Effect of Direct Inhibitors on Belumosudil

Targeted CYP enzyme	Inhibitor/ solvent	Inhibitor/ solvent concentration	Incubation time (min)	Substrate detected (pmol)	Substrate loss (%)	Substrate remaining (%)	Rate of substrate loss (pmol/mg/min)	Rate constant of elimination	Percent contribution (%)
NA	Water (solvent control)	NA	0	554	NA	100	NA	0.0147	NA
			15	364	33.4	66.6	63.4		
			30	306	45.2	54.8	41.4		
			60	196	63.0	37.0	29.9		
			90	158	74.1	25.9	22.0		
			120	138	75.7	24.3	17.3		
NA	Acetonitrile (solvent control)	0.5% v/v	0	517	0.0	100	NA	0.0130	NA
			15	384	24.2	75.8	0.00		
			30	301	42.2	57.8	13.7		
			60	215	59.3	40.7	14.1		
			90	169	67.9	32.1	11.9		
			120	139	74.1	25.9	10.2		

2.6.5.10.6 Determination of Relative Contribution of Various CYP Enzymes to the Metabolism of Belumosudil in Human Liver Microsomes（続き）

Effect of Direct Inhibitors on Belumosudil									
Targeted CYP enzyme	**Inhibitor/ solvent**	**Inhibitor/ solvent concentration**	**Incubation time (min)**	**Substrate detected (pmol)**	**Substrate loss (%)**	**Substrate remaining (%)**	**Rate of substrate loss (pmol/mg/min)**	**Rate constant of elimination**	**Percent contribution (%)**
CYP2D6	Quinidine in water	5 µmol/L	0	524	0.0	100	NA	0.0115	21.7
			15	371	27.5	72.5	51.3		
			30	305	37.9	62.1	36.5		
			60	216	58.9	41.1	25.7		
			90	186	64.1	35.9	18.8		
			120	151	69.8	30.2	15.5		
CYP3A4/5	Ketoconazole in acetonitrile	1 µmol/L	0	525	0.0	100	NA	0.00756	41.9
			15	464	14.5	85.5	20.5		
			30	406	23.5	76.5	19.9		
			60	316	41.0	59.0	17.4		
			90	257	50.4	49.6	14.9		
			120	230	57.8	42.2	12.3		
Effect of Metabolism-dependent Inhibitors on Belumosudil									
Targeted CYP enzyme	**Inhibitor/ solvent**	**Inhibitor/ solvent concentration**	**Incubation time (min)**	**Substrate detected (pmol)**	**Substrate loss (%)**	**Substrate remaining (%)**	**Rate of substrate loss (pmol/mg/min)**	**Rate constant of elimination**	**Percent contribution (%)**
NA	Acetonitrile (solvent control)	0.5% v/v	0	578	0.0	100	NA	0.00948	NA
			15	468	16.7	83.3	36.6		
			30	373	35.3	64.7	34.2		
			60	292	47.5	52.5	23.8		
			90	236	58.8	41.2	19.0		
			120	209	64.1	35.9	15.4		
NA	Acetonitrile with 0.1% v/v formic acid (solvent control)	1% v/v	0	621	0.0	100	NA	0.0108	NA
			15	454	38.9	61.1	55.5		
			30	385	44.4	55.6	39.2		
			60	299	57.5	42.5	26.8		
			90	248	63.3	36.7	20.7		
			120	213	69.0	31.0	17.0		

2.6.5.10.6 Determination of Relative Contribution of Various CYP Enzymes to the Metabolism of Belumosudil in Human Liver Microsomes（続き）

Effect of Metabolism-dependent Inhibitors on Belumosudil									
Targeted CYP enzyme	**Inhibitor/ solvent**	**Inhibitor/ solvent concentration**	**Incubation time (min)**	**Substrate detected (pmol)**	**Substrate loss (%)**	**Substrate remaining (%)**	**Rate of substrate loss (pmol/mg/min)**	**Rate constant of elimination**	**Percent contribution (%)**
NA	40/60 v/v Methanol/0.1 mol/L Tris pH 9.0 (solvent control)	0.5% v/v	0	623	0.0	100	NA	0.0111	NA
			15	421	34.1	65.9	67.3		
			30	347	40.9	59.1	45.9		
			60	262	56.5	43.5	30.1		
			90	214	64.1	35.9	22.7		
			120	180	69.9	30.1	18.4		
CYP1A2	Furafylline in acetonitrile	10 µmol/L	0	553	0.0	100	NA	0.00928	2.1
			15	468	19.3	80.7	28.3		
			30	407	29.0	71.0	24.3		
			60	289	51.3	48.7	22.0		
			90	249	57.3	42.7	16.9		
			120	219	62.9	37.1	13.9		
CYP2C8	Gemfibrozil glucuronide in acetonitrile with 0.1% v/v formic acid	100 µmol/L	0	642	0.0	100	NA	0.00931	14.2
			15	473	28.5	71.5	56.5		
			30	404	41.4	58.6	39.7		
			60	302	53.5	46.5	28.4		
			90	269	60.3	39.7	20.8		
			120	251	61.1	38.9	16.3		
CYP2C19	Esomeprazole in 40/60 v/v methanol/0.1 mol/L Tris pH 9.0	10 µmol/L	0	739	0.0	100	NA	0.0107	3.3
			15	661	20.9	79.1	26.0		
			30	504	39.5	60.5	39.3		
			60	379	52.8	47.2	30.0		
			90	301	62.7	37.3	24.4		
			120	262	67.7	32.3	19.9		

2.6.5.10.6 Determination of Relative Contribution of Various CYP Enzymes to the Metabolism of Belumosudil in Human Liver Microsomes（続き）

Effect of Direct Inhibitors on Conversion of Belumosudil to M2							
Targeted CYP enzyme	**Inhibitor/ solvent**	**Inhibitor/ solvent concentration**	**Incubation time (min)**	**Metabolite formed per incubation (pmol)**	**Rate of metabolite formation (pmol/mg/min)**	**Percent of control (%)**	**Percent inhibition (%)**
NA	Water (solvent control)	NA	0	0.460	NC	NC	NA
			15	7.55	2.52	100	NA
			30	13.31	2.22	100	NA
			60	20.0	1.67	100	NA
			90	25.9	1.44	100	NA
			120	29.4	1.23	100	NA
NA	Acetonitrile (solvent control)	0.5% v/v	0	0.660	NC	NC	NA
			15	7.72	2.57	100	NA
			30	13.2	2.21	100	NA
			60	19.8	1.65	100	NA
			90	26.8	1.49	100	NA
			120	31.1	1.30	100	NA
CYP2D6	Quinidine in water	5 µmol/L	0	0.620	NC	NC	NC
			15	7.58	2.53	100	No inhibition
			30	13.5	2.24	101	No inhibition
			60	21.3	1.77	106	No inhibition
			90	27.8	1.55	107	No inhibition
			120	32.4	1.35	110	No inhibition
CYP3A4/5	Ketoconazole in acetonitrile	1 µmol/L	0	0.560	NC	NC	NC
			15	3.98	1.33	51.6	48.4
			30	6.01	1.00	45.4	54.6
			60	10.8	0.898	54.5	45.5
			90	14.8	0.824	55.3	44.7
			120	18.1	0.755	58.2	41.8

2.6.5.10.6 Determination of Relative Contribution of Various CYP Enzymes to the Metabolism of Belumosudil in Human Liver Microsomes（続き）

Effect of Metabolism-dependent Inhibitors on Conversion of Belumosudil to M2							
Targeted CYP enzyme	**Inhibitor/ solvent**	**Inhibitor/ solvent concentration**	**Incubation time (min)**	**Metabolite formed per incubation (pmol)**	**Rate of metabolite formation (pmol/mg/min)**	**Percent of control (%)**	**Percent inhibition (%)**
NA	Acetonitrile (solvent control)	0.5% v/v	0	0.240	NC	NC	NA
			15	7.15	2.38	100	NA
			30	12.0	2.00	100	NA
			60	21.8	1.82	100	NA
			90	29.6	1.65	100	NA
			120	39.2	1.63	100	NA
NA	Acetonitrile with 0.1% v/v formic acid (solvent control)	1% v/v	0	0.270	NC	NC	NA
			15	6.49	2.16	100	NA
			30	12.6	2.10	100	NA
			60	21.7	1.81	100	NA
			90	31.2	1.74	100	NA
			120	38.1	1.59	100	NA
NA	40/60 v/v Methanol/0.1 mol/L Tris pH 9.0 (solvent control)	0.5% v/v	0	0.240	NC	NC	NA
			15	5.86	1.95	100	NA
			30	10.1	1.68	100	NA
			60	17.1	1.42	100	NA
			90	21.6	1.20	100	NA
			120	25.6	1.07	100	NA
CYP1A2	Furafylline in acetonitrile	10 µmol/L	0	0.200	NC	NC	NC
			15	6.99	2.33	97.8	2.2
			30	12.6	2.10	105	No inhibition
			60	23.7	1.98	109	No inhibition
			90	34.3	1.91	116	No inhibition
			120	42.4	1.77	108	No inhibition

2.6.5.10.6 Determination of Relative Contribution of Various CYP Enzymes to the Metabolism of Belumosudil in Human Liver Microsomes（続き）

Effect of Metabolism-dependent Inhibitors on Conversion of Belumosudil to M2							
Targeted CYP enzyme	**Inhibitor/ solvent**	**Inhibitor/ solvent concentration**	**Incubation time (min)**	**Metabolite formed per incubation (pmol)**	**Rate of metabolite formation (pmol/mg/min)**	**Percent of control (%)**	**Percent inhibition (%)**
CYP2C8	Gemfibrozil glucuronide in acetonitrile with 0.1% v/v formic acid	100 µmol/L	0	0.230	NC	NC	NC
			15	6.45	2.15	99.4	0.6
			30	11.7	1.95	92.9	7.1
			60	19.8	1.65	91.2	8.8
			90	27.9	1.55	89.4	10.6
			120	35.1	1.46	92.2	7.8
CYP2C19	Esomeprazole in 40/60 v/v methanol/0.1 mol/L Tris pH 9.0	10 µmol/L	0	NC	NC	NC	NC
			15	3.84	1.28	65.5	34.5
			30	7.45	1.24	74.0	26.0
			60	13.5	1.13	79.1	20.9
			90	18.4	1.02	85.1	14.9
			120	22.2	0.93	86.9	13.1

CYP = cytochrome P450, GLP = Good Laboratory Practice, NA = not applicable, NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form, NC = not calculated, No inhibition = value was zero or negative

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

2.6.4 薬物動態試験の概要文 2.6.4.5 代謝の項に記載する。

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12.1 In Vitro Evaluation of Belumosudil and M2 Effects on CYP Induction in Human Hepatocytes

被験物質：Belumosudil, M2
CTD における記載箇所：4.2.2.6-01
試験番号：XT173022

Test Article: Belumosudil, M2

Study No: XT173022 (non-GLP)

Type of Study: In vitro (human hepatocytes)

Method: Three preparations of cryopreserved human hepatocytes were incubated at 37 ± 2°C and treated once daily for 3 consecutive days with one of the of the following treatments: negative control (flumazenil, 25 µmol/L), belumosudil (0.15, 0.5, 1.5, 5, 10, or 15 µmol/L), M2 (0.3, 1, 3, 10, 30, or 100 µmol/L), or one of three known human CYP enzyme inducers (positive controls: omeprazole [50 µmol/L], phenobarbital [750 µmol/L], and rifampin [20 µmol/L]). RNA was isolated approximately 24 hours after the last treatment and RT-PCR was performed.

Tabulated Results:

Test Article	Concentration (µmol/L)	Hepatocyte Cell Line	CYP1A2		CYP2B6		CYP3A4	
			Fold Induction	% Positive Control	Fold Induction	% Positive Control	Fold Induction	% Positive Control
Belumosudil	0.1% DMSO	HC10-23	1.00	0	1.00	0	1.00	0
		HC5-24	1.00	0	1.00	0	1.00	0
		HC7-12	1.00	0	1.00	0	1.00	0
	0.15 µmol/L	HC10-23	1.27	0.311	1.07	1.10	1.08	0.188
		HC5-24	1.21	0.484	1.14	1.62	1.22	1.39
		HC7-12	1.25	0.490	1.06	0.939	1.20	1.18
	0.5 µmol/L	HC10-23	1.36	0.418	1.01	0.151	1.17	0.402
		HC5-24	1.01	0.0235	1.13	1.55	0.817	-1.16
		HC7-12	1.24	0.461	1.09	1.36	1.36	2.12
	1.5 µmol/L	HC10-23	1.69	0.790	1.20	3.07	1.55	1.31
		HC5-24	1.39	0.918	1.24	2.78	1.33	2.08
		HC7-12	1.68	1.32	1.18	2.70	1.32	1.90
	5 µmol/L	HC10-23	2.99	2.28	1.49	7.48	1.91	2.18
		HC5-24	0.971	-0.0681	1.44	5.13	0.943	-0.361
		HC7-12	1.91	1.76	1.16	2.37	1.75	4.38

2.6.5.12.1 In Vitro Evaluation of Belumosudil and M2 Effects on CYP Induction in Human Hepatocytes（続き）

Test Article	Concentration (µmol/L)	Hepatocyte Cell Line	CYP1A2		CYP2B6		CYP3A4	
			Fold Induction	% Positive Control	Fold Induction	% Positive Control	Fold Induction	% Positive Control
Belumosudil	10 µmol/L	HC10-23	3.38	2.73	1.48	7.22	2.57	3.74
		HC5-24	1.94	2.20	2.22	14.3	1.81	5.14
		HC7-12	4.20	6.17	1.53	7.86	2.40	8.24
	15 µmol/L	HC10-23	5.64	5.33	1.89	13.5	4.54	8.42
		HC5-24	2.35	3.16	2.22	14.3	2.19	7.52
		HC7-12	6.43	10.5	1.86	12.8	4.10	18.2
Flumazenil	25 µmol/L	HC10-23	0.836	-0.188	1.07	1.06	0.989	-0.0262
		HC5-24	0.950	-0.177	1.08	0.876	0.951	-0.311
		HC7-12	1.02	0.0367	1.03	0.507	0.994	-0.0352
Omeprazole	50 µmol/L	HC10-23	88.0	100	NA	NA	NA	NA
		HC5-24	43.6	100	NA	NA	NA	NA
		HC7-12	52.8	100	NA	NA	NA	NA
Phenobarbital	750 µmol/L	HC10-23	NA	NA	7.61	100	NA	NA
		HC5-24	NA	NA	9.56	100	NA	NA
		HC7-12	NA	NA	7.71	100	NA	NA
Rifampin	20 µmol/L	HC10-23	NA	NA	NA	NA	43.0	100
		HC5-24	NA	NA	NA	NA	16.8	100
		HC7-12	NA	NA	NA	NA	18.0	100

CYP = cytochrome P450, GLP = Good Laboratory Practice, NA = not applicable, RT-PCR = real-time polymerase chain reaction

2.6.5.12.2 In Vitro Evaluation of Belumosudil and M2 as Inhibitors of CYP Enzymes in Human Liver Microsomes

被験物質：Belumosudil, M2
CTD における記載箇所：4.2.2.6-02, 4.2.2.6-05
試験番号：XT175017, XT215067

Test Article: Belumosudil, M2

Study No: XT175017, XT215067 (non-GLP)

Type of Study: In vitro (human liver microsomes)

Method: Belumosudil and M2 were each evaluated for their abilities to function as direct, time-dependent, or metabolism-dependent inhibitors of the following CYP enzymes.
Direct Inhibition: Belumosudil (0.025 to 25 µmol/L) and M2 (0.1 to 100 µmol/L) were incubated at 37°C with the marker substrate and human liver microsomes. The reactions were initiated by the addition of an aliquot of an NADPH-regenerating system and were incubated for an additional 5 minutes.
Time-dependent Inhibition: Belumosudil (0.025 to 25 µmol/L) and M2 (0.1 to 100 µmol/L) were preincubated 37°C, in duplicate, with human liver microsomes in the absence of NADPH for 30 min, after which marker substrate was added. The reactions were initiated by the addition of an aliquot of an NADPH-regenerating system and were incubated for an additional 5 minutes.
Metabolism-dependent Inhibition: Belumosudil (0.025 to 25 µmol/L) and M2 (0.1 to 100 µmol/L) were preincubated, in duplicate, at 37°C with human liver microsomes and NADPH-regenerating system for about 30 min, after which marker substrate was added. The reactions were initiated by the addition of an aliquot of an NADPH-regenerating system and were incubated for an additional 5 minutes.

Tabulated Results:

Belumosudil

Enzyme	Substrate	Direct inhibition				Time-dependent inhibition		Metabolism-dependent inhibition		
		Zero-min preincubation				30-min preincubation without NADPH		30-min preincubation with NADPH		Potential for metabolism-dependent inhibition [c]
		IC_{50} ± SE (µmol/L) [a]	Maximum inhibition (%) [b]	K_i ± SE (µmol/L)	Type of inhibition	IC_{50} ± SE (µmol/L) [a]	Maximum inhibition (%) [b]	IC_{50} ± SE (µmol/L) [a]	Maximum inhibition (%) [b]	
CYP1A2	Phenacetin	12 ± 1	59	ND	ND	13 ± 2	56	3.1 ± 0.5	74	Yes [d, e]
CYP2B6	Efavirenz	> 25	31	ND	ND	> 25	39	> 25	38	No
CYP2C8	Amodiaquine	0.45 ± 0.06	96	0.46 ± 0.06	Competitive	0.51 ± 0.14	100	0.38 ± 0.07	100	No
CYP2C9	Diclofenac	0.74 ± 0.10	88	0.92 ± 0.22	Mixed	1.1 ± 0.2	85	0.73 ± 0.08	89	No [d, f]
CYP2C19	S-Mephenytoin	2.7 ± 0.5	77	ND	ND	2.7 ± 0.5	77	1.5 ± 0.3	82	Yes
CYP2D6	Dextromethorphan	24 ± 7	49	ND	ND	> 25	48	15 ± 2	60	No [g]
CYP3A4/5	Midazolam	11 ± 1	57	ND	ND	23 ± 6	47	0.23 ± 0.02	95	Yes [d, h]

2.6.5.12.2 In Vitro Evaluation of Belumosudil and M2 as Inhibitors of CYP Enzymes in Human Liver Microsomes（続き）

Enzyme	Substrate	Direct inhibition				Time-dependent inhibition		Metabolism-dependent inhibition		
		Zero-min preincubation				30-min preincubation without NADPH		30-min preincubation with NADPH		Potential for metabolism-dependent inhibition [c]
		IC_{50} ± SE (µmol/L) [a]	Maximum inhibition (%) [b]	K_i ± SE (µmol/L)	Type of inhibition	IC_{50} ± SE (µmol/L) [a]	Maximum inhibition (%) [b]	IC_{50} ± SE (µmol/L) [a]	Maximum inhibition (%) [b]	
CYP3A4/5	Testosterone	3.4 ± 0.7	75	ND	ND	5.4 ± 1.0	69	0.26 ± 0.03	100	Yes
M2										
CYP1A2	Phenacetin	4.9 ± 0.2	90	ND	ND	5.3 ± 0.1	90	8.4 ± 0.5	89	No
CYP2B6	Efavirenz	> 100	45	ND	ND	> 100	46	> 100	54	No
CYP2C8	Amodiaquine	1.1 ± 0.5	100	0.67 ± 0.08	Competitive	2.0 ± 0.3	100	1.3 ± 0.1	100	No
CYP2C9	Diclofenac	26 ± 2	76	ND	ND	37 ± 3	73	26 ± 2	78	No
CYP2C19	S-Mephenytoin	> 100	29	ND	ND	> 100	25	> 100	36	No
CYP2D6	Dextromethorphan	> 100	17	ND	ND	> 100	19	> 100	23	No
CYP3A4/5	Midazolam	> 100	43	ND	ND	> 100	39	27 ± 4	80	Yes
CYP3A4/5	Testosterone	86 ± 13	53	ND	ND	> 100	49	32 ± 4	75	Yes

a) Average data (i.e., percent of control activity) obtained from duplicate samples for each test article concentration were used to calculate IC_{50} values.

b) Maximum inhibition observed (%) is calculated with the following formula: Maximum inhibition observed (%) = 100% − the minimum percent solvent control for any test article concentration.

c) Metabolism-dependent inhibition was determined by comparison of IC_{50} values both with and without preincubation and with and without NADPH-regenerating system present in the preincubation, by comparison of the observed inhibition (%) for all preincubation conditions and by visual inspection of the IC_{50} plots.

d) After further evaluation, the metabolism-dependent inhibition observed was mostly irreversible since the inhibition was not reversed by either microsomal re-isolation or by microsomal re-isolation followed by treatment with potassium ferricyanide.

e) After further evaluation, the k_{inact} and K_I values for inactivation of CYP1A2 were measured to be 0.0058 min^{-1} and 0.35 µmol/L, respectively. The efficiency of inactivation (i.e. k_{inact}/K_I) was determined to be 17 $min^{-1}(mmol/L)^{-1}$.

f) After further evaluation, the k_{inact} and K_I values for inactivation of CYP2C19 were measured to be 0.0025 min^{-1} and 0.75 µmol/L, respectively. The efficiency of inactivation (i.e. k_{inact}/K_I) was determined to be 3.3 $min^{-1}(mmol/L)^{-1}$.

g) After further evaluation, CYP2D6 inhibition by Belumosudil did not increase with increasing preincubation time; therefore, Belumosudil was not a metabolism-dependent inhibitor of CYP2D6.

h) After further evaluation, the k_{inact} and K_I values for inactivation of CYP3A4/5 were measured to be 0.045 min^{-1} and 0.81 µmol/L, respectively. The efficiency of inactivation (i.e. k_{inact}/K_I) was determined to be 55 $min^{-1}(mmol/L)^{-1}$.

CYP = cytochrome P450, GLP = Good Laboratory Practice, IC_{50} = half maximal inhibitory concentration, Ki = inhibition constant, NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form, ND = not determined, SE = standard error

2.6.5.12.3 In Vitro Evaluation of KD025 and KD025m2 as an Inhibitor of Human Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferases (UGT): UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B7, UGT2B15 and UGT2B17

被験物質：Belumosudil, M2
CTD における記載箇所：4.2.2.6-03
試験番号：ADME-KAD-200630-UGT Inhibition

Test Article: Belumosudil, M2

Study No: ADME-KAD-200630-UGT Inhibition (non-GLP)

Type of Study: In vitro (human liver microsomes)

Method: Belumosudil and M2 were each evaluated for their abilities to function as direct inhibitors of the following UGT enzymes.
The final concentrations of belumosudil and M2 in incubation system were 0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 and 100 μmol/L, which were incubated with UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B7, UGT2B15 and UGT2B17, respectively. Substrates were known to be metabolized by UGT enzymes to produce corresponding specific metabolites, and were measured by UPLC-MS/MS. The IC_{50} values were calculated with the metabolites decrease percentages of test samples to vehicle samples. All incubations were performed in triplicate.

Tabulated Results:

Enzyme	Substrate	Inhibitor name	IC_{50} (μmol/L) [a)]		
			Inhibitor	Belumosudil	M2
UGT1A1	β-Estradiol	Silybin	1.71	0.0609	0.629
UGT1A3	β-Estradiol	Quinidine	4.35	2.15	26.9
UGT1A4	Trifluoperazine	Dicrofenac	120	> 10.0	46.6
UGT1A6	7-HFC	Dicrofenac	135	> 10.0	94.7
UGT1A9	Propofol	Niflumic acid	0.0273	0.861	11.2
UGT2B7	Zidovudine	Dicrofenac	6.72	4.14	40.5
UGT2B15	7-HFC	Dicrofenac	29.6	7.98	47.8
UGT2B17	Testosterone	Testosterone	91.2	> 100	53.7

a) Average data (i.e., percent of control activity) obtained from triplicate samples for each test article concentration were used to calculate IC_{50} values.
HFC = hydroxy-4-trifluoromethylcoumarin, IC_{50} = half maximal inhibitory concentration, NC = not calculated, UGT =uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferases, UPLC-MS/MS = ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1 Mass Balance Study Following a Single Oral Administration of [^{14}C]Belumosudil to Male/Female Albino Rats

被験物質：[^{14}C]ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.2-05
試験番号：KDM/03

Test Article: [^{14}C]Belumosudil										
Species:	Sprague-Dawley Rat									
Study No:	KDM/03 (non-GLP)									
Sex (M/F) / Number of Animals:	4M/4F									
Feeding Condition:	Fed									
Vehicle/Formulation:	0.4% Methyl cellulose									
Method of Administration:	PO									
Dose (mg/kg):	150									
Radioactivity (MBq/kg):	3.7									
Analyte:	[^{14}C]Belumosudil									
Assay:	LC-MS/MS									
Excretion Route:	**Urine (% of dose ± SD)**		**Feces (% of dose ± SD)**		**CO_2 Trap (% of dose ± SD)**		**Cage Wash (% of dose ± SD)**		**Carcass (% of dose ± SD)**	
Time (hr)	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Predose	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	NA	NA
Predose-6	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.02	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
0-12	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.04	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
0-24	0.24 ± 0.02	0.36 ± 0.07	44.76 ± 8.52	36.53 ± 14.6	BLQ	BLQ	0.09 ± 0.05	0.08 ± 0.01	NA	NA
0-48	0.53 ± 0.05	0.78 ± 0.21	91.45 ± 3.69	80.91 ± 10.91	BLQ	BLQ	0.14 ± 0.09	1.10 ± 1.96	NA	NA
0-72	0.54 ± 0.05	0.79 ± 0.21	92.67 ± 3.72	89.30 ± 5.06	NA	NA	0.15 ± 0.09	1.11 ± 1.96	NA	NA
0-96	0.54 ± 0.05	0.79 ± 0.21	92.79 ± 3.76	89.43 ± 5.12	NA	NA	0.15 ± 0.09	1.11 ± 1.96	NA	NA
0-120	0.54 ± 0.05	0.79 ± 0.21	92.83 ± 3.76	89.49 ± 5.14	NA	NA	0.15 ± 0.09	1.11 ± 1.96	0.44 ± 0.12	0.39 ± 0.05
Total 0-120 (M)	93.96 ± 3.80									
Total 0-120 (F)	91.77 ± 5.57									

BLQ = below the limit of quantification, F = female, GLP = Good Laboratory Practice, LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry, M = male, NA = not applicable, SD = standard deviation

2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄

該当する試験なし。

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1 In Vitro Evaluation of Belumosudil and M2 as Inhibitors and Substrates of Human ABC and SLC Transporters

被験物質：ベルモスジル
CTD における記載箇所：4.2.2.6-04
試験番号：XT178018

Test Article: Belumosudil

Study No: XT178018 (non-GLP)

Type of Study: In vitro

Method: Belumosudil and M2 were evaluated as inhibitors and substrates of human ABC transporters P-gp, BCRP and BSEP and human SLC transporters OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 and MATE2-K.

Tabulated Results:

Inhibition [IC_{50} (µmol/L)]

Transporter	Test system	Substrate	Belumosudil		M2	
			Test article (µmol/L)	IC_{50}	Test article (µmol/L)	IC_{50}
P-gp	Caco-2 cells	Digoxin (10 µmol/L)	0.01 to 1	0.198 µmol/L	60 and 600	> 600 µmol/L [b)]
BCRP	MDCKII-BCRP cells	Prazosin (1 µmol/L)	0.01 to 1	0.0310 µmol/L	1 to 100	7.73 µmol/L
BSEP	Vesicles	[^{3}H]-Taurocholic acid (0.4 µmol/L)	0.1 and 1	> 1 µmol/L [b)]	1 to 400	48.2 µmol/L
OATP1B1	HEK293 cells	[^{3}H]-Estradiol-17β-glucuronide (0.05 µmol/L)	0.01 to 1	0.235 µmol/L	0.1 to 50	0.390 µmol/L
OATP1B3	HEK293 cells	[^{3}H]-Estradiol-17β-glucuronide (0.05 µmol/L)	0.1 and 1	> 1 µmol/L [b)]	0.1 to 50	1.55 µmol/L
OAT1	HEK293 cells	[^{3}H]-*p*-Aminohippurate (1 µmol/L)	0.1 and 1	> 1 µmol/L [b)]	50 and 500	> 500 µmol/L [b)]
OAT3	HEK293 cells	[^{3}H]-Estrone-3-sulfate (0.05 µmol/L)	0.1 and 1	> 1 µmol/L [b)]	0.1 to 50	15.9 µmol/L
OCT2	HEK293 cells	[^{14}C]-Metformin (2 µmol/L)	0.1 and 1	> 1 µmol/L [b)]	50 and 500	> 500 µmol/L [b)]
MATE1	HEK293 cells	[^{14}C]-Metformin (10 µmol/L)	0.01 to 10	0.397 µmol/L	5 to 500	70.8 µmol/L
MATE2-K	HEK293 cells	[^{14}C]-Metformin (10 µmol/L)	0.01 to 10	0.224 µmol/L	5 to 500	13.2 µmol/L

2.6.5.11.1 In Vitro Evaluation of Belumosudil and M2 as Inhibitors and Substrates of Human ABC and SLC Transporters（続き）

Substrate Determination						
Transporter	Test system	Inhibitor	Belumosudil		M2	
			Test article (µmol/L)	Ratio [a]	Test article (µmol/L)	Ratio [a]
P-gp [c]	MDCKII-P-gp cells	NA	1	15.5 [d]	10	1.31 [d]
		Valspodar (10 µmol/L)		1.83 [d]		0.554 [d]
BCRP [c]	MDCKII-BCRP cells	NA	1	0.996 [d]	10	1.33 [d]
		Ko143 (1 µmol/L)		0.683 [d]		0.436 [d]
BSEP	Vesicles	NA	1	1.04 [e], 1.19 [f]	10	2.38 [e], 1.99 [f]
		Cyclosporine (20 µmol/L)		1.07 [e], [f]		1.73 [e], 1.63 [f]
OATP1B1 [d]	HEK293	NA	1	0.920 [e], 1.29 [f]	10	15.2 [e], 15.3 [f]
		Rifampin (10 µmol/L)		1.01 [e], 1.11 [f]		7.48 [e], 6.47 [f]
OATP1B3 [d]		NA	1	0.562 [e], 0.957 [f]	10	21.3 [e], 30.2 [f]
		Rifampin (10 µmol/L)		0.632 [e], 0.855 [f]		3.52 [e], 3.77 [f]
OAT1		NA	1	1.04 [e], 1.20 [f]	10	2.94 [e], 2.15 [f]
		Probenecid (100 µmol/L)		1.16 [e], 1.10 [f]		1.48 [e], 0.979 [f]
OAT3 [d]		NA	1	1.71 [e], 1.40 [f]	10	14.2 [e], 21.9 [f]
		Probenecid (100 µmol/L)		1.55 [e], 1.44 [f]		3.44 [e], 5.07 [f]
OCT2 [d]		NA	1	1.15 [e], 1.07 [f]	10	1.20 [e], 1.11 [f]
		Quinidine (300 µmol/L)		1.35 [e], 1.07 [f]		1.51 [e], 1.30 [f]
MATE1 [d]		NA	10	1.2 [e], [f]	10	0.8 [e], 1.0 [f]
		Cimetidine (10 µmol/L)		1.1 [e], [f]		0.9 [e], 0.7 [f]
MATE2-K [d]		NA	10	0.7 [e], 0.9 [f]	10	4.3 [e], 3.0 [f]
		Cimetidine (10 µmol/L)		0.7 [e], 1.3 [f]		1.4 [e], 1.3 [f]

a) Efflux ratio is provided for P-gp and BCRP; +ATP/+AMP ratio is provided for BSEP; uptake ratio is provided for OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, and OCT2; signal-to-noise ratio is provided for MATE1 and MATE2-K.
b) Two test article concentrations were evaluated and < 50 % inhibition was observed.
c) Ratio is combined across incubation times.
d) Efflux ratio after 0.25-2 hour incubation
e) Ratio after 1 min incubation
f) Ratio after 10 min incubation
IC_{50} = half maximal inhibitory concentration, GLP = Good Laboratory Practice, NA = not applicable

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

該当する試験なし。