2.6.4 及び 2.6.5 の略号等一覧

略語（略称）	内　容
ABT	1-アミノベンゾトリアゾール
AO	アルデヒドオキシダーゼ
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein
BSEP	Bile salt export pump
BDC	胆管カニュレーション処置
BLQ	定量下限未満
Caco-2 細胞	ヒト結腸癌由来細胞
CHO	チャイニーズハムスター卵巣細胞
CL	クリアランス
Cmax	最高血漿中濃度
CYP	チトクローム P450
GLP	医薬品の安全性試験の実施に関する基準
DDI	薬物相互作用
HPMC	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
IC50	50%阻害濃度
LC-MS	液体クロマトグラフ／質量分析
LC-MS/MS	液体クロマトグラフ／タンデム質量分析
MATE1	Multidrug and toxin extrusion 1
MDCK	イヌ腎尿細管上皮細胞由来細胞株
MMB	モメロチニブ
MS	質量分析
NMP	N-methyl-2 pyrrolidone
NZW	New Zealand White
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
P-gp	P-糖蛋白質
PK	薬物動態
QWBA	定量的全身オートラジオグラフ
PXR	プレグナン X 受容体
SD ラット	Sprague Dawley ラット
TK	トキシコキネティクス
Tmax	最高血漿中濃度到達時間
t1/2	消失半減期
UGT	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
Vss	定常状態における分布容積

2.6.4. 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1. まとめ

モメロチニブ（以下、MMB）の吸収、分布、代謝及び排泄並びに薬物相互作用（DDI）について検討するため、一連の in vitro 及び in vivo 試験を実施した。MMB 及びその主要代謝物に用いた化合物番号を表 2.6.1-1 に示す。

臨床投与経路は経口投与であることから、in vivo 試験は経口投与で実施した。また、静脈内投与試験を実施し、薬物動態（PK）及びバイオアベイラビリティ（F）を評価した。試験に用いた動物種として、Swiss マウス及び rasH2 トランスジェニックマウス、Sprague-Dawley（SD）ラット、New Zealand White（NZW）ウサギ及びビーグル犬を用いた。

最初の PK 試験は MMB 遊離塩基を用いて実施した。次の試験では、MMB の 3 種の塩（二硫酸塩、メシル酸塩及び二塩酸塩）を用いて PK を評価した。その後の試験では、MMB 二塩酸塩を用いた。

^{14}C-MMB を用いたヒトマスバランス試験（GS-US-352-1149 試験）において、M21 のヒト血漿中濃度時間曲線下面積（AUC）が MMB に関連するすべての物質の AUC の 10%を超え、また、M8 及び M19 の AUC が MMB の AUC の 25%を超えたことから、in vitro 試験において、MMB 並びにそのヒト代謝物 M8、M19 及び M21 がチトクローム P450（CYP）及びトランスポーターを介した DDI を引き起こす可能性について検討した。なお、臨床試験において潜在的に意義があると考えられる相互作用は評価されていることから、MMB と併用される可能性の高い薬剤との DDI を検討するための in vivo 非臨床 PK 試験は実施していない。

薬物動態試験における主要所見を以下に示す。これらの試験のデザイン及び結果を 2.6.4.3～2.6.4.8 に示し、これらの試験から得られた結果の考察及び結論を 2.6.4.9 に示す。試験の一覧を 2.6.5 に示す。

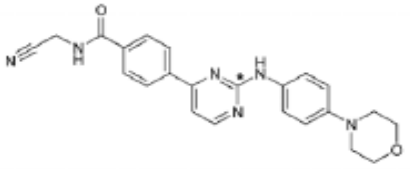


図 2.6.4-1 [^{14}C]標識体の標識位置

吸収

- 動物における MMB（二塩酸塩）単回経口投与後のバイオアベイラビリティは中等度～高度（ラット及びイヌでそれぞれ 50 及び 21%）であり、ヒト結腸癌由来細胞株（Caco-2 細胞）単層膜における透過性は高く、排出比が低いことと一致していた。胆管カニュレーションを施したラット及びイヌに ^{14}C-MMB を投与した結果、それぞれ 49 及び 44%以上の放射能が吸収された。

分布

- MMB の血漿蛋白結合率は、マウス、ラット、イヌ及びヒトで中等度～高度であった（それぞれ 88.2、97.5、80.8 及び 80.8%）。
- MMB の血液／血漿比はヒト及びラットで約 1 であり、MMB は赤血球に選択的に分布しないことが示された。
- ラットに ^{14}C-MMB を経口投与したとき、放射能は組織に広く分布し、ほとんどの組織で投与後 4 時間に最高濃度に達した。その後、放射能はすべての組織で低下し、不可逆的な結合は認められなかった。
- 血液－脳関門及び血液－精巣関門に対する MMB の通過性は低いことが示された。

代謝

- ヒト肝細胞を用いた in vitro 試験により、複数の CYP 分子種が MMB の代謝に関与していることが示された。
- ヒト肝細胞における主要な代謝物である M21 の生成には、CYP による生体内変換及びそれに続くアルデヒドオキシダーゼ（AO）による代謝が関与していると考えられた。M21 の生成に関与する CYP 分子種は、MMB の代謝に関与する分子種と同じであった。
- M19 を生成する MMB のニトリル基の加水分解は、マウス、ラット及びイヌの主要代謝経路であった。
- ヒト特異的な代謝物は認められず、ヒトで認められた代謝物はすべてラット又はイヌでも認められた。

排泄

- MMB は代謝後、糞中に排泄される（すべての動物種で 70%超）。無処置のラット及びイヌでは、投与量の 15%未満が尿中に回収されたことから、MMB のクリアランスにおける尿中排泄の寄与は小さいことが示唆された。

薬物動態学的薬物相互作用

- MMB は CYP2B6 の弱い可逆的阻害薬であったが、他のいずれの分子種（CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5）の阻害薬ではなかった。代謝物 M8、M19 及び M21 はいずれの CYP 分子種に対しても有意な阻害作用を示さなかった。MMB、M8、M19 及び M21 による阻害は時間又は代謝依存的ではなかった。これらのデータから、MMB、M8、M19 又は M21 による主要 CYP 分子種の阻害を介した in vivo での DDI リスクは低いことが示唆される。
- MMB は in vitro でウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）1A1 の阻害薬であり、UGT 基質の血漿中濃度を増加させる可能性が示された。
- 腎及び肝酵素に対する MMB の阻害は有意ではなく、臨床での血漿中濃度において、ほとんどの腎及び肝トランスポーターを阻害する可能性は低いことが示唆される。

- MMB の代謝は広範囲の阻害薬及び誘導薬による影響を受けず、MMB が特定の CYP 分子種ではなく、複数の CYP 分子種の基質であることが示される。
- MMB 及びその代謝物（M8、M19 及び M21）は、CYP3A4、CYP2C8、CYP2C9 又は P-糖蛋白質（P-gp）の mRNA レベルの有意な変化を引き起こさなかった。
- MMB 及び M21 は P-gp 及び Breast cancer resistance protein（BCRP）の基質であった。MMB 及びこれらの排出トランスポーターに対する強力な阻害薬を併用投与したときに消化管における相互作用が生じる可能性がある。
- MMB は肝取り込みトランスポーターである Organic anion transporting polypeptide（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質であった。
- MMB 及び代謝物（M8、M19 及び M21）の薬物トランスポーターに対する阻害は、MMB による BCRP の阻害（IC50=2.9 μM）及び M21 による Multidrug and toxin extrusion 1（MATE1）の阻害（IC50=2.4 μM）を除き、概ね弱いことが示された。

2.6.4.2. 分析法

2.6.4.2.1. 薬物動態試験

マウス、ラット及びイヌを用いた非臨床 PK 試験（非 GLP）における MMB 及びその代謝物の血漿中濃度（雌マウスでは血清を使用）を液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）又は液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）法により定量した（44304-08-245、44304-08-267、44304-08-340、44304-08-341、44304-09-351、AD-352-2007、AD-352-2025、CDCO_Cytopia_06_004、CDCO_Cytopia_06_014、CDCO_Cytopia_06_016、CDCO_Cytopia_07_017、CDCO_Cytopia_07_019、CDCO_Cytopia_07_026、CTP0716-CYT-387）。これらの方法はフルバリデートされたものではないが、試験が実施された非臨床開発の段階での目的に合致すると考えられた。PK パラメータはノンコンパートメント解析により算出した。

2.6.4.2.2. トキシコキネティクス試験

マウス（8283319、8283320）、ラット（1009-0461、1668-009、1668-023、814-1519、8283314、8283315、8287290、8291598、8307965、8336287、GWR1004、WIL-604183、WIL-604256）、ウサギ（8283316、8283318）及びイヌ（1668-011、814-1407、GWR1005）を用いた反復投与毒性試験（GLP 試験）における MMB の血漿中濃度は、バリデートされた LC-MS/MS 法（1668-003、1668-004、814-1410、814-1425、814-1432、814-1517、8283423、8283424、8342344、8305686）により定量した。バリデートしたパラメータは、選択性、感度、直線性、回収率、キャリーオーバー、分析単位内及び分析単位間の精度及び真度、全血中安定性、標準原液中安定性、前処理後試料中安定性、短期保存安定性、凍結融解安定性、長期保存安定性、希釈妥当性、並びに再注入再現性であった。毒性試験（814-1407、814-1519）において Incurred sample reanalysis を実施し、定量値の再現性を確認した。トキシコキネティクス（TK）パラメータはノンコンパートメント解析により算出した。

2.6.4.2.3. その他の in vivo 試験

放射能分析により、^{14}C-MMB を経口投与したときの MMB の吸収、分布、代謝及び排泄を評価した（1668-019、8290926、8290927、8290928、8290929、8290930、8290931）。

2.6.4.2.4. In vitro 試験

分析法はそれぞれ試験（2.6.4.3～2.6.4.7）に記載する。

2.6.4.3. 吸収

2.6.4.3.1. In vitro 透過性

Caco-2 細胞を用いて MMB の細胞膜透過性を 10 及び 30 μM の濃度で検討した。Caco-2 細胞単層膜における頂端膜側（A）から基底膜側（B）への透過性は高かった（AD-352-2028、CDCO_Cytopia_07_008）。30 μM において排出比はより低かったことから、高濃度では排出トランスポーターの飽和により、透過性が濃度依存的に変化する可能性が示唆された。これらの結果から、ヒトにおける MMB の腸管吸収は高い可能性が示された（表 2.6.4-1）。

表 2.6.4-1 Caco-2 細胞単層膜における MMB の透過性

Assay Concentration (μM)	Direction	Permeability Coefficient (10^{-6} cm/sec)	Efflux Ratio (Papp B→A/ Papp A→B)
10	Papp A→B Papp B→A	16.4 35.1	2.1
30	Papp A→B Papp B→A	30.4 27.3	0.9

Source: AD-352-2028, CDCO_Cytopia_07_008

2.6.4.3.2. In vivo 試験

2.6.4.3.2.1. マウス

MMB のマウスにおける PK は、主に Swiss マウスを用いた in vivo 薬効薬理試験及び 001178-W（野生型）マウスを用いたがん原性試験で評価した。また、^{14}C-MMB の PK は、排泄試験の一環として、Swiss マウス及び rasH2 トランスジェニックマウスを用いて評価した（8290926）。

最初の試験（CDCO_Cytopia_06_014）では、雄 Swiss マウス（2 例／群／時点）に MMB（遊離塩基）の 10 mg/kg を単回腹腔内及び経口投与した。MMB は 0.1 M カプチゾール及び 5% N-methyl-2 pyrrolidone（NMP）を含む溶液として調製した。投与後 6 時間まで採血して血漿試料を調製し、LC-MS により MMB を測定した。次の試験（CDCO_Cytopia_07_019）では、雌 Swiss マウス（3 例／群／時点）に MMB（遊離塩基）の 20 及び 50 mg/kg を単回経口投与した。MMB は 0.14 M カプチゾール及び 5% NMP を含む溶液（20 mg/kg）又は懸濁液（50 mg/kg）として調製した。投与後 8 時間まで採血して血清試料を調製し、LC-MS により MMB を測定した。これら 2 試験の PK パラメータを表 2.6.4-2 に示す。

雄 Swiss マウスに MMB の 10 mg/kg を腹腔内又は経口投与したときの AUC は同程度であった。雌 Swiss マウスに MMB を経口投与したときの AUC0-8h は、20～50 mg/kg において用量比を上回って増加した。

表 2.6.4-2　Swiss マウスに MMB を単回経口又は腹腔内投与したときの PK パラメータ

Dose (mg/kg)	Sex	Route	N[a]	AUC0-8h (ng·h/mL)	AUCinf (ng·h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
10	M	IP	2	NR	4196	2271	0.50
10	M	PO	2	NR	4279	2872	0.50
20	F	PO	3	16034	NR	8388	1.0
50	F	PO	3	59893	NR	15882	2.0

Source: CDCO_Cytopia_06_014, CDCO_Cytopia_07_019
a=Number of mice per time point.
F=Female, IV=intravenous, M=Male, NR=Not Reported, PO=oral

雄 001178-W マウス（3 例／群／時点）に MMB の 10、30、100、300 及び 500 mg/kg を単回経口投与し、MMB 及び代謝物（M19、M20 及び M21）の血漿中曝露量を測定した（AD-352-2007）。MMB を 0.05 M 塩酸を含む滅菌水（pH 1.35～1.8）で調製した。投与後 24 時間まで採血して血漿試料を調製し、LC-MS/MS で測定した。PK パラメータを表 2.6.4-3 に示す。

MMB 並びに代謝物 M19、M20 及び M21 の血漿中曝露量は、10～300 mg/kg において用量比に伴って増加した。500 mg/kg 群の曝露量は、300 mg/kg 群と同程度又はそれ以下であった。

10～30 mg/kg では、MMB、M19、M20 及び M21 の曝露量（AUC）は用量比を上回って増加した。30～100 mg/kg では、MMB 及び M19 の曝露量は用量比を上回って増加したが、M20 及び M21 については用量比を下回って増加した。100～300 mg/kg では、MMB、M19、M20 及び M21 の曝露量は用量比を下回って増加した。

表 2.6.4-3　001178-W（野生型）マウスに MMB を単回経口投与したときの MMB、M19、M20 及び M21 の PK パラメータ

Analyte	Dose (mg/kg)	AUC0-24h (ng·h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
MMB	10	4107	1390 ± 692	1.00
	30	20820	3840 ± 1140	0.50
	100	93800	7860 ± 598	1.00
	300	167000	16100 ± 1270	2.00
	500	132000	13000 ± 3980	0.50
M19	10	777	250 ± 92	1.00
	30	4036	519 ± 130	1.00
	100	15900	1010 ± 211	8.00
	300	22100	1280 ± 64	2.00
	500	16900	842 ± 70	8.00
M20	10	11.7	13.0 ± 5.4	0.50
	30	93.0	30.3 ± 10.5	0.50
	100	209	47.9 ± 6.1	1.00

Analyte	Dose (mg/kg)	AUC0-24h (ng·h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)
	300	426	55.3 ± 30.5	0.50
	500	258	67.4 ± 3.4	0.50
M21	10	12.9	10.9 ± 3.9	0.50
	30	145	53.1 ± 24.3	0.50
	100	397	110 ± 6	1.00
	300	624	138 ± 22	2.00
	500	631	115 ± 77	1.00

Source: AD-352-2007
Three mice per time point.

2.6.4.3.2.2. ラット

雄 SD ラットにおける MMB の PK について検討するため、in vivo 試験において MMB（遊離塩基）経口投与時の絶対的バイオアベイラビリティの評価、MMB（遊離塩基）溶液又は懸濁液経口投与時のバイオアベイラビリティの比較、MMB の 3 種の塩の経口投与後のバイオアベイラビリティの比較、MMB 二塩酸塩（GLP グレード）経口投与後のバイオアベイラビリティの評価を実施した。これらの試験で得られた PK パラメータを表 2.6.4-4～表 2.6.4-7 に示す。また、代謝及び排泄試験の一環として、ラットにおける ^{14}C-MMB の PK を評価した（8290928）。

2.6.4.3.2.2.1. MMB 遊離塩基の薬物動態

雄 SD ラット（3 例／群）に MMB（遊離塩基）の 2.5 及び 10 mg/kg で静脈内持続投与（5 分間）、又は 2.5 及び 10 mg/kg を経口投与した（CDCO_Cytopia_07_026）。媒体には 0.14 M カプチゾール及び 5% NMP 溶液を用いた。動物は一晩絶食させ、投与 4 時間後に餌を戻した。投与後 24 時間（2.5 mg/kg）又は 48 時間（10 mg/kg）まで採血して血漿試料を調製し、LC-MS により MMB を測定した。PK パラメータを表 2.6.4-4 に示す。

2.5 及び 10 mg/kg を静脈内投与したときの終末相における MMB の見かけの消失半減期（t1/2）は 8～24 時間であった（24 時間以降の血漿中濃度データの不足により、2.5 mg/kg における終末相は正確に推定できず）。いずれの用量においても、見かけの分布容積は中等度であり、血漿クリアランス（CL）は低かった。2.5 mg/kg 投与後の終末相を正確に推定することができなかったため、PK パラメータの用量依存性の分析は困難であった。

いずれの用量においても MMB 経口投与後の吸収は比較的遅く、最高血漿中濃度到達時間（Tmax）は投与後約 2 時間であった。また、MMB 経口投与時のバイオアベイラビリティはいずれも高かった（>100%）。本試験では、静脈内投与後の AUC の算出が不完全であったために、バイオアベイラビリティが 100%を超えた可能性がある。

表 2.6.4-4 雄ラット*に MMB を単回静脈内及び経口投与したときの PK パラメータ（平均値±標準偏差）

Dose (mg/kg) /Route	AUCinf (μM·min)	Cmax (μM)	Tmax (min)	t1/2 (h)	CL (mL/min/kg)	Vd (L/kg)	F (%)
2.5 / IV	1443 ± 195	NA	NA	8.4 ± 1.6	4.3 ± 0.2	8.6 ± 0.5	NA
2.5 / PO	1579	6.0 ± 0.2	120 ± 52	3.3	NA	NA	109
10 / IV	7663 ± 1359	NA	NA	24.5 ± 5.3	3.2 ± 0.5	6.8 ± 2.0	NA
10 / PO	9323 ± 452	20.6 ± 1.0	150 ± 0	16.7 ± 8.4	NA	NA	132 ± 5

Source: CDCO_Cytopia_07_026
CL=Clearance, IV=intravenous, NA=Not applicable, PO=oral, Tmax=Time at maximum concentration, Vd=Volume of distribution.
*Three rats per group.

2.6.4.3.2.2.2. MMB 遊離塩基の薬物動態（溶液及び懸濁液の比較）

MMB 製剤の最適化のため、雄 SD ラット（2 例／群）に MMB 遊離塩基 20 mg/kg の溶液又は懸濁液を経口投与したときバイオアベイラビリティを比較した（それぞれ CDCO_Cytopia_06_016, CDCO_Cytopia_07_017）。MMB 溶液には 0.1 M カプチゾール及び 5% NMP を含有する水、MMB 懸濁液には 0.5%(w/v)ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、0.5%ベンジルアルコール及び 0.4% Tween 80 を含有する水をそれぞれ媒体に用いて調製した。投与前にすべてのラットは一晩絶食した。投与後 24 時間（溶液）又は 48 時間（懸濁液）まで採血して血漿試料を調製し、LC-MS により MMB を測定した。PK パラメータを表 2.6.4-5 に示す。

MMB を懸濁液として経口投与したとき、血漿中濃度は投与後 30 時間まで定量可能であった。溶液又は懸濁液のいずれにおいても、MMB は比較的緩徐に吸収された。懸濁液投与後の半減期は溶液よりも長かったことから、薬物の溶解度が MMB の曝露を制限している可能性が示唆された。懸濁液投与後の見かけのバイオアベイラビリティ（18%）は溶液（>100%）よりも低く、懸濁した MMB の溶解が不完全であったため、薬物吸収が低下した可能性が示唆された。

表 2.6.4-5 雄ラット*に MMB（20 mg/kg）遊離塩基の懸濁液又は溶液を単回経口投与したときの PK パラメータ

Presentation	AUCinf (μM·min)	Cmax (μM)	Tmax (min)	t1/2 (h)	F (%)[a]
Suspension	3433	6.7	270	3.9	18.3
Solution	21102	40.4	240	2.4	124.3

Source: CDCO_Cytopia_06_016, CDCO_Cytopia_07_017
a = Oral bioavailability calculated relative to the dose normalized AUC following IV administration of 2 mg/kg MMB free base in study CDCO_Cytopia_06_004.
*Two rats per group

2.6.4.3.2.2.3. MMB の薬物動態（塩の比較）

溶解性がより高い塩の特性を評価するために、MMB の二硫酸塩、二塩酸塩及びメシル酸塩の PK を比較した（CTP0716-CYT-387）。

雄 SD ラット（3 例／群）に MMB の二硫酸塩、メシル酸塩又は二塩酸塩（遊離塩基換算で 20 mg/kg）を単回経口投与、又は二硫酸塩（遊離塩基換算で 5 mg/kg）を単回静脈内投与した。各 MMB 塩は生理食塩水に溶解した。動物は投与前に一晩絶食させた。投与後 24 時間まで採血して血漿試料を調製し、LC-MS により MMB を測定した。PK パラメータを表 2.6.4-6 に示す。

二硫酸塩、メシル酸塩及び二塩酸塩を経口投与したときの MMB の半減期は同程度であり、バイオアベイラビリティはそれぞれ 119、47 及び 70%であった。

良好な PK を示したこと及び予備的に実施した小規模の製剤試験の結果から MMB の二硫酸塩及び二塩酸塩を選択したが、最終的には二塩酸塩を選択した。

表 2.6.4-6 雄ラット*に MMB の二硫酸塩、メシル酸塩又は二塩酸塩を単回静脈内及び経口投与したときの MMB の PK パラメータ（平均±標準偏差）

Dose (mg/kg)	Route	Salt Form	AUCinf (ng·h/mL)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	t1/2 (h)	F (%)
5	IV	Bis-bisulfate	25500 ± 3700	NA	NA	1.6 ± 0.6	NA
20	PO	Bis-bisulfate	121600 ± 10400	8672 ± 456	7.3 ± 1.2	1.6 ± 0.2	119 ± 10
20	PO	Mesylate	47800 ± 4100	5768 ± 1743	3.3 ± 2.3	1.8 ± 0.0	47 ± 4
20	PO	Dihydrochloride	71400 ± 11600	8257 ± 2241	3.0 ± 1.7	1.7 ± 0.1	70 ± 11

Source: CTP0716-CYT-387
NA=Not applicable.
*Three rats per group.

2.6.4.3.2.2.4. MMB 二塩酸塩の薬物動態

MMB 二塩酸塩（GLP グレード）を経口投与したときのバイオアベイラビリティを確認するため、雄 SD ラット（4 例／群）に MMB 二塩酸塩を単回経口（遊離塩基換算で 20 mg/kg）又は静脈内（遊離塩基換算で 5 mg/kg）投与した（44304-08-341）。MMB 二塩酸塩は滅菌水（酸性：pH 1.5）に溶解した。試験期間中、すべてのラットを自由に摂食させた。投与後 24 時間まで採血して血漿試料を調製し、LC-MS/MS で測定した。PK パラメータを表 2.6.4-7 に示す。

二塩酸塩を静脈内投与したときの MMB の PK パラメータは、二硫酸塩を投与したときと類似していた。MMB の CL は低く（0.47 L/h/kg）、定常状態における分布容積（Vss）は 0.8 L/kg であり、t1/2 は短かった（2.2 時間）。

MMB 二塩酸塩を経口投与したときの吸収は、これまでの試験よりも速やかであり、Cmax は投与後約 1.7 時間であった。バイオアベイラビリティは中等度（50±13%）であり、これまでの試験よりもわずかに低かった。

表 2.6.4-7 ラット*に MMB 二塩酸塩を単回静脈内及び経口投与したときの PK パラメータ（平均±標準偏差）

Dose (mg/kg)/ Route	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	AUCinf (ng·h/mL)	CL (L/h/kg)	Vss (L/kg)	t1/2 (h)	F (%)
5 / IV	NA	NA	10596 ± 936	0.47 ± 0.04	0.80 ± 0.06	2.2 ± 0.7	NA
20 / PO	2990 ± 1145	1.67 ± 1.15	21221 ± 5575	NA	NA	0.89 ± 0.23	50 ± 13

Source: 44304-08-341
NA=Not applicable.
*Four rats per group.

2.6.4.3.2.3. イヌ

雄ビーグル犬に 2 種の塩（二塩酸塩及び二硫酸塩）を経口投与したときのバイオアベイラビリティを評価し、絶食又は摂食下での経口バイオアベイラビリティを比較した。

2.6.4.3.2.3.1. MMB 二硫酸塩の薬物動態

MMB 二硫酸塩を経口投与したときのバイオアベイラビリティを 2 試験で評価した（44304-08-245、44304-08-267）。各試験において、雄イヌ（2～3 例／群）に単回静脈内持続注入（10 分間）（遊離塩基換算で 5 mg/kg）又は経口（遊離塩基換算で 20 mg/kg）投与した。イヌは投与前に一晩絶食させ、試験 1 及び 2（それぞれ 44304-08-245 及び 44304-08-267）では、それぞれ投与 1 及び 3 時間後に餌を戻した。投与後 24 時間まで採血して血漿試料を調製し、LC-MS/MS で測定した。両試験の PK パラメータを表 2.6.4-8 に示す。

MMB を静脈内投与したときの t1/2 は比較的短く（1 時間未満）、平均 CL（1.7～1.9 L/h/kg）はラット（0.2～0.5 L/h/kg）よりも大きかった。イヌにおける Vss は低かった（1.7～1.8 L/kg）。イヌにおける経口バイオアベイラビリティは中等度であったが、試験 1（投与 1 時間後に摂餌再開）よりも試験 2（投与 3 時間後に摂餌再開）でより大きかった。このことから、MMB 二硫酸塩の吸収は食事の影響を受ける可能性が示唆された。

表 2.6.4-8 イヌに MMB 二硫酸塩を単回経口及び静脈内投与したときの PK パラメータ（平均±標準偏差）

Dose (mg/kg) /Route	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	AUCinf (ng·h/mL)	CL (L/h/kg)	Vss (L/kg)	t1/2 (h)	F (%)
5 / IV[a]	NA	NA	2696 ± 580	1.9 ± 0.4	1.7 ± 0.1	0.70 ± 0.10	NA
5 / IV[b]	NA	NA	3016 ± ID	1.7 ± ID	1.8 ± ID	0.95 ± ID	NA
20 / PO[a]	1004 ± 851	1.7 ± 1.2	3978 ± 3243	NA	NA	1.47 ± 0.95	36.9
20 / PO[b]	1818 ± 1082	1.7 ± 0.6	7649 ± 5029	NA	NA	0.84 ± 0.24	63.4

Source: 44304-08-245, 44304-08-267
a = Food returned 1hour postdose.
b = Food returned 3hours postdose.
ID= Insufficient data, NA=Not applicable.

2.6.4.3.2.3.2. MMB 二塩酸塩の薬物動態

MMB 二塩酸塩を経口及び静脈内投与したときの PK を 2 試験で評価した。最初の試験（44304-08-340）では、雄ビーグル犬（3 例／群）に滅菌水（酸性：pH 1.5）に溶解した MMB 二塩酸塩を単回静脈内（遊離塩基換算で 5 mg/kg）又は経口（遊離塩基換算で 20 mg/kg）投与した。イヌは投与前に一晩絶食させ、投与 3 時間後に餌を戻した。投与後 12 時間まで採血して血漿試料を調製し、LC-MS/MS により MMB を測定した。次の試験（44304-09-351）では、雄イヌ（3 例／群）に MMB 二塩酸塩の 20 mg/kg（遊離塩基換算）を単回経口投与した。一方の群では一晩絶食後に投与し、もう一方の群では一晩絶食し、摂食 2 時間後に投与した。PK パラメータを表 2.6.4-9 に示す。

MMB 二塩酸塩を静脈内投与したときの PK パラメータは、二硫酸塩を投与したとき（2.6.4.3.2.3.1）と同程度であった。しかしながら、絶食下でイヌに MMB を経口投与したときのバイオアベイラビリティは低かった（21%未満）。摂食下における Cmax までの時間（Tmax）は絶食下に比べて遅く（摂食下で 3 時間、絶食下で 1 時間）、吸収の遅延が顕著であった。また、摂食下で投与後の AUC は、絶食下の AUC の約 2 倍高く、イヌにおける MMB 二塩酸塩のバイオアベイラビリティは、食後に経口投与することにより増加することが示唆された。

表 2.6.4-9 イヌに MMB を単回経口及び静脈内投与したときの PK パラメータ（平均±標準偏差）

Dose (mg/kg) /Route	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	AUCinf (ng·h/mL)	CL (mL/h/kg)	Vss (L/kg)	t1/2 (h)	F (%)
5 / IV[a]	NA	NA	2898 ± 531	1761 ± 292	2.4 ± 0.17	0.7 ± 0.0	NA
20 / PO[a]	710 ± 259	1.33 ± 0.58	2040 ± 869	10866 ± 3744	NA	0.86 ± 0.13	20.5 ± 6.3
20 / PO[a]	699 ± 54.7	0.83 ± 0.29	1708 ± 866	NR	NA	1.15 ± 0.20	14.7 ± 7.5
20 / PO[b]	714 ± 317	3.00 ± 1.00	4419 ± 2083	NR	NA	1.05 ± 0.67	38.1 ± 18.0

Source: 44304-08-340, 44304-09-351
a = Fasted.
b = Fed.
NA=Not applicable.

2.6.4.4. 分布

2.6.4.4.1. 組織内分布

雄 SD（白色）及び Long Evans（有色）ラットに ^{14}C-MMB を単回経口投与（80 mg/kg; 100 µCi/kg）したときの放射能の組織分布を、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）により、又は液体試料についてはシンチレーションカウンターにより測定した（1668-019）。主要な組織の結果を表 2.6.4-10 及び表 2.6.4-11 に示す。

雄 SD ラットにおいて、投与後 4 時間における血液及び血漿中の ^{14}C-MMB 由来放射能の最高値はそれぞれ 18877 及び 27784 ng equivalent ^{14}C-MMB/g であった。その後、放射能は低下し、投与後 120 時間までに血液及び血漿中で定量下限未満（BLQ）となった。

^{14}C-MMB 由来放射能は、組織に広く分布し、SD 及び Long Evans ラットで類似していた。全体的に放射能が最も高かったのは、白色及び有色動物の消化管内容物であった。ほと

んどの組織中濃度は、SD ラットでは投与後 8～24 時間まで、Long Evans ラットでは投与後 8～48 時間までに低下した。骨、脳、脊髄及び精巣では、すべての時点で放射能は BLQ 又は周囲組織との識別不可であった。これらの結果は、^{14}C-MMB 由来放射能の血液脳関門及び血液精巣関門の通過性が低いことを示唆している。SD ラットでは、投与後 72 時間までに放射能がすべての組織から消失したことから、不可逆的な結合がないことが示唆された（表 2.6.4-10）。Long Evans ラットでは、皮膚（有色）及び眼のブドウ膜を除き、放射能は投与後 72 時間までにすべての組織から消失した。有色組織中の放射能は投与後 168 時間まで定量可能であったことから、^{14}C-MMB 由来放射能はメラニンに結合していることが示唆されたが、濃度は徐々に低下しており、メラニンとの結合は可逆的であることが示された（表 2.6.4-11）。

表 2.6.4-10　雄 SD ラットに ^{14}C-MMB 80 mg/kg（100 µCi/kg）を単回経口投与したときの血液及び組織中放射能（QWBA）

Tissue/Organ	Tissue Concentration of Radioactivity (ng ^{14}C-MMB Equivalents/g Tissue)						
	1 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	120 h
Bone	ND	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Adrenal gland	25426	38787	24403	BLQ	BLQ	ND	ND
Blood	9514	18877	9460	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	5016	6436	BLQ	ND	ND	ND	ND
Brain, spinal cord, testis	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	6040	18136	8856	ND	ND	ND	ND
Kidney(s)	18753	32952	21796	BLQ	BLQ	ND	ND
Large intestine	ND	9727	14878	8318	BLQ	ND	ND
Liver	32519	55459	38935	8634	BLQ	BLQ	BLQ
Pancreas	6151	13975	9882	BLQ	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	BLQ	5370	6553	ND	ND	ND	ND
Small intestine	1486573	85193	27569	ND	ND	ND	ND
Stomach	11278	158739	10470	BLQ	ND	ND	ND
Urinary bladder	ND	7199	8833	BLQ	ND	ND	ND
Urine	ND	49286	43878	7969	ND	ND	ND
Uveal tract	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Source: 1668-019
BLQ <4.159 ng equivalents ^{14}C-MMB/g.
ND = Not iscernible from background or surrounding tissue.

表 2.6.4-11 雄 Long Evans ラットに ^{14}C-MMB 80 mg/kg（100 µCi/kg）を単回経口投与したときの血液及び組織中放射能（QWBA）

Tissue/Organ	Tissue Concentration of Radioactivity (ng ^{14}C-MMB Equivalents/g Tissue)								
	1 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	120 h	168 h	336 h
Bone, brain, spinal cord, testis	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Adrenal gland	46898	29871	23291	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	8063	10877	16193	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	BLQ	4812	7659	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye(s)	BLQ	BLQ	11999	4726	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Fat (brown)	5508	11510	10706	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kidney(s)	13887	22152	21528	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Large intestine	BLQ	10118	99915	28976	ND	ND	ND	ND	ND
Liver	33429	51763	37696	9706	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND
Pancreas	5235	12869	12770	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (pigmented)	BLQ	13416	19472	29259	21425	12514	6091	10602	ND
Small intestine	24366	71375	47394	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Stomach	58615	55047	30095	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Urinary bladder	6979	14326	15010	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Urine	31513	130447	78432	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Uveal tract	23878	66042	118618	72851	27454	38524	24470	25575	15770

Source: 1668-019
BLQ <4.159 ng equivalents ^{14}C-MMB/g.
ND = Not discernible from background or surrounding tissue.

2.6.4.4.2. 蛋白結合

2.6.4.4.2.1. 血漿

マウス、ラット、イヌ及びヒト血漿中の MMB、M8、M19 及び M21 の血漿蛋白結合率を平衡透析法により評価した（AD-352-2012、AD-352-2026）。2 µM の各化合物を 37°C で 3 時間インキュベートした。化合物の濃度は LC-MS/MS で測定した。試験の結果を表 2.6.4-12 に示す。

MMB、M8、M19 及び M21 は、すべての動物種の血漿中で中等度～高度の蛋白結合率を示した。いずれの化合物もラット血漿中において、他の動物種よりも高い蛋白結合率を示した。

表 2.6.4-12 げっ歯類、イヌ及びヒト血漿における MMB 及び代謝物の血漿蛋白非結合率

Species	Fraction Unbound (%) (Mean ± SD, n = 3)			
	MMB	M8	M19	M21
CD-1mouse	11.8 ± 0.5	10.9 ± 1.1	21.1 ± 0.8	2.5 ± 0.1
SD rat	2.5 ± 0.2	4.8 ± 0.2	3.6 ± 0.1	0.9 ± 0.1
Beagle dog	19.2 ± 0.7	66.6 ± 3.2	25.3 ± 0.2	32.5 ± 3.7
Human	19.2 ± 0.5	38.0 ± 2.9	12.2 ± 0.2	14.6 ± 0.6

Source: AD-352-2012, AD-352-2026

超遠心法を用いた結果、MMB はヒト血漿中で高い蛋白結合率を示し、その結合率は約 87～92%であった（CDCO_Cytopia_07_006）。

2.6.4.4.2.2. ヒト肝ミクロソーム

ヒト肝ミクロソーム中の MMB、M8、M19 及び M21 の結合率を評価した。3 μM の各化合物を 0.5 mg protein/mL のミクロソームとともに 37°C で一晩インキュベートした（AD-352-2031）。化合物の濃度は LC-MS/MS で測定した。

MMB の非結合型分率は 92.7%であった。M8、M19 及び M21 の非結合型分率は 81.5～100%であった（表 2.6.4-13）。

表 2.6.4-13 ヒト肝ミクロソームにおける蛋白非結合率

Fraction Unbound (%) (Mean, n = 2)			
MMB	M8	M19	M21
92.7	100	81.5	96.3

Source: AD-352-2031

2.6.4.4.3. 血球への移行

MMB の 500 ng/mL をラット全血及びヒト全血と 37°C で 6 時間インキュベートして、MMB の in vitro 血液／血漿比より血球分配率を評価した（それぞれ CDCO_Cytopia_07_035 及び CDCO_Cytopia_07_038）。全血試料はドライアイス上で急速冷凍又は遠心分離による血漿調製後に凍結保存した。全血試料及び血漿中の MMB 濃度を LC-MS で測定した。

MMB の in vitro 血液／血漿比は、ラット及びヒトにおいて約 1 であり、赤血球及び血漿に同程度分布することが示唆された。この結果はヒトにおいて ^{14}C-MMB 由来の in vivo 血液／血漿中 AUC 比が約 0.7～0.9 であることと一致していた（GS-US-352-1149 試験）。

2.6.4.4.4. 脳への移行

雄 Swiss マウス（非近交系）に MMB の 5 mg/kg を静脈内投与し、脳への取り込みを検討した（CDCO_Cytopia_07_043）。投与後 5 及び 60 分（4 例／時点）に心臓穿刺により採血し、全脳を摘出した。血漿中及び脳ホモジネート中の MMB を LC-MS により測定した。

投与後 5 及び 60 分の脳／血漿中濃度比はそれぞれ 0.075±0.026 及び 0.215±0.036 であり、MMB の脳への取り込みは低いことが示唆された。

2.6.4.4.5. 胎盤通過及び胎児への移行

MMB 及びその代謝物について、胎盤及び乳汁への移行を検討するための試験は実施していない。SD ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験（8307965）では、妊娠ラットに MMB の 2、6 及び 12 mg/kg/日を妊娠 6 日から分娩後 20 日まで 1 日 1 回投与した。分娩後 10 日に血漿中 MMB 及びその代謝物（M19 及び M21）の TK を評価した（2.6.6.6.3）。分娩後 10 日では、母動物における MMB の AUC は出生児の約 4～8 倍であったが、母動物における M19 の曝露量は出生児の約 2～3 倍であった。M21 については、母動

物ではマイナーな代謝物であり、定量下限値以上のデータが限られていたため、TK 評価は実施していない。これらの結果から、MMB は乳汁中に移行する可能性が示唆された。

2.6.4.5. 代謝

2.6.4.5.1. In vitro

2.6.4.5.1.1. 全血中における安定性

MMB の 500 ng/mL をラット及びヒト全血と 37°C で 6 時間インキュベートして MMB の安定性を評価した（それぞれ CDCO_Cytopia_07_035 及び CDCO_Cytopia_07_038）。インキュベーション時間内の全血試料中の MMB 濃度を LC-MS により測定した。

ラット又はヒトの全血中において、未変化体濃度の低下は 6 時間のインキュベーションを通して認められなかったことから、いずれの全血中においても MMB は安定であることが示唆された。

2.6.4.5.1.2. ラット肝 S9 画分における安定性

Aroclor 1254 誘導ラット肝 S9 画分における ^{14}C-MMB（3.5 μM）の代謝を検討するため、LC-HRAMS（高分解能精密質量分析）及びラジオ HPLC を用いて代謝物を検出・定量した（13GILEP10）。

60 分間のインキュベーション終了時、プール試料中の総放射能の 72.2%（1.32 μM）及び 5.2%（0.10 μM）が、それぞれ未変化体及び代謝物 M17 であった。代謝物 M19 及び M20 は共溶出し、総放射能の 8.1%であった。一方、M11（デスアセチレンモルホリン体）は総放射能の 14.4%に相当した。

2.6.4.5.1.3. 肝ミクロソーム及び肝細胞における代謝

動物及びヒトの凍結肝細胞（0.71～1.23×10^6 cells/mL）及び β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（還元型）（NADPH）存在下の肝ミクロソーム（0.4 mg/mL protein）を用いて、MMB（0.125～10 μM）の in vitro 代謝速度を評価した（CDCO_Cytopia_07_015、CDCO_Cytopia_07_030、CDCO_Cytopia_08_004）。

各動物の NADPH 存在下の肝ミクロソーム（表 2.6.4-14）及び肝細胞（表 2.6.4-15）における MMB の代謝速度は、低～中等度であった。これらの in vitro 試験より算出された肝抽出率から、代謝の程度に明らかな種差はないことが示唆された。なお、血漿及びミクロソーム中の結合を考慮しない場合のヒト肝抽出率は中等度であった。

表 2.6.4-14 NADPH 存在下の肝ミクロソームにおける MMB の in vitro 代謝速度

Species	In Vitro CLint (mL/min/mg Protein)	Predicted Hepatic Extraction Ratio
Mouse	0.021	0.48
Rat	0.021	0.41
Dog	0.015	0.41
Monkey	0.014	0.31
Human	0.018	0.50

Source: CDCO_Cytopia_07_015, CDCO_Cytopia_07_030

表 2.6.4-15 凍結肝細胞における MMB の in vitro 代謝速度

Species	MMB Concentration (μM)	t1/2 (min)	CLint (μL/min/10^6 viable cells)	Predicted Hepatic Extraction Ratio
Rat	1	131	5.2	0.31
	10	341	2.0	0.15
Dog	1	165	9.8	0.55
	10	733	2.2	0.21
Human	1	132	7.0	0.51
	10	306	3.0	0.31

Source: CDCO_Cytopia_08_004

2.6.4.5.1.4. CYP を介した MMB の in vitro 代謝

MMB のヒト肝代謝における酸化的代謝の相対的寄与率について検討するため、非選択的 CYP 阻害薬である 1-アミノベンゾトリアゾール（ABT）を処理したときの MMB の安定性を評価した（CDCO_Cytopia_07_025）。

MMB の消失速度は、ABT とともにインキュベートしたときに著しく低下した。この結果から、ヒト肝ミクロソームにおける NADPH 依存性の MMB の代謝（2.6.4.5.1.3）は、主に CYP を介していることが示唆された（表 2.6.4-16）。

表 2.6.4-16 ABT 存在下又は非存在下における MMB の代謝安定性

Preincubation Condition	t1/2 (min)	In Vitro CLint (μL/min/mg Protein)
Vehicle	192	9.0
ABT (500 μM)	> 715	< 2.4

Source: CDCO_Cytopia_07_025

遺伝子組換えヒト CYP 分子種（1A2、2A6、2B6、2C9、2C19、2D6*1、2E1、3A4 及び 3A5）を用いて、MMB の代謝に関与するヒト CYP 分子種を同定した（CDCO_Cytopia_07_021）。CYP2A6、CYP3A4、CYP2C9、CYP2C19、CYP2B6 及び CYP1A2 について代謝速度が測定可能であり、これらの分子種が MMB の NADPH 依存性の代謝に関与することが示唆された。CYP2D6*1、CYP2E1 及び CYP3A5 では、MMB の代謝速度は測定できなかった（表 2.6.4-17）。

表 2.6.4-17 主要なヒト CYP 分子種による MMB の代謝

CYP Isoform	t1/2 (min)	In Vitro CLint (mL/min/nmol CYP)
Native (containing no CYP content)	>200	NA
Native (containing P450 reductase + cytochrome b_5)	>200	NA
CYP1A2	180	0.051
CYP2A6	101	0.091
CYP2B6	157	0.059
CYP2C9*1 (Arg_{144})	118	0.079
CYP2C19	146	0.064
CYP2D6*1	>200	<0.045
CYP2E1	>200	<0.045
CYP3A4	115	0.080
CYP3A5	>200	<0.045

Source: CDCO_Cytopia_07_021
NA=Not applicable.

また、ヒト凍結肝細胞を用いて、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 の MMB の代謝における寄与率を検討した（AD-352-2021）。その結果、CYP3A［寄与率（fm）：0.36］＞CYP2C8、CYP2C19、CYP2C9（fm：0.16～0.2）＞CYP1A2（fm：0.1）が関与すること示された。ヒト肝細胞における M21 の生成には、CYP による生体内変換とそれに続く AO による代謝が関与していた。M21 の生成に関与する CYP 分子種は MMB の代謝に関与するものと同じであったが、MMB の代謝に対する寄与に比べて、CYP1A2 の M21 の生成に対する寄与はより大きく（fm：約 0.2）、CYP2C9 はより小さかった（fm：約 0.1）（表 2.6.4-18）。MMB の in vivo 代謝における CYP3A 及び他の CYP 分子種の関与については 2.7.2 に示す。

表 2.6.4-18 ヒト肝細胞における MMB の代謝及び M21 の生成に対するヒト CYP 分子種の相対的寄与率

Enzyme	Normalized Fraction of Metabolism (%)	
	MMB Metabolism	M21 Formation
CYP1A2	8.8	22.5
CYP2B6	0	0
CYP2C8	19.3	22.2
CYP2C9	16.7	8.4
CYP2C19	19.0	22.9
CYP2D6	0	0
CYP3A	36.2	24.1

Source: AD-352-2021

2.6.4.5.2. In vivo

2.6.4.5.2.1. 血漿中代謝物

マウス、ラット及びイヌに ^{14}C-MMB を単回経口投与したときの MMB の代謝について検討した（8290927、8290928、8290930）。

ヒト、ラット及びイヌ血漿中の MMB 及び代謝物の相対的な曝露量を表 2.6.4-19 に、MMB の推定代謝経路を図 2.6.4-2 に示す。主要な代謝経路は酸化及び加水分解であった。代謝物プロファイリングの結果、種を越えて存在する主要な代謝物は、M19（MMB のアミド加水分解体）、M20（モルフォリノ開裂体）及び M21（モルフォリノラクタム体）であった。その他の代謝物としては、M8、M16 及び M17 が認められた。

MMB のヒト代謝物（M8、M17、M19、M20 及び M21）について、定常状態における血漿中曝露量を評価した（1668-021）。プール血漿試料は、ヒトに MMB の 300 mg/日を 1 日 1 回投与したときの試験 28 日の試料［カプセル投与、第 I/II 相試験（CCL09101 試験）］、ラットに 17 及び 68 mg/kg/日を 1 日 1 回、13 週間経口投与したときの試験 91 日の試料（1668-009）並びにイヌに 51.2 mg/kg/日を 1 日 1 回、13 週間経口投与したときの試験 91 日の試料（1668-011）を用いて、ハミルトンプール法[Gao, 2010; Hamilton, 1981]に従って調製した。なお、MMB の 300 mg をカプセル投与したときの曝露量は、第 III 相臨床試験における 200 mg の錠剤投与時と同程度であった（2.7.1）。

表 2.6.4-19 に示したプール血漿試料間の代謝物の相対量は、動物種間における代謝物の相対曝露量を表している。M19 はヒト血漿よりもイヌ及びラット血漿中で多く、M17 及び M20 はヒト血漿よりもラット血漿中で多かった。ヒト血漿中 M21 は、20 mg/kg 投与時のラット血漿よりも 4.5 倍多く、80 mg/kg 投与時のラット血漿よりも 2.1 倍多かった。M21 はイヌ血漿中に検出されず、M8 はラット又はイヌ血漿中に検出されなかった。しかしながら、M8 はラット単回投与 PK 試験（AD-352-2025）において血漿中に検出されたことから、M8 はヒト特異的代謝物ではないことが確認された。検討した 6 種の代謝物のうち、M8 及び M21 の曝露量は、ラット又はイヌと比較してヒトで顕著に大きかった。

代謝物 M21 のヒト血漿中 AUC が MMB 由来の総 AUC の 10%超であり、また、M8 及び M19 の AUC が MMB の AUC の 25%超であったことから、M8、M19 及び M21 が CYP 及びトランスポーターを介した DDI を引き起こす可能性について in vitro で検討した。これらの試験成績については 2.6.4.7 に示す。

表 2.6.4-19　　ラット又はイヌとヒトの血漿中 MMB 及び代謝物の比較

Species	MMB	M8	M17	M19	M20	M21
Dog (60 mg/kg) to human (300mg[a])	1.22	NF	0.05	3.16	NF	NF
Rat (20 mg/kg) to human (300mg[a])	13.08	NF[b]	32.23	11.48	4.61	0.22
Rat (80 mg/kg) to human (300mg[a])	24.35	NF	183	33.02	10.58	0.47

Source: 1668-021
NF=Not found.
a = The 300 mg capsule presentation was determined to be equivalent to the final drug product（200 mg tablet) in a human bioequivalence study (2.7.1).
b = M8 was detected in plasma from a rat single-dose study (AD-352-2025).

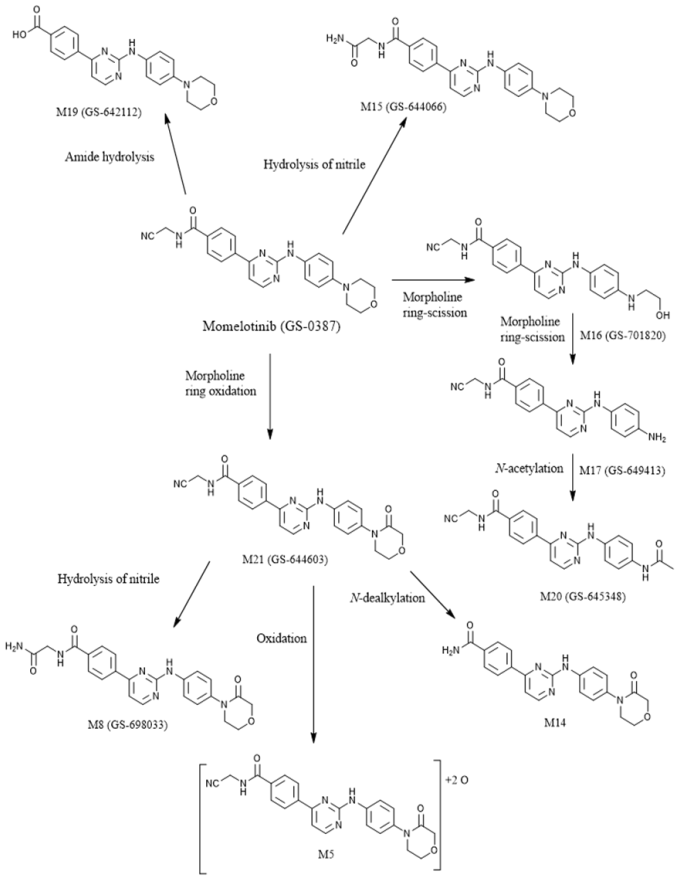


図 2.6.4-2　　MMB の推定代謝経路

Source: 8290927, 8290928, 8290930

MMB が M19 に加水分解されると、同時にアミノアセトニトリルが生成し、これが代謝を受けてシアン化物を生成し、更にチオシアン酸塩が生成する。そのため、in vivo での MMB 投与後の代謝過程においてシアン化物が放出される可能性がある（図 2.6.4-3）。そこで、この代謝過程が検出可能か否かについて検討した。その結果、ラットを用いた in vitro 及び in vivo 試験の結果から、MMB のアミド結合の開裂が低レベルで生じ、それによって in vivo でシアン化物が生成することが確認された（CRX09001）。ラット及びイヌの毒性試験におけるチオシアン酸塩の濃度については、2.6.6 で考察する。

アミノアセトニトリル、シアン化物及びチオシアン酸塩の総濃度は、図 2.6.4-3 に基づくと、M19 濃度と同程度と考えられる。MMB の in vitro 及び in vivo プロファイリングの結果、ラット及びイヌでは、M19 を生成するアミド結合の開裂が主要な代謝経路であるが、ヒトでは主要な代謝経路ではなく、ヒトでの曝露量については安全性上のリスクが低いことが示された。

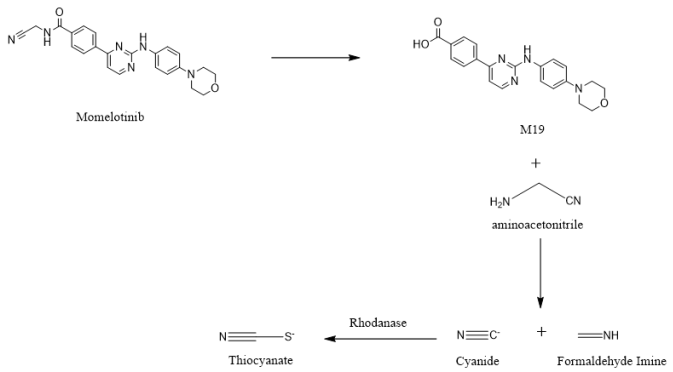


図 2.6.4-3 MMB によるシアン化物及びチオシアン酸塩の生成

Source: CRX09001

2.6.4.6. 排泄

無処置雄 CD-1 マウス、並びに無処置又は胆管カニュレーションを施した SD ラット及びビーグル犬に ^{14}C-MMB を単回経口投与した後の放射能の排泄量及び経路を評価した（8290926、8290929、8290931）。

採取期間（1 週間）中の累積排泄量を表 2.6.4-20 に示す。放射能の平均累積総回収率は、いずれの動物種でも 91%超であり、そのほとんどが投与後 48 時間以内に回収された。無処置動物における排泄経路は動物種間で一致しており、主に糞中（投与量の 70%超）であり、尿中（投与量の 15%未満）はわずかであった。胆管カニュレーションを施したラット及びイヌにおける胆汁中への排泄は、投与量のそれぞれ 33 及び 42%であった。

表 2.6.4-20 マウス、ラット及びイヌに ^{14}C-MMB を単回経口投与後の放射能の累積回収率

Species / Dose	Collection Time (h)	Cumulative Recovery of Radioactivity (%Dose)				
		Urine	Feces	Bile	Carcass (residual)	Total Excreta[a]
Mouse[b]	0-24	5.0	75.6	NA	NA	NA
100 mg/kg	0-48	5.6	89.0	NA	NA	NA
(300 µCi/kg)	0-168	5.8	90.7	NA	0.7	98.2
Intact Rat[c]	0-24	13.2 ± 1.7	62.6 ± 6.6	NA	NA	NA
15 mg/kg	0-48	13.9 ± 1.8	75.1 ± 3.4	NA	NA	NA
(100 µCi/kg)	0-168	14.1 ± 1.8	77.2 ± 3.3	NA	4.1± 0.8	96.1 ± 0.8
BDC Rat[c]	0-24	15.2 ± 2.9	36.9 ± 12.3	29.2 ± 2.2	NA	NA
15 mg/kg	0-48	16.2 ± 3.5	42.9 ± 8.7	31.7 ± 3.4	NA	NA
(100 µCi/kg)	0-168	16.6 ± 3.7	44.3 ± 8.0	33.0 ± 4.0	2.0 ± 0.6	96.8 ± 0.7
Intact Dog[c]	0-24	9.0 ± 5.2	45.9 ± 31.8	NA	NA	NA
20 mg/kg	0-48	9.3 ± 5.2	69.7 ± 5.4	NA	NA	NA
(10 µCi/kg)	0-168	9.6 ± 5.1	70.8 ± 5.3	NA	NA	91.2 ± 2.5
BDC Dog[c]	0-24	2.4 ± 1.1	45.2 ± 4.0	40.4 ± 6.5	NA	NA
20 mg/kg	0-48	2.6 ± 1.1	47.3 ± 4.6	41.3 ± 6.3	NA	NA
(10 µCi/kg)	0-168	2.8 ± 1.2	47.5 ± 4.5	41.5 ± 6.3	NA	94.4 ± 1.2

Source: 8290926, 8290929, 8290931
BDC = Bile-duct cannulated, NA = Not applicable.
a = Total recovery of radioactivity in excreta included cage rinses, cage wash, cage wipe, bile cannula rinse, and jacket rinse.
b = n=2.
c = n=3.

2.6.4.7. 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1. MMB の曝露量に及ぼす影響（被相互作用薬の可能性）

2.6.4.7.1.1. MMB 及び M21 が P-gp 及び BCRP の基質となる可能性

P-gp 及び BCRP を過剰発現するイヌ腎尿細管上皮細胞由来細胞株（MDCKII）及び野生型 MDCKII 細胞を用いて、MMB、M8、M19 及び M21 が P-gp 及び BCRP の基質となる可能性について in vitro で検討した（AD-352-2013、AD-352-2022、AD-352-2014、AD-352-2016）。

MMB（10 μM）及び M21（1 μM）は in vitro でヒト P-gp 及び BCRP の基質であった。MMB と M21 の排出比は、野生型 MDCKII 細胞と比較して P-gp 及び BCRP 過剰発現細胞で増加した。また、P-gp 及び BCRP の輸送を受けることと一致して、既知の P-gp 及び BCRP 阻害薬の存在下で排出比は減少した（表 2.6.4-21）。

M8（1 μM）は P-gp 及び BCRP のいずれの基質でもなかった。M19（1 μM）は BCRP の基質であったが、P-gp の基質ではなかった。

表 2.6.4-21 P-gp 又は BCRP 過剰発現 MDCK II 細胞及び野生型 MDCK II 細胞における MMB、M8、M19 及び M21 の透過性

Papp ($\times 10^{-6}$ cm/sec)						
Analyte		Wild Type MDCKII	P-gp Overexpressing MDCKII		BCRP Overexpressing MDCKII	
			- Inhibitor	+ Inhibitor[a]	- Inhibitor	+ Inhibitor[b]
MMB	Papp (A→B)	12.3	7.9	17.3	7.5	19.9
	Papp (B→A)	17.0	39.8	27.1	33.2	30.6
	Efflux Ratio	1.4	5.0	1.6	4.4	1.5
M8	Papp (A→B)	1.5	0.5	0.4	0.6	0.9
	Papp (B→A)	1.5	0.6	0.4	0.8	0.9
	Efflux Ratio	1.0	1.0	0.9	1.3	1.1
M19	Papp (A→B)	52.4	41.9	43.7	16.5	38.2
	Papp (B→A)	24.0	27.2	24.1	42.1	36.2
	Efflux Ratio	0.5	0.6	0.6	2.5	0.9
M21	Papp (A→B)	2.5	1.3	3.2	1.5	2.2
	Papp (B→A)	4.6	11.0	3.2	12.0	13.9
	Efflux Ratio	1.8	8.1	1.0	8.1	6.3

Source: AD-352-2013, AD-352-2022, AD-352-2014, AD-352-2016
a = Cyclosporin A (10 μM).
b = Ko134 (10 μM).

2.6.4.7.1.2. MMB、M8、M19 及び M21 が肝取り込みトランスポーターの基質となる可能性

トランスポーター発現及び非発現のチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）を用いて、MMB、M8、M19 及び M21 がヒト肝薬物取り込みトランスポーターの基質か否かを検討するため、既知の取り込み阻害薬の非存在下又は存在下で in vitro 試験を実施した（AD-352-2018、AD-352-2029、AD-352-2019）。

MMB、M19 及び M21（各 1 μM）は、ヒト OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であった（表 2.6.4-22）。M8 は OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。MMB、M8、M19 及び

M21 の取り込み速度は、トランスポーター非発現 CHO 細胞と比較して、OATP1B1 を過剰発現する CHO 細胞で、それぞれ 1.5、0.93、1.7 及び 1.5 倍高く、OATP1B3 を過剰発現する CHO 細胞では、それぞれ 1.8、1.1、2.3 及び 1.4 倍高かった。OATP1B1/1B3 の強力な阻害薬であるリファンピシンは、OATP1B1 発現細胞では MMB、M8、M19 及び M21 の取り込みをそれぞれ 25、0、17 及び 29%、OATP1B3 発現細胞ではそれぞれ 29、0、10 及び 33%減少させた。

ヒトでは、リファンピシンの単回併用投与により、MMB の血漿中曝露は有意に増加した（2.7.2）。しかしながら、リファンピシンの反復併用投与時は MMB 血漿曝露量が低下したことから、MMB の体内動態はリファンピシン反復投与による CYP3A/CYP2C8/CYP2C19 及び P-gp/BCRP 誘導の影響を受けることが示唆された。

Organic cation transporter（OCT）1 発現細胞において、非発現細胞と比較して MMB、M19 及び M21 のトランスポーター依存的な増加が認められなかった（1.2 倍未満）ことから、これらは OCT1 の基質ではないと考えられた（表 2.6.4-23）。

表 2.6.4-22　トランスポーター発現 CHO 細胞及び非発現 CHO 細胞における MMB、M8、M19 及び M21 の取り込み速度

Analyte	Assay Condition	Uptake Rate (pmol/minute/1.0 × 10^6 cells)		
		Wild Type	OATP1B1	OATP1B3
MMB	- Inhibitor	8.8	12.9	15.5
	+ Inhibitor[a]	8.9	9.7	11.0
M8	- Inhibitor	1.5	1.4	1.6
	+ Inhibitor[a]	1.6	1.4	1.4
M19	- Inhibitor	0.7	1.2	1.6
	+ Inhibitor[a]	0.8	0.9	1.1
M21	- Inhibitor	7.8	11.8	10.9
	+ Inhibitor[a]	8.8	9.8	9.8

Source: AD-352-2018, AD-352-2029
a = Rifampin (40 μM).

表 2.6.4-23　OCT1 発現細胞における MMB、M19 及び M21 の取り込み

^{14}C-MMB		M19		M21	
Conditions	Fold Accumulation Compared to WT Cells	Conditions	Fold Accumulation Compared to WT Cells	Conditions	Fold Accumulation Compared to WT Cells
1 μM for 2 min	0.92	1 μM for 2 min	1.0	0.5 μM for 2 min	1.17
1 μM for 20 min	0.90	1 μM for 20 min	0.61	0.5 μM for 20 min	1.06
10 μM for 2 min	1.0	10 μM for 2 min	1.07	5 μM for 2 min	1.0
10 μM for 20 min	0.94	10 μM for 20 min	0.57	5 μM for 20 min	0.83

Source: AD-352-2019

2.6.4.7.2. 併用薬の曝露量に及ぼす影響（相互作用薬の可能性）

2.6.4.7.2.1. CYP に対する阻害

ヒト肝ミクロソームを用いて、MMB 並びに M8、M19 及び M21 が CYP 阻害により他剤の代謝に影響を及ぼす可能性を検討した（AD-352-2010、CDCO_Cytopia_07_012）。各主要 CYP 分子種に対する特異的基質を複数の濃度の MMB 存在下でインキュベートし、代謝物の生成量を LC-MS 法により測定した。MMB の IC50 は、代謝物の見かけの生成速度の減少率によって評価した。

また、これらの化合物がヒト CYP の不可逆的阻害薬である可能性について検討するため、2 段階のインキュベーションを行った。第 1 段階では、基質の添加前に補酵素として NADPH 存在下又は非存在下でプレインキュベーションを行い、第 2 段階で残存酵素活性を測定した。酵素特異的代謝物は LC-MS により測定した（AD-352-2010）。

MMB は CYP2B6 の弱い可逆的阻害薬（IC50=9.6 μM）であったが、他のいずれの CYP 分子種の阻害薬ではなかった（IC50≥28.7 μM）。M8、M19 及び M21 は CYP 分子種を阻害しなかった（いずれも IC50>100 μM）（表 2.6.4-24）。

MMB、M8、M19 及び M21 の CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4）に対する阻害は、25 μM（検討した最高濃度）において、時間又は補酵素依存的ではなかった（表 2.6.4-25）。

これらの結果は、in vivo で MMB、M8、M19 及び M21 が主要な CYP 分子種の阻害を介して DDI を引き起こす可能性は低いことを示している。

表 2.6.4-24 MMB、M8、M19 及び M21 の CYP 阻害能

	IC50 (μM)			
Enzyme	MMB	M8	M19	M21
CYP1A2	28.7	> 100	> 100	> 100
CYP2B6	9.6	> 100	> 100	> 100
CYP2C8	73	> 100	> 100	> 100
CYP2C9	> 30	> 100	> 100	> 100
CYP2C19	> 30	> 100	> 100	> 100
CYP2D6	> 30	> 100	> 100	> 100
CYP3A4[a]	> 30	> 100	> 100	> 100
CYP3A4[b]	> 30	> 100	> 100	> 100

Source: AD-352-2010, CDCO_Cytopia_07_012
a = Assayed with midazolam 1'-hydroxylase activity.
b = Assayed with testosterone 6β-hydroxylase activity.

表 2.6.4-25 MMB 及び代謝物による主要ヒト肝 CYP 分子種の時間及び補酵素依存的阻害（%変化率）

	% Change Value (Mean ± SD)[a]			
Enzyme	MMB	M8	M19	M21
CYP1A2	2.2 ± 11.9	-0.2 ± 8.3	-10.0 ± 12.5	-1.7 ± 10.3
CYP2B6	3.6 ± 4.4	-1.6 ± 10.9	-4.4 ± 14.0	1.9 ± 12.5
CYP2C8	17.0 ± 7.7	3.0 ± 12.0	3.7 ± 7.2	-2.5 ± 14.3
CYP2C9	0.2 ± 10.1	0.7 ± 12.6	-4.7 ± 14.3	-1.7 ± 7.9

Enzyme	% Change Value (Mean ± SD)[a]			
	MMB	M8	M19	M21
CYP2C19	-4.3 ± 13.0	2.3 ± 10.4	-2.7 ± 3.2	11.3 ± 12.8
CYP2D6	1.2 ± 9.0	0.0 ± 13.0	5.1 ± 10.6	3.3 ± 11.9
CYP3A4[b]	17.2 ± 5.6	0.5 ± 7.2	-0.2 ± 2.9	2.1 ± 6.6
CYP3A4[c]	-6.1 ± 8.3	2.4 ± 11.8	0.5 ± 8.6	-1.5 ± 5.8

Source: AD-352-2010
a = Four duplicate points. Threshold for mechanism-based inhibition is >30%
b = Assayed with midazolam 1'-hydroxylase activity.
c = Assayed with testosterone 6β-hydroxylase activity.

2.6.4.7.2.2. UGT に対する阻害

ヒト UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9 及び UGT2B7 を含むミクロソームを用いて、MMB、M8、M19 及び M21 が抱合酵素を阻害する可能性を検討した（AD-352-2027）。MMB による UGT の阻害は、UGT1A1 及び UGT1A9（それぞれ IC50 が 0.9 及び 4.2 μM）を除き、すべての UGT に対して弱い又は検出不可であった（IC50≥43.9 μM）（表 2.6.4-26）。3 種の代謝物による阻害は、M21 による UGT1A1 阻害（IC50=15.9 μM）を除き、すべての UGT に対して弱かった又は検出不可であった（IC50≥39.8 μM）。MMB は、ヒト UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6 又は UGT2B7 の阻害を介した DDI を引き起こさないと考えられる。また、臨床における MMB の血漿中濃度から、UGT1A9 基質との DDI の可能性も低いと考えられる。MMB 及び UGT1A1 基質の間で DDI が生じる可能はあるが、M21 による阻害を介した DDI が生じる可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-26 MMB、M8、M19 及び M21 による UGT 阻害の評価

Enzyme	IC50 (μM)			
	MMB	M8	M19	M21
UGT1A1	0.9	47.5	> 100	15.9
UGT1A3	43.9	> 100	> 100	> 100
UGT1A4	45.6	83.9	39.8	88.4
UGT1A6	> 100	> 100	> 100	> 100
UGT1A9	4.2	> 100	> 100	> 100
UGT2B7	> 100	> 100	> 100	> 100

Source: AD-352-2027

In vitro 受容体結合試験において、UGT1A1 に対する MMB の IC50 は 0.3 μM であった（2.6.2.3.1）。

臨床において意義のある間接型（非抱合型）ビリルビン（典型的な UGT1A1 基質）の増加は認められなかったことから、MMB を他の UGT1A1 基質と併用投与した場合に明らかな DDI が生じる可能性は低いことが示唆された（2.7.2）。

2.6.4.7.2.3. CYP 及び薬物トランスポーターの誘導能

サンドイッチ培養した 3 名のドナー由来のヒト凍結肝細胞を用いて、MMB、M8、M19 及び M21 が薬物代謝酵素及びトランスポーターを誘導する可能性を in vitro で評価した（60N-

1687）。陽性対照では想定通りの mRNA レベルの増加がみられ、試験のインキュベーション条件が妥当であることが確認された。

各化合物の細胞毒性の限界濃度まで検討した結果、MMB 及び代謝物は CYP3A4、CYP2C8、CYP2C9 及び P-gp の mRNA レベルに有意な変化を誘発しなかった。CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19 及び UGT1A1 の mRNA レベルに有意な増加（2 倍以上）が散発的にみられたが、3 ドナーで一貫した変化は認められなかった。いずれのドナーにおいても CYP1A2 又は CYP2B6 活性の有意な増加はいずれの濃度でもみられず、この結果の相違の理由は不明であった。ヒト血漿に対する結合が中等度であることを考慮すると、MMB が経口投与後の血漿中濃度において臨床的に意義のある誘導が生じる可能性は低いと考えられる。

ミダゾラム（CYP3A のプローブ基質）の臨床 PK に対する MMB の影響については、2.7.2 に示す。

2.6.4.7.2.4. トランスポーターに対する阻害

モデル基質を用いたトランスポーター発現細胞及び膜小胞における MMB、M8、M19 及び M21 によるトランスポーターの阻害を in vitro で評価した（OPT-2012-066、OPT-2012-086、OPT-2012-126、AD-352-2015、AD-352-2017、AD-352-2019、AD-352-2023、AD-352-2030）。

MMB（15 μM）は in vitro で P-gp、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3 及び Bile salt export pump（BSEP）を介するプローブ基質の輸送を阻害しなかった（表 2.6.4-27）。MMB（0.7～72 μM）は BCRP を阻害した（IC50＝2.9 μM）。また、MMB は最高濃度（10 μM）で MATE1 を介する輸送を 34%阻害した。

臨床においても、BCRP 基質であるロスバスタチンを用いた検討により MMB が BCRP を阻害することが示されている（2.7.2）。

M8 は、最高濃度（50 μM）まで、P-gp 又は BCRP を介する輸送の濃度依存的な阻害を示さなかった。M8 は OATP1B1 を阻害し（IC50＝29.6 μM）、最高濃度（40 μM）で OATP1B3 を介する輸送を 30%阻害した。また、M8 は OCT1 及び MATE1 を介する輸送を阻害し（IC50 はそれぞれ 30 及び 24 μM）、40 μM で OCT2 及び OAT1 を介する輸送を最大 27%阻害した。M8 は 40 μM まで OAT3 又は BSEP を介する輸送を阻害しなかった。

M19 は最高濃度（10 μM）で P-gp 及び BCRP を介する輸送を阻害しなかった（IC50>10 μM）。M19 は濃度依存的に OATP1B1 及び OATP1B3 を阻害した（IC50 はそれぞれ>10 及び 8.0 μM）。M19 は最高濃度で BSEP 及び OAT1 を介する輸送をそれぞれ 16 及び 18%阻害した。OAT3、OCT1、OCT2 及び MATE1 に対する濃度依存的な阻害は最高濃度まで認められなかった。

M21 は最高濃度（10 μM）で P-gp 及び BCRP を介する輸送を阻害しなかった。M21 は濃度依存的に OATP1B1 及び OATP1B3 を阻害した（IC50 はそれぞれ 8.4 及び 8.5 μM）。M21 は最高濃度で OCT1、OCT2 及び BSEP を介する輸送をそれぞれ 21、15 及び 19%阻害した。M21 による OAT1 及び OAT3 の濃度依存的な阻害は最高濃度（10 μM）まで認められなかった。M21 は MATE1 を介する輸送を濃度依存的に阻害した（IC50＝2.4 μM）。

表 2.6.4-27 トランスポーターに対する MMB、M8、M19 及び M21 の阻害能

Transporter	MMB		M8		M19		M21	
	% Inhib (max conc. tested)	IC50 (μM)	% Inhib (max conc. tested)	IC50 (μM)	% Inhib (max conc. tested)	IC50 (μM)	% Inhib (max conc. tested)	IC50 (μM)
P-gp	12% (15 μM)	> 15	< 5% (50 μM)	> 50	< 5% (10 μM)	> 10	< 5% (10 μM)	> 10
BCRP	110% (72 μM)	2.9	< 5% (50 μM)	> 50	< 5% (10 μM)	> 10	6% (10 μM)	> 10
OATP1B1	6% (15 μM)	> 15	60% (40 μM)	29.6	45% (10 μM)	> 10	55% (10 μM)	8.4
OATP1B3	< 5% (15 μM)	> 15	30% (40 μM)	> 40	58% (10 μM)	8.0	55% (10 μM)	8.5
OCT1	16% (15 μM)	> 15	60% (40 μM)	30	5% (10 μM)	> 10	21% (10 μM)	> 10
BSEP	< 5% (15 μM)	> 15	< 5% (40 μM)	> 40	16% (10 μM)	> 10	19% (10 μM)	> 10
OCT2	< 5% (15 μM)	> 15	27% (40 μM)	> 40	< 5% (10 μM)	> 10	15% (10 μM)	> 10
MATE1	34% (10 μM)	> 10	61% (40 μM)	24	< 5% (10 μM)	> 10	78% (10 μM)	2.4
OAT1	< 5% (15 μM)	> 15	27% (40 μM)	> 40	18% (10 μM)	> 10	< 5% (10 μM)	> 10
OAT3	5% (15 μM)	> 15	< 5% (40 μM)	> 40	< 5% (10 μM)	> 10	< 5% (10 μM)	> 10

Source: OPT-2012-066, OPT-2012-086, OPT-2012-126, AD-352-2015, AD-352-2017, AD-352-2019, AD-352-2023, AD-352-2030
Conc.=concentration; inhib=inhibition; max=maximum.

2.6.4.8. その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1. 併用 PK 試験

がん原性試験における投与条件を検討するため、雄 SD ラット（3 例／群）に MMB 及び M21 を単回併用経口投与した（AD-352-2020）。

MMB 及び M21 の血漿中 AUC は投与量の増加に伴って増加した（表 2.6.4-28）

表 2.6.4-28 雄ラットに MMB 及び M21 を併用経口投与したときの血漿中 MMB 及び M21 の PK パラメータ（平均値±標準偏差）

Dose (mg/kg)		MMB		M21	
MMB	M21	Cmax (ng/mL)	AUC0-24 h (ng•h/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC0-24 h (ng•h/mL)
5	5	4034 ± 386	44978 ± 6022	61.2 ± 16.1	665 ± 20
15	5	14125 ± 2942	108481 ± 19277	52.0 ± 22.4	722 ± 239
5	10	5218 ± 625	54746 ±13218	93.7 ± 30.4	1165 ± 305
5	25	5947 ± 1437	34870 ± 3039	228 ± 62	2331 ± 322

Source: AD-352-2020

2.6.4.9. 考察及び結論

MMB の吸収、分布、代謝、排泄及び DDI の可能性について検討するため、一連の in vitro 及び in vivo 試験を実施した。

MMB（二塩酸塩）は、ラット及びイヌにおいて中等度から高度のバイオアベイラビリティを示し、全組織に広く分布したが、血液－脳及び血液－精巣関門の通過性は低かった。

代謝物プロファイリングにより、3 種の主要代謝物（アミド加水分解体 M19、モルフォリノ開裂体 M20 及びモルフォリノラクタム体 M21）が同定された。ヒトでは M21 が循環血漿中の主要代謝物であり、マウス、ラット及びイヌでは M19 が主要代謝物であった。

ヒト肝細胞を用いた in vitro 試験から、複数の CYP 分子種が MMB の代謝に関与していることが示された（順位：CYP3A> CYP2C8、CYP2C19、CYP2C9> CYP1A2）。ヒト肝細胞による M21 の生成には、CYP による生体内変化及びそれに続く AO による代謝が関与していることが示された。MMB の代謝に CYP3A 及び他の CYP 分子種が関与することは、臨床 DDI 試験においてリファンピシン（CYP3A/2C8/2C19 及び P-gp の誘導薬）の反復併用投与により MMB の曝露量が低下したことと一致している。

MMB は P-gp 及び BCRP の基質であった。MMB は肝取り込みトランスポーターOATP1B1 及び OATP1B3 の基質であったが、細胞内への分布は主に受動拡散を介していると考えられる。

In vitro 試験において、MMB 及びその主要なヒト代謝物（M21）が、臨床において観察される血漿中濃度で CYP 並びに大部分の腎及び肝トランスポーターを阻害する可能性は低いことが示された。

MMB の主な消失経路は、肝臓での代謝及びそれに続く胆汁及び糞中への排泄であり、腎排泄はマイナーな消失経路であった。

MMB は in vitro で BCRP の阻害薬であることが示され、このことは臨床試験において確認された（2.7.2）。MMB は in vitro で UGT1A1 の阻害薬であり、UGT 基質の血漿中濃度を増加させる可能性がある。しかしながら、臨床試験において間接型（非抱合型）ビリルビン（典型的な UGT 基質）の有意な増加はみられず、MMB が他の UGT1A1 基質と併用投与された場合に明らかな DDI が生じる可能性は低いことが示唆される（2.7.2）。

また、in vitro 試験において、MMB 及びその主要なヒト代謝物 M21 が、プレグナン X 受容体（PXR）の活性化を介して薬物代謝酵素（CYP 及び UGT）を誘導する可能性は低いことが示唆された。

M21 の in vitro 評価では、MATE1 の阻害（IC50=2.4 μM）を除いて、重要な DDI リスクは確認されなかった。

2.6.4.10. 図表

本文中に記載した。

2.6.4.11. 参考文献

Gao H, Deng S, Obach RS. A simple liquid chromatography tandem mass spectrometry method to determine relative plasma exposures of drug metabolites across species for metabolite safety assessments. Drug Metab Dispos. 2010;38(12):2147-56.

Hamilton RA, Garnett WR, Kline BJ. Determination of mean valproic acid serum level by assay of a single pooled sample. Clin Pharmacol Ther. 1981;29(3):408-13.

2.6.5. 薬物動態試験概要表

2.6.5.1. 薬物動態試験：一覧表

Test Article: MMB

Study Type	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report/Study Number
Absorption				
Bidirectional Permeability Across Caco-2 Cell Monolayers	Caco-2 cells	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2028
Bidirectional Permeability Across Caco-2 Cell Monolayers	Caco-2 cells	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_008
Single-Dose Pharmacokinetics	Swiss mouse	IP, PO	[redacted]	CDCO_Cytopia_06_014
Single-Dose Pharmacokinetics	Swiss mouse	PO	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_019
Single-Dose Pharmacokinetics ^{14}C-MMB	Swiss mouse / rasH2 transgenic mouse	PO	[redacted]	8290926
Single-Dose Pharmacokinetics	001178-W (wild type) mouse	PO	[redacted]	AD-352-2007
Single-Dose Pharmacokinetics	Sprague-Dawley rat	IV, PO	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_026
Single-Dose Pharmacokinetics	Sprague-Dawley rat	IV, PO	[redacted]	CTP0716-CYT-387
Single-Dose Pharmacokinetics	Sprague-Dawley rat	IV, PO	[redacted]	44304-08-341
Single-Dose Pharmacokinetics	Sprague-Dawley rat	PO, IP	[redacted]	CDCO_Cytopia_06_016
Single-Dose Pharmacokinetics	Sprague-Dawley rat	PO	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_017
Single-Dose Pharmacokinetics	Sprague-Dawley rat	PO	[redacted]	AD-352-2025
Single-Dose Pharmacokinetics ^{14}C-MMB	Sprague-Dawley rat	PO	[redacted]	8290931
Single-Dose Pharmacokinetics	Beagle dog	IV, PO	[redacted]	44304-08-245
Single-Dose Pharmacokinetics	Beagle dog	IV, PO	[redacted]	44304-08-267
Single-Dose Pharmacokinetics	Beagle dog	IV, PO	[redacted]	44304-08-340
Single-Dose Pharmacokinetics	Beagle dog	PO	[redacted]	44304-09-351
Single-Dose Pharmacokinetics ^{14}C-MMB	Beagle dog	PO	[redacted]	8290929

Test Article: MMB

Study Type	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report/Study Number
Distribution				
QWBA Tissue Distribution	Sprague-Dawley rat	PO	[redacted]	1668-019
Plasma Protein Binding (MMB, M19, M21)	Plasma (mouse, rat, dog, human)	In vitro	[redacted]	AD-352-2012
Plasma Protein Binding (M8)	Plasma (mouse, rat, dog, human)	In vitro	[redacted]	AD-352-2026
Protein Binding	Human hepatic microsomal fraction	In vitro	[redacted]	AD-352-2031
Protein Binding	Plasma (human)	In vitro	[redacted], AUS	CDCO_Cytopia_07_006
Blood-to-Plasma Ratio	Rat	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_06_004
Blood-to-Plasma Ratio	Rat	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_035
Blood-to-Plasma Ratio	Human	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_038
Brain-to-Plasma Partitioning	Swiss mouse	IV	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_043
Metabolism				
MMB stability in rat whole blood	Rat	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_035
MMB stability in human whole blood	Human	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_038
Metabolic Stability in Rat Liver S9 Fraction	Rat liver S9 fraction	In vitro	[redacted]	13GILEP10
Metabolic Stability in Liver Microsomes and Cryopreserved Hepatocytes	Mouse, rat, dog, monkey, and human liver microsomes; rat, dog, and human hepatocytes	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_015
Metabolic Stability in Liver Microsomes	Rat, dog, monkey, and human liver microsomes	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_030
Metabolism in Cryopreserved Hepatocytes	Rat, dog, and human hepatocytes	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_08_004
Effect of CYP Inhibitor (ABT) on MMB Metabolism	Human liver microsomes	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_025

Test Article: MMB

Study Type	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report/Study Number
Metabolism of MMB by Human CYP Isoforms	Recombinant human CYP isoforms (Supersomes)	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_021
CYP Reaction Phenotyping	Human hepatocytes	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2021
^{14}C-MMB Metabolite Identification in Plasma, Urine, and Feces	Swiss mouse / rasH2 transgenic mouse	PO	[redacted]	8290927
^{14}C-MMB Metabolite Identification in Plasma, Urine, and Feces	Sprague-Dawley rat	PO	[redacted]	8290928
^{14}C-MMB Metabolite Identification in Plasma, Urine, and Feces	Beagle dog	PO	[redacted]	8290930
Comparison of Relative Exposure of Metabolites in Plasma	Rat, dog, and human plasma	PO	[redacted]	1668-021
Metabolic release of cyanide by MMB	Rat	PO	Cytopia	CRX09001
Excretion				
^{14}C-MMB Excretion in Urine and Feces	Swiss mouse / rasH2 transgenic mouse	PO	[redacted]	8290926
^{14}C-MMB Excretion in Bile, Urine, and Feces	Sprague-Dawley rat	PO	[redacted]	8290931
^{14}C-MMB Excretion in Bile, Urine, and Feces	Beagle dog	PO	[redacted]	8290929
PK Drug Interactions				
CYP Inhibition Potential (MMB)	Human liver microsomes	In vitro	[redacted]	CDCO_Cytopia_07_012
CYP Inhibition Potential (MMB, M8, M19, M21)	Human liver microsomes	In vitro	[redacted]	AD-352-2010
UGT Inhibition	Human liver microsomes	In vitro	[redacted]	AD-352-2027
Induction of Metabolism Enzymes (MMB, M8, M19, M21)	Human hepatocyte	In vitro	[redacted]	60N-1687
MMB as a P-gp and BCRP Substrate	P-gp- or BCRP-overexpressing MDCKII cells	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2013

Test Article: MMB

Study Type	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report/Study Number
M19 as a P-gp and BCRP Substrate	P-gp- or BCRP-overexpressing MDCKII cells	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2014
M21 as a P-gp and BCRP Substrate	P-gp- or BCRP-overexpressing MDCKII cells	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2016
M8 as a P-gp and BCRP Substrate	P-gp- or BCRP-overexpressing MDCKII cells	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2022
OATP1B1 and OATP1B3 Substrate (MMB, M19, M21)	Human OATP1B1- or OATP1B3-overexpressing CHO cells	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2018
OATP1B1 and OATP1B3 Substrate (M8)	Human OATP1B1- or OATP1B3-overexpressing CHO cells	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2029
OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, BSEP Inhibition or OCT1 Substrate (MMB, M19, M21)	Transfected cell lines and membrane vesicles	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2019
P-gp and BCRP Inhibition	P-gp- or BCRP-overexpressing MDCKII cells	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2015
OATP1B1 and OATP1B3 Inhibition (M19, M21)	Human OATP1B1- or OATP1B3-overexpressing CHO cells	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2017
P-gp, BCRP, OATP1B1, and OATP1B3 Inhibition (M8)	Overexpressing MDCKII and CHO cells	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2023
Inhibition of Human OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, and BSEP (M8)	Transfected cell lines	In vitro	Gilead Sciences	AD-352-2030

Test Article: MMB

Study Type	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report/Study Number
Inhibition of Transporters (MMB)	Transfected cell lines	In vitro	[redacted]	OPT-2012-066, OPT-2012-086, OPT-2012-126
Other				
Single Co-dosed (MMB, M21) Pharmacokinetics	Sprague-Dawley rat	PO	[redacted] / Gilead Sciences	AD-352-2020

2.6.5.2. 分析法及びバリデーション試験

Study Type	Species	Calibration Ranges	Report/Study Number
FULL VALIDATION OF AN LC-MS/MS ASSAY FOR CYT387 IN K_2EDTA RAT PLASMA	Rat	0.500 to 500 ng/mL	1668-003
PARTIAL VALIDATION OF AN LC-MS/MS ASSAY FOR CYT387 IN K_2EDTA CANINE PLASMA	Dog	0.500 to 500 ng/mL	1668-004
FULL VALIDATION OF AN LC-MS/MS ASSAY FOR GS-0387 AND THE M19 AND M21 METABOLITES IN DOG PLASMA WITH K_2EDTA	Dog	All analytes: 1.00 to 500 ng/mL	814-1410
FULL VALIDATION OF AN LC-MS/MS ASSAY FOR M17, M19, M20, AND M21 METABOLITES IN RAT PLASMA WITH K_2EDTA	Rat	All analytes: 10.0 to 5000 ng/mL	814-1425
CROSS VALIDATION OF AN LC-MS/MS ASSAY FOR GS-0387 IN RAT PLASMA WITH K_2EDTA	Rat	0.500 to 500 ng/mL	814-1432
FULL VALIDATION OF AN LC-MS/MS ASSAY FOR GS-0387 AND METABOLITES M8, M17, M19, M20, AND M21 IN RAT PLASMA WITH K_2EDTA	Rat	MMB: 5.00 to 2500 ng/mL M8, M17, M19, M20, M21: 1.00 to 500 ng/mL	814-1517
Validation of a Method for the Determination of GS-0387-01, GS-642112 (M19), and GS-644603 (M21) in Rabbit Plasma by HPLC with MS/MS Detection	Rabbit	All analytes: 5.00 to 5000 ng/mL	8283423
Partial Validation of a Method for the Determination of GS-0387-01, GS-642112 (M19), and GS-644603 (M21) in Mouse Plasma by HPLC with MS/MS Detection	Mouse	All analytes: 5.00 to 5000 ng/mL	8283424
Validation of a Method for the Determination of GS-0387, GS-642112, and GS-644603 in Rat Plasma by HPLC with MS/MS Detection	Rat	MMB, M19: 5.00 to 5000 ng/mL M21: 0.500 to 500 ng/mL	8342344
Validation of a Method for the Determination of GS-0387-01, GS-642112, GS-645348, GS-644603, and GS-698033 in Mouse Plasma by HPLC with MS/MS Detection	Mouse	MMB, M19: 5.00 to 5000 ng/mL M20, M21: 0.500 to 500 ng/mL M8: 0.500 to 200 ng/mL	8305686

MMB: CYT387, GS-0387, GS-0387-01
M8: GS-698033
M19: GS-642112
M20: GS-645348
M21: GS-644603

2.6.5.3. 薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3A: Bidirectional Permeability of MMB Across Caco-2 Cell Monolayers	**Test Article:** MMB
	Report No.: CDCO_Cytopia_07_008, AD-352-2028

Study System: Caco-2 cell monolayers

Method: Drug transport was assessed over 90 minutes in the apical to basolateral (A→B) and basolateral to apical (B→A) directions. The permeability in both the apical-to-basolateral (A→B) and basolateral-to-apical (B→A) directions was performed by spiking stock solution of MMB into the donor compartment (apical side for A→B transport, basolateral side for B→A transport) and incubating at 37°C for 90 minutes. The experiment was performed in duplicate (10 µM) and quadruplicate (30 µM). Samples were analyzed for MMB by LC-MS or LC-MS/MS.

Incubation Concentration (µM)	**P_{app} ($\times 10^{-6}$cm/sec)**		**Efflux Ratio**
	A→B	**B→A**	
10	16.4	35.1	2.1
30	30.4	27.3	0.9

2.6.5.3B: Swiss Mouse		**Test Article:** MMB		
		Report No.: CDCO_Cytopia_06_014, CDCO_Cytopia_07_019		
Species:	Swiss Mouse	Swiss Mouse	Swiss Mouse	Swiss Mouse
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point:	M/2	M/2	F/3	F/3
Feeding Condition:	Nonfasted	Nonfasted	Nonfasted	Nonfasted
Vehicle/Formulation:	Suspension in 0.1 M Captisol and 5% (v/v) NMP in water	Suspension in 0.1 M Captisol and 5% (v/v) NMP in water	Solution in 0.14 M Captisol and 5% (v/v) NMP in water	Suspension in 0.14 M Captisol and 5% (v/v) NMP in water
Method of Administration:	IP	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage
Dose (mg/kg):	10	10	20	50
Sample:	Plasma	Plasma	Serum	Serum
Analyte:	MMB	MMB	MMB	MMB
Assay:	LC-MS	LC-MS	LC-MS	LC-MS
PK Parameters:				
T_{max} (h)	0.50	0.50	1.0	2.0
C_{max} (ng/mL)	2271	2872	8388	15882
$AUC_{0\text{-}8h}$ (ng•h/mL)	-	-	16034	59893
(time for calculation – h)	-	-	0 - 8	0 - 8
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•h/mL)	4196	4279	-	-
(time for calculation – h)	0 - inf	0 - inf	-	-

2.6.5.3C: Swiss and Transgenic Mouse			**Test Article:** ^{14}C-MMB	
			Report No.: 8290926	
Species:	Swiss Mouse		rasH2 Transgenic Mouse	
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point:	M/3	M/3	M/3	M/3
Feeding Condition:	Nonfasted	Nonfasted	Nonfasted	Nonfasted
Vehicle/Formulation:	1 N HCl in SWFI, pH 1.35 / Solution	1 N HCl in SWFI, pH 1.35 / Solution	1 N HCl in SWFI, pH 1.35 / Solution	1 N HCl in SWFI, pH 1.35 / Solution
Method of Administration:	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage
Dose (mg/kg):	100 (300 µCi/kg)	100 (300 µCi/kg)	100 (300 µCi/kg)	100 (300 µCi/kg)
Sample:	Blood	Plasma	Blood	Plasma
Analyte:	Carbon-14	Carbon-14	Carbon-14	Carbon-14
Assay:	LSC	LSC	LSC	LSC
PK parameters:				
T_{max} (h)	4.0	4.0	1.0	1.0
C_{max} (ng eq/g)	13000	14200	13400	12000
$t_{1/2}$ (h)	11.8	9.12	NC	NC
AUC_{0-t} (ng eq•h/g)	205444	223076	173600	177480
(time for calculation – h)	72	72	24	24
AUC_{0-24h} (ng eq•h/g)	160264	178329	173600	177480
AUC_{0-inf} (ng eq•h/g)	208499	224219	NC	NC

2.6.5.3D: 001178-W (wild type) Mouse					**Test Article:** MMB	
					Report No.: AD-352-2007	
Species:		001178-W Mouse	001178-W Mouse	001178-W Mouse	001178-W Mouse	001178-W Mouse
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point:		M/3	M/3	M/3	M/3	M/3
Feeding Condition:		Nonfasted	Nonfasted	Nonfasted	Nonfasted	Nonfasted
Vehicle/Formulation:		0.05 M HCl in sterile water, pH 1.35 to 1.8 / Solution	0.05 M HCl in sterile water, pH 1.35 to 1.8 / Solution	0.05 M HCl in sterile water, pH 1.35 to 1.8 / Solution	0.05 M HCl in sterile water, pH 1.35 to 1.8 / Solution	0.05 M HCl in sterile water, pH 1.35 to 1.8 / Solution
Method of Administration:		Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage	Oral Gavage
Dose (mg/kg):		10	30	100	300	500
Sample:		Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analytes:		MMB, M19, M20, M21	MMB, M19, M20, M21	MMB, M19, M20, M21	MMB, M19, M20, M21	MMB, M19, M20, M21
Assay:		LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
PK Parameters:						
MMB	T_{max} (h)	1.00	0.50	1.00	2.00	0.50
	C_{max} (ng/mL)	1390 ± 692	3840 ± 1140	7860 ± 598	16100 ± 1270	13000 ± 3980
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	4107	20820	93800	167000	132000
M19	T_{max} (h)	1.00	1.00	8.00	2.00	8.00
	C_{max} (ng/mL)	250 ± 92	519 ± 130	1010 ± 211	1280 ± 64	842 ± 70
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	777	4036	15900	22100	16900
M20	T_{max} (h)	0.50	0.50	1.00	0.50	0.50
	C_{max} (ng/mL)	13.0 ± 5.4	30.3 ± 10.5	47.9 ± 6.1	55.3 ± 30.5	67.4 ± 3.4
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	11.7	93.0	209	426	258
M21	T_{max} (h)	0.50	0.50	1.00	2.00	1.00
	C_{max} (ng/mL)	10.9 ± 3.9	53.1 ± 24.3	110 ± 6	138 ± 22	115 ± 77
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	12.9	145	397	624	631

2.6.5.3E: Rat			**Test Article:** MMB	
			Report No.: CDCO_Cytopia_07_026	
Species:	Sprague-Dawley Rat			
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point:	M/3			
Feeding Condition:	Fasted			
Vehicle/Formulation:	0.14 M Captisol and 5% (v/v) NMP in water / Solution			
Sample:	Plasma			
Analyte:	MMB			
Assay:	LC-MS			
Salt Form:	Free Base			
Method of Administration:	IV		PO	
Dose (mg/kg):	2.5	10	2.5	10
PK Parameters (Mean ± SD):				
$t_{1/2}$ (h)	8.4 ± 1.6	24.5 ± 5.3	3.3 ± ID	16.7 ± 8.4
C_{max} (µM)	-	-	6.0 ± 0.2	20.6 ± 1.0
T_{max} (min)	-	-	120 ± 52	150
Plasma CL (mL/min/kg)	4.3 ± 0.2	3.2 ± 0.5	-	-
V_d (L/kg)	8.6 ± 0.5	6.8 ± 2.0	-	-
$AUC_{0\text{-}inf}$ (µM•min)	1443 ± 195	7663 ± 1359	1579 ± ID	9323± 452
F (%)	-	-	109.2 ± ID	131.9 ± 5.4

2.6.5.3F: Rat		**Test Article:** MMB **Report No.:** CDCO_Cytopia_06_016, CDCO_Cytopia_07_017
Species:	Sprague-Dawley Rat	
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point:	M/2	
Feeding Condition:	Fasted	
Sample:	Plasma	
Analyte:	MMB	
Assay:	LC/MS	
Salt Form:	Free Base	
Method of Administration:	Oral Gavage	
Dose (mg/kg):	20	
Vehicle/Formulation:	0.5% HPMC, 0.5% benzyl alcohol, and 0.4% Tween 80 in water / Suspension	0.14M Captisol and 5% NMP in water / Solution
PK Parameters:		
AUC_{inf} (μM•min)	3443	21102
C_{max} (μM)	6.7	40.4
T_{max} (min)	270	240
$t_{1/2}$ (h)	3.9	2.4
F (%)[a]	18.3	124.3

[a] Oral bioavailability calculated relative to the dose normalized AUC following IV administration of 2 mg/kg MMB free base in study CDCO_Cytopia_06_004.

2.6.5.3G: Rat			**Test Article:** MMB	
			Report No.: CTP0716-CYT-387	
Species:	Sprague-Dawley Rat			
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point:	M/3			
Feeding Condition:	Nonfasted (IV) / Fasted (PO)			
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium chloride injection solution / Solution			
Sample:	Plasma			
Analyte:	MMB			
Assay:	LC-MS			
Method of Administration:	IV	PO		
Salt Form:	Bis-bisulfate	Bis-bisulfate	Mesylate	Dihydrochloride
Dose (mg/kg):	5	20	20	20
PK Parameters (Mean ± SD):				
$t_{1/2}$ (h)	1.57 ± 0.59	1.55 ± 0.15	1.75 ± 0.03	1.72 ± 0.08
C_{max} (μM)	-	21.0 ± 1.1	14.0 ± 4.2	19.9 ± 5.4
T_{max} (h)	-	7.33 ± 1.2	3.33 ± 2.3	3.00 ± 1.73
Plasma CL (L/h/kg)	0.20 ± 0.03	-	-	-
V_d (L/kg)	0.45 ± 0.19	-	-	-
$AUC_{0\text{-}inf}$ (mg•h/L)	25.5 ± 3.7	121.6 ± 10.4	47.8 ± 4.1	71.4 ± 11.7
F (%)	-	119.4 ± 10.2	46.9 ± 4.1	70.1 ±11.4

2.6.5.3H: Rat		**Test Article:** MMB
		Report No.: 44304-08-341
Species:	Sprague-Dawley Rat	
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point:	M/3	
Feeding Condition:	Nonfasted	
Vehicle/Formulation:	Not reported / Solution	
Sample:	Plasma	
Analyte:	MMB	
Assay:	LC-MS/MS	
Salt Form:	Dihydrochloride	
Method of Administration:	IV	PO
Dose (mg/kg):	5	20
PK Parameters (Mean ± SD):		
$t_{1/2}$ (h)	2.15 ± 0.65	0.89 ± 0.23
C_{max} (ng/mL)	-	2990 ± 1145
T_{max} (h)	-	1.67 ± 1.15
Plasma CL (mL/h/kg)	474 ± 40	-
V_{ss} (mL/kg)	804 ± 57	-
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•h/mL)	10596 ± 936	21221 ± 5575
F (%)	-	50.1 ± 13.2

2.6.5.3I: Rat			**Test Article:** MMB	
			Report No.: AD-352-2025	
Species:	Sprague-Dawley Rat			
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point:	M/3			
Feeding Condition:	Fasted			
Method of Administration:	Oral Gavage			
Sample:	Plasma			
Analyte:	MMB, M8, M19, and M21			
Assay:	LC-MS/MS			
Salt Form:	Dihydrochloride			
Vehicle/Formulation:	0.04 M HCl in sterile water / Solution			
Dose (mg/kg):	15			
PK Parameters:				
Analyte:	**MMB**	**M8**	**M19**	**M21**
AUC_{last} (ng•h/mL)	107334 ± 12866	7.8 ± 1.7	4729 ± 902	855 ± 225
(time for calculation – h)	0 - 24	0 - 24	0 - 24	0 - 24
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•h/mL)	148864 ± 50332	9.7 ± 1.5	6391 ± 2151	1058 ± 415
(time for calculation – h)	0 - inf	0 - inf	0 - inf	0 - inf
C_{max} (ng/mL)	11625 ± 3207	2.0 ± 0.4	491 ± 168	64.8 ± 24.0
T_{max} (h)	0.75 ± 0.43	0.25 ± 0.00	1.7 ± 0.6	3.3 ± 2.3

2.6.5.3J: Rat		**Test Article:** ^{14}C-MMB
		Report No.: 8290931
Species:	Sprague-Dawley Rat	
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point:	M/3	
Feeding Condition:	Fasted	
Method of Administration:	Oral Gavage	
Sample:	Blood and Plasma	
Analyte:	Carbon-14	
Assay:	Liquid Scintillation Counting	
Vehicle/Formulation:	0.05 M HCl in SWFI, pH 1.44 / Solution	
Dose (mg/kg):	15 (100 µCi/kg)	
PK Parameters:		
Matrix:	**Blood**	**Plasma**
T_{max} (h)	2	2
C_{max} (ng eq/g)	10200	17300
$t_{1/2}$ (h)	70.8	43.2
AUC_{last} (ng eq•h/g)	110494	177167
(time for calculation – h)	168	168
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng eq•h/g)	115164	179097

2.6.5.3K: Dog			**Test Article:** MMB	
			Report No.: 44304-08-245, 44304-08-267	
Species:	Beagle Dog			
Feeding Condition:	Fasted			
Salt Form:	Bis-bisulfate			
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium chloride injection solution / Solution			
Sample:	Plasma			
Analyte:	MMB			
Assay:	LC-MS/MS			
Method of Administration:	IV[a]	IV[b]	PO[a]	PO[b]
Dose (mg/kg):	5		20	
Sex (M/F)/No. of Animals per Group:	M/3	M/2	M/3	M3
PK Parameters (Mean ± SD):				
$t_{1/2}$ (h)	0.70 ± 0.10	0.95 ± ID	1.47 ± 0.95	0.84 ± 0.24
C_{max} (ng/mL)	-	-	1004 ± 851	1818 ± 1082
T_{max} (h)	-	-	1.67 ± 1.15	1.67 ± 0.58
Plasma CL_{total} (mL/h/kg)	1.9 ± 0.4	1.7 ± ID	-	-
V_{ss} (mL/kg)	1688 ± 113	1819 ± ID	-	-
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•h/mL)	2696 ± 580	3016 ± ID	3978 ± 3243	7649 ± 5029
(time for calculation – h)	0 - inf	0 - inf	0 - inf	0 - inf
F (%)	-	-	36.9	63.4

[a] Study 44304-08-245.
[b] Study 44304-08-267.

2.6.5.3L: Dog			**Test Article:** MMB	
			Report No.: 44304-08-340, 44304-09-351	
Species:	Beagle Dog			
Sex (M/F)/No. of Animals per Group:	M/3			
Salt Form:	Dihydrochloride			
Vehicle/Formulation	0.05 M HCl in sterile water / Solution			
Sample:	Plasma			
Analyte:	MMB			
Assay:	LC-MS/MS			
Method of Administration:	IV[a]	PO[a]	PO[b]	PO[b]
Dose (mg/kg):	5	20		
Feeding Conditions:	Fasted	Fasted	Fasted	Fed
PK Parameters (Mean ± SD):				
$t_{1/2}$ (h)	0.71 ± 0.04	0.86 ± 0.13	1.15 ± 0.20	1.05 ± 0.67
C_{max} (ng/mL)	-	710 ± 259	699 ± 55	714 ± 317
T_{max} (h)	-	1.33 ± 0.58	0.83 ± 0.29	3.00 ± 1.00
Plasma CL_{total} (mL/h/kg)	1761 ± 292	-	-	-
V_{ss} (mL/kg)	2385 ± 169	-	-	-
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•h/mL)	2898 ± 531	2040 ± 869	1708 ± 866	4419 ± 2083
(time for calculation – h)	0-inf	0-inf	0-inf	0-inf
F (%)[c]	-	20.5 ± 6.3	14.7 ± 7.5	38.1 ± 18.0

[a] Study 44304-08-340.
[b] Study 44304-09-351.
[c] Calculated using IV data from study 44304-08-340.

2.6.5.3M: Dog		**Test Article:** ^{14}C-MMB
		Report No.: 8290929
Species:	Beagle Dog	
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point:	M/3	
Feeding Condition:	Fasted	
Method of Administration:	Oral Gavage	
Sample:	Blood and Plasma	
Analyte:	Carbon-14	
Assay:	Liquid Scintillation Counting	
Vehicle/Formulation:	0.05 M HCl in SWFI, pH 1.41 / Solution	
Dose (mg/kg):	20 (10 μCi/kg)	
PK Parameters:		
Matrix:	**Blood**	**Plasma**
T_{max} (h)	4.17	3.17
C_{max} (ng eq/mg)	3040	2430
$t_{1/2}$ (h)	5.12	3.54
AUC_{last} (ng eq•h/mL)	32700	22900
(time for calculation – h)	0 - 168	0 - 168
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng eq•h/mL)	35200	24200

2.6.5.4. 薬物動態試験：反復投与後の吸収

MMB をラット及びイヌにそれぞれ 1 日 1 回 26 及び 39 週間反復経口投与した。これらの試験において MMB 及びその主要な代謝物のトキシコキネティクスを評価し、その結果を 2.6.6.3 に示した。

2.6.5.5. 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1.1. 組織内分布

2.6.5.5A: Pharmacokinetics, Absorption, Distribution, and Excretion of ^{14}C-MMB Following a Single Oral Administration to Rat	**Test Article:** ^{14}C-MMB **Study No.:** 1668-019
Method: Quantitative Whole-Body Autoradiography (QWBA)	
Species: Sprague-Dawley Rat (nonpigmented), Long Evans Rat (pigmented)	
Sex (M/F)/No. of Animals per Time Point: M/1	
Feeding Condition: Fasted	
Vehicle/Formulation: 0.05 M HCl in SWFI, pH 1.39 / Solution	
Method of Administration: Oral Gavage	
Dose: 80 mg/kg (100 µCi/kg)	
Radionuclide: Carbon-14	
Specific Activity: 59.5 mCi/mmol	
Specific Activity of Formulation: 1.1974 µCi/mg	
Analyte/Assay: Carbon-14/QWBA	
Sampling Time (h): 1, 4, 8, 24, 48, 72, 120, 168 (pigmented rat only) and 336 (pigmented rat only) postdose	

Tissues/Organs	**Selected Tissue Concentration of Radioactivity (ng ^{14}C-MMB Equivalent/g Tissue) in Nonpigmented Rats**						
	1 h	**4 h**	**8 h**	**24 h**	**48 h**	**72 h**	**120 h**
Bone	ND	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Adrenal gland	25426	38787	24403	BLQ	BLQ	ND	ND
Blood	9514	18877	9460	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	5016	6436	BLQ	ND	ND	ND	ND
Brain, spinal cord, testis	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	6040	18136	8856	ND	ND	ND	ND
Kidney(s)	18753	32952	21796	BLQ	BLQ	ND	ND
Large intestine	ND	9727	14878	8318	BLQ	ND	ND
Liver	32519	55459	38935	8634	BLQ	BLQ	BLQ
Pancreas	6151	13975	9882	BLQ	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	BLQ	5370	6553	ND	ND	ND	ND

Small intestine	1486573	85193	27569	ND	ND	ND	ND
Stomach	11278	158739	10470	BLQ	ND	ND	ND
Urinary bladder	ND	7199	8833	BLQ	ND	ND	ND
Urine	ND	49286	43878	7969	ND	ND	ND
Uveal tract	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Tissues/Organs	**Selected Tissue Concentration of Radioactivity (ng ^{14}C-MMB Equivalent/g Tissue) in Pigmented Rats**								
	1 h	**4 h**	**8 h**	**24 h**	**48 h**	**72 h**	**120 h**	**168 h**	**336 h**
Bone, brain, spinal cord, testis	BLQ	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Adrenal gland	46898	29871	23291	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	8063	10877	16193	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	BLQ	4812	7659	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye(s)	BLQ	BLQ	11999	4726	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Fat (brown)	5508	11510	10706	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kidney(s)	13887	22152	21528	BLQ	BLQ	ND	ND	ND	ND
Large intestine	BLQ	10118	99915	28976	ND	ND	ND	ND	ND
Liver	33429	51763	37696	9706	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	ND
Pancreas	5235	12869	12770	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (pigmented)	BLQ	13416	19472	29259	21425	12514	6091	10602	ND
Small intestine	24366	71375	47394	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Stomach	58615	55047	30095	BLQ	ND	ND	ND	ND	ND
Urinary bladder	6979	14326	15010	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Urine	31513	130447	78432	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Uveal tract	23878	66042	118618	72851	27454	38524	24470	25575	15770

The limit of quantitation was 4159 ng equivalents ^{14}C-MMB/g.

ND (not discernible from background or surrounding tissue).

2.6.5.6. 薬物動態試験：蛋白結合

2.6.5.6.1. 蛋白結合

2.6.5.6A: Plasma Protein Binding			**Test Article:** MMB, M8, M19, M21	
			Study No.: AD-352-2012, AD-352-2026	
Study System: Plasma from CD-1 Mouse, Sprague-Dawley Rat, Beagle Dog, and Human				
Method: Equilibrium dialysis at 37°C for 3 hours with 2 µM of MMB, M8, M19, M21.				
Species	**Free Fraction (%) (Mean ± SD, n = 3)**			
	MMB	**M8**	**M19**	**M21**
CD-1 Mouse	11.8 ± 0.5	10.9 ± 1.1	21.1 ± 0.8	2.5 ± 0.1
Sprague-Dawley Rat	2.5 ± 0.2	4.8 ± 0.2	3.6 ± 0.1	0.9 ± 0.1
Beagle Dog	19.2 ± 0.7	66.6 ± 3.2	25.3 ± 0.2	32.5 ± 3.7
Human	19.2 ± 0.5	38.0 ± 2.9	12.2 ± 0.2	14.6 ± 0.6

2.6.5.6B: Protein Binding in Human Hepatic Microsomal Fraction			**Test Article:** MMB, M8, M19, M21	
			Study No.: AD-352-2031	
Study System: Human hepatic microsomal fraction				
Method: Pooled human hepatic microsomal fraction was diluted to 0.5 mg protein/mL with 0.1 M potassium phosphate buffer, pH 7.4. Test compounds or quality control (amitriptyline) were added to a final concentration of 3 µM (final DMSO concentration 0.5% v/v). After equilibration overnight at 37°C, the concentrations of compound in the buffer and microsomal fraction were determined by LC-MS/MS.				
Species	**Free Fraction (%) (Mean, n = 2)**			
	MMB	**M8**	**M19**	**M21**
Human	92.7	100	81.5	96.3

2.6.5.6C: Protein Binding in Human Plasma		**Test Article:** CYC11387, CYC11780, CYC11930	
		Study No.: CDCO_Cytopia_07_006	
Study System: Human plasma			
Method: Frozen human plasma samples were incubated with test articles at 37°C for 60 min before separating the plasma proteins from plasma water by ultracentrifugation at 42,000 rpm for 4.2 hours. Test compounds were prepared at 20 and 200 µg/mL in 1:1 v/v mixtures of acetonitrile/water and spiked into samples of human plasma to give nominal plasma concentrations of 200 and 2000 ng/mL and a final acetonitrile concentration of 0.5%. concentration of test compound in supernatant and in uncentrifuged plasma control samples was determined by LC/MS.			
Species	**Free Fraction (%) (Mean, n = 2)**		
	CYC11387	CYC11780	CYC11930
Human	87-92%	93-94 %	93-94 %

2.6.5.6.2. 血液／血漿比

2.6.5.6.D: Blood-to-Plasma Ratio	**Test Article:** MMB
	Study No.: CDCO_Cytopia_06_004, CDCO_Cytopia_07_035, CDCO_Cytopia_07_038
Study System: Blood and plasma from rat and human	
Method: MMB was spiked at a nominal concentration of 500 ng/mL into whole blood and incubated at 37°C for up to 4 or 6 hours. Samples of blood were collected at various time points over the incubation period and were analyzed for MMB by LC-MS.	

Species	**Blood/Plasma Concentration Ratio**
Rat	0.6 – 0.8
Human	1.1

2.6.5.6.3. 脳／血漿比

2.6.5.6.E: Brain-to-Plasma Ratio	**Test Article:** MMB
	Study No.: CDCO_Cytopia_07_043
Study System: Brain and plasma from mouse	
Method: Blood samples and brain tissue were compared at 5 and 60 minutes following IV bolus injection of MMB (4 mice/time point).	

	5 minutes		**60 minutes**	
	MMB	**M19**	**MMB**	**M19**
Brain-to-Plasma Ratio:	0.075 ± 0.026	0.073 (n = 2)	0.215 ± 0.036	0.022 ± 0.015

2.6.5.7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

妊娠 SD ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において、MMB の 2、6 及び 12 mg/kg/日を妊娠 6 日～分娩後 20 日に 1 日 1 回投与した（報告書番号：8307965）。MMB、M19 及び M21 のトキシコキネティクス評価を実施し、その結果を 2.6.7.3 及び 2.6.7.14 に示した。

2.6.5.8. 薬物動態試験：その他の分布試験

実施せず

2.6.5.9. 薬物動態試験：In Vivo における代謝

2.6.5.9.1. 血漿中代謝物

2.6.5.9A: Profiling and Identification of Metabolites in Plasma Samples From Mouse, Rat, and Dog After Oral Administration of ^{14}C-MMB	**Test Article:** MMB
	Report No.: 8290927, 8290928, 8290930
Study System:	Plasma samples collected from mouse, rat, and dog following oral administration of ^{14}C-MMB at 100, 15, and 20 mg/kg, respectively.
Method:	Radioactivity in samples was profiled and metabolites were identified by LC-MS/MS.
The metabolism of ^{14}C-MMB involved oxidation, hydrolysis, N-dealkylation, sulfation, glucuronidation, acetylation, methylation, dimerization, taurine conjugation, and glutathione conjugation. Hydrolysis of the nitrile group was the major pathway. Unchanged MMB in plasma: 60.8% in CD-1 mice, 56.2% in rasH2 mice, 82.4% in SD rats, 43.3% in beagle dogs of total radioactivity exposure postdose. Predominant metabolite in plasma: M19 (22.2% in CD-1 mice, 11.4% in rasH2 mice, 6.87% in SD rats, 54.9% in beagle dogs). M21, the major human plasma metabolite, was detected in mouse and rat plasma only.	

2.6.5.9B: Cross-Species Comparison of Relative Exposures of MMB and Metabolites in Plasma				**Test Article:** MMB		
				Report No.: 1668-021		
Study System: Pooled rat, dog, and human plasma samples obtained from repeat-dose toxicology and clinical studies.						
Method: The identification of metabolites was confirmed by the product ion spectra derived from LC-MS/MS extracted ion chromatograms.						
Species	**M8**	**M17**	**M19**	**M20**	**M21**	**MMB**
Dog to Human	NF[a]	0.05	3.16	NF[a]	NF[a]	1.22
Rat (20 mg/kg) to Human	NF[a]	32.23	11.48	4.61	0.22	13.08
Rat (80 mg/kg) to Human	NF[a]	183	33.02	10.58	0.47	24.35

[a] Peak not found (NF).

2.6.5.10. 薬物動態試験：In vitro における代謝

2.6.5.10A: In Vitro Metabolic Stability of MMB in Human Liver Microsomes in the Presence or Absence of 1-Aminobenzotriazole (ABT)		**Test Article:** MMB	
		Study No.: CDCO_Cytopia_07_025	
Study System: Human liver microsomes			
Method: MMB (0.5 μM) was incubated in human liver microsomes (preincubated in the presence of an NADPH-regenerating system with or without ABT (500 μM) for 60 minutes at 37°C. Samples were quenched at various time points with acetonitrile and analyzed by LC-MS.			
Analyte	**Preincubation Condition**	**Degradation Half-life (min)**	**In Vitro CL_{int} (μL/min/mg protein)**
MMB	Vehicle	192	9.0
	ABT (500 μM)	> 715	< 2.4

2.6.5.10B: In Vitro Metabolic Stability of ^{14}C-MMB With Simultaneous Quantification of Four Metabolites (M11, M17, M19, and M20) in Pooled Aroclor 1254-Induced Rat Liver S9 Fraction	**Test Article:** ^{14}C-MMB
	Study No.: 13GILEP10

Study System: Aroclor 1254-induced rat liver S9 fraction

Method: ^{14}C-MMB (3.5 µM) was incubated in Aroclor 1254-induced rat liver S9 fraction at 37°C for 60 minutes and samples were collected at various time points. Metabolites were detected and quantified using LC-HRAMS and radiometric HPLC methodologies.

Metabolic Stability of ^{14}C-MMB

Replicate	% Remaining of Initial					Half-life[a] (min)	CL_{int} (mL/min/mg protein)
	0 min	10 min	20 min	30 min	60 min		
1	100	67.3[b]	85.8	78.4	55.3	> 60 (73)	< 0.012 (0.0095)
2	100	89.4	81.0	61.7	30.3	39.2	0.0177

Quantification of Metabolites and the Remaining ^{14}C-MMB in Pooled Samples Expressed as % of Radioactivity

Replicate	Quantified Levels (% of Radioactivity)			
	M17	M11	M19, M20	MMB
1	6.0	12.1	8.5	73.4
2	4.5	16.8	7.8	70.9
Average	5.2	14.4	8.1	72.2

Quantified Concentration of MMB and Metabolites in Pooled Samples

Replicate	Quantified Concentrations (µM) Based on Radioactivity			
	M17	M11	M19, M20	MMB
1	0.11	0.22	0.16	1.36
2	0.08	0.30	0.14	1.28
Average	0.10	0.26	0.15	1.32

[a] When calculated half-life was longer than the duration of the experiment, half-life was expressed as greater than the longest incubation time. Calculated half-life is shown in parentheses.

[b] Excluded from calculations as an outlier.

2.6.5.10C: In Vitro Metabolic Stability of MMB in Liver Microsomes and Cryopreserved Hepatocytes in the Presence of NADPH Cofactor	**Test Article:** MMB
	Study No.: CDCO_Cytopia_07_015, CDCO_Cytopia_07_030

Study System: Hepatic microsomes from mouse, rat, dog, monkey, and human; hepatocytes from rat, dog, and human

Method: MMB was incubated between 0.125-10 µM at 37°C in the presence of an NADPH-regenerating system and UDPGA. The final concentration of microsomal protein in the incubations was 0.4 mg/mL.

Species	**In Vitro CL_{int} (mL/min/mg protein)**	**Predicted Hepatic Extraction (%)**
Mouse	0.021	0.48
Rat	0.021	0.41
Dog	0.015	0.41
Monkey	0.014	0.31
Human	0.018	0.50

2.6.5.10D: In Vitro Metabolism of MMB and M19 Formation in Cryopreserved Hepatocytes	**Test Article:** MMB
	Study No.: CDCO_Cytopia_08_004
Study System: Cryopreserved hepatocytes from rat, dog, and human	
Method: MMB was incubated with hepatocyte suspensions at 1 and 10 µM at 37°C for 90 minutes (human) and 80 minutes (rat and dog). Samples were analyzed for MMB and M19 by LC-MS.	

Species	**Concentration (µM)**	**Degradation Half-life (minutes)**	**In Vitro Intrinsic Clearance (µL/min/10^6 viable cells)**	**Hepatocyte Predicted Intrinsic Clearance (L/h/kg)**	**Predicted Hepatic Extraction**
Human	1	131.5	7.0	1.29	0.51
	10	305.9	3.0	0.55	0.31
Dog	1	165.0	9.8	2.26	0.55
	10	732.5	2.2	0.51	0.21
Rat	1	131.2	5.2	1.51	0.31
	10	341.0	2.0	0.58	0.15

Species	**MMB**		**M19**	
	Nominal Initial Concentration (µM)	**Decrease in Concentration[a] (µM)**	**Increase in Concentration[a] (µM)**	**Percent Formation Relative to Loss of MMB**
Human	1	0.61	0.003[b]	0.4[b]
	10	3.12	0.013[b]	0.4[b]
Dog	1	0.43	0.078	18.2
	10	1.19	0.124	10.4
Rat	1	0.49	0.102	20.9
	10	2.05	0.319	15.6

[a] Measurements were taken at the final time points of 90 minutes for human and 80 minutes for rat and dog.

[b] Concentrations detected were below the lowest standard. Values should be considered as an approximation only.

2.6.5.10E: Metabolism of MMB by Recombinant Human CYP Isoforms	**Test Article:** MMB
	Study No.: CDCO_Cytopia_07_021

Study System: Individual recombinant human CYP isoforms (Supersomes)

Method: MMB (0.5 μM) was incubated with Supersomes and necessary cofactor at 37°C. Compounds known to be metabolized by each CYP isoform were used as controls.

Isoform	**$t_{1/2}$ (min)**	**In Vitro CL_{int} (mL/min/nmol CYP)**
Native (no CYP content)	> 200	-
P450 reductase + cytochrome b_5 only	> 200	-
CYP1A2	180	0.051
CYP2A6	101	0.091
CYP2B6	157	0.059
CYP2C9*1(Arg_{144})	118	0.079
CYP2C19	146	0.064
CYP2D6*1	> 200	< 0.045
CYP2E1	> 200	< 0.045
CYP3A4	115	0.080
CYP3A5	> 200	< 0.045

2.6.5.10F: In Vitro Effect of 1-Aminobenzotriazole (ABT) on the Metabolism of MMB in Human Liver Microsomes	**Test Article:** MMB
	Study No.: CDCO_Cytopia_07_025

Study System: Human liver microsomes

Method: Microsomal samples were preincubated with either ABT (500 μM) or a vehicle control for 30 minutes at 37°C in samples containing an NADPH-regenerating system. Following the preincubation, MMB (0.5 μM) was added to the microsomal incubation mixture and samples were quenched at various time points over the 60-minute incubation period by adding acetonitrile. The relative loss of parent compound was determined for all samples by LC-MS.

Preincubation Condition	**$t_{1/2}$ (min)**	**In Vitro CL_{int} (μL/min/mg protein)**
Vehicle	192	9.0
ABT (500 μM)	> 715	< 2.4

2.6.5.10G: In Vitro Metabolism of MMB in Cryopreserved Human Hepatocytes	**Test Article:** MMB
	Study No.: AD-352-2021
Study System: Cryopreserved human hepatocytes	
Method: MMB (5 µM) was incubated with human hepatocytes for up to 6 hours at 37°C. Samples were removed sequentially and quenched by adding a mixture of methanol, acetonitrile, and water. After centrifugation, aliquots of the supernatants were analyzed by LC-MS/MS. The effects of CYP enzyme-specific inhibitors were assessed in some reactions and their effects on the rates of metabolism of positive control substrates for those enzymes were assessed in parallel.	

Effects of CYP Enzyme Selective Inhibitors on Rates of Metabolism of MMB, M21 Formation, and Metabolism of Control Substrates

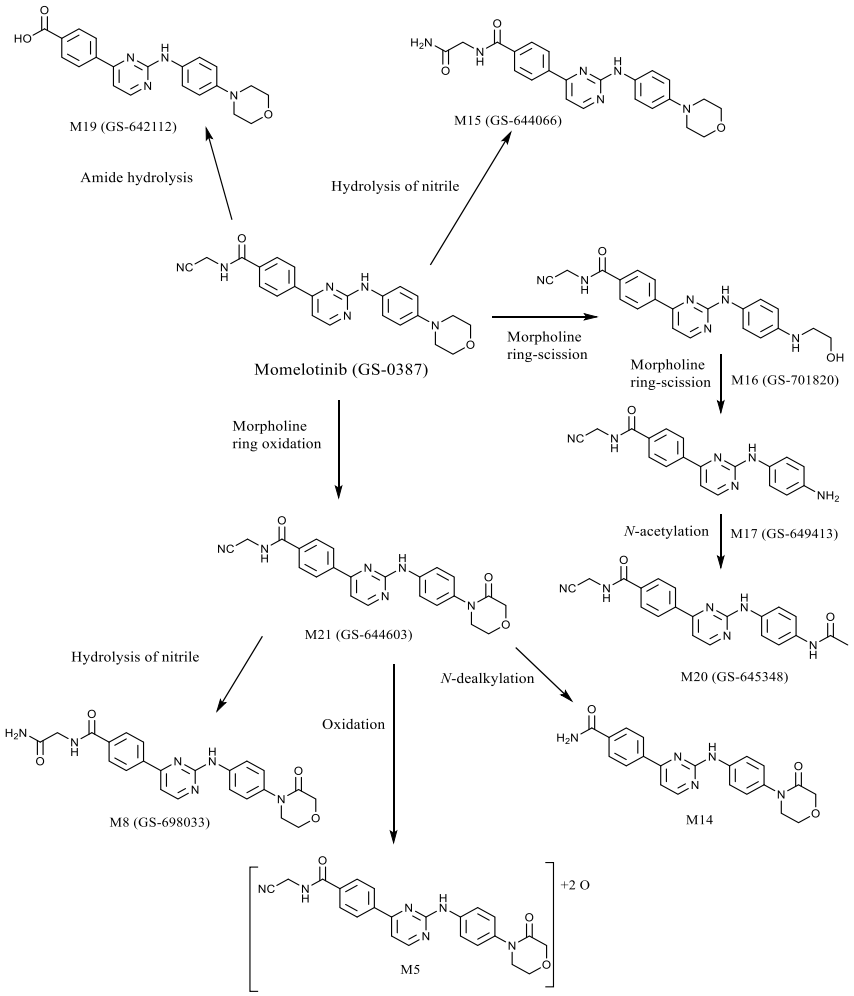
Enzyme	Inhibitor	Rate[a]		Positive Control Substrate	Metabolism Rate[a]
		MMB Metabolism	M21 Formation		
None	None	100 ± 7.2	100 ± 2.1	-	100 ± 4.8
CYP1A2	Furafylline	86.3 ± 5.4	79.3 ± 5.5	Phenacetin	3.2 ± 0.2
CYP2C8	Montelukast	70.2 ± 10.0	79.6 ± 3.6	Amodiaquine	3.2 ± 0.3
CYP2C9	Sulfaphenazole	74.3 ± 9.4	92.3 ± 2.7	Diclofenac	10.6 ± 1.5
CYP2C19	Benzylnirvanol	70.6 ± 8.8	79.0 ± 4.8	S Mephenytoin	6.9 ± 1.0
CYP3A	Ritonavir	44.0 ± 16.7	77.9 ± 4.5	Terfenadine	0.5 ± 0.2
Pan-CYP	ABT	5.5 ± 2.5	8.5 ± 9.9	Midazolam	2.6 ± 0.7

Relative Contributions of Human CYP Enzymes to Metabolism of MMB and Formation of M21

Enzyme	Normalized Fractional Metabolism (%)	
	MMB Metabolism	M21 Formation
CYP1A2	8.8	22.5
CYP2B6	0	0
CYP2C8	19.3	22.2
CYP2C9	16.7	8.4
CYP2C19	19.0	22.9
CYP2D6	0	0
CYP3A	36.2	24.1

[a] Rates normalized to those in the absence of inhibitor.

2.6.5.11. 推定代謝経路



2.6.5.12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12A: In Vitro Assessment of Human Liver Cytochrome P450 Inhibition Potential of MMB, M8, M19, and M21	**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21 **Report No.:** CDCO_Cytopia_07_012, AD-352-2010

Study System: Human liver microsomes

Method: MMB, M8, M19, M21, or control inhibitors were incubated with human liver microsomes and NADPH in the presence of probe substrates for individual enzymes. All assays were conducted under conditions that were linear with respect to time and protein concentration. Probe substrates were present at concentrations equal to or lower than their respective K_m values.

CYP Enzyme	**IC_{50} (µM)**			
	MMB	**M8**	**M19**	**M21**
CYP1A2	28.7	> 100	> 100	> 100
CYP2B6	9.6	> 100	> 100	> 100
CYP2C8	73	> 100	> 100	> 100
CYP2C9	> 30	> 100	> 100	> 100
CYP2C19	> 30	> 100	> 100	> 100
CYP2D6	> 30	> 100	> 100	> 100
CYP3A[a]	> 30	> 100	> 100	> 100
CYP3A[b]	> 30	> 100	> 100	> 100

[a] Assayed with midazolam 1'-hydroxylase activity.

[b] Assay with testosterone 6β-hydroxylase activity.

2.6.5.12B: In Vitro Assessment of Human UDP Glucuronosyl Transferase Inhibition Potential of Momelotinib and Metabolites	**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21
	Report No.: AD-352-2027
Study System: Human liver microsomes containing human UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, and UGT2B7	
Method: Test compounds (each up to 25 µM) or control inhibitors were incubated at 37°C with Supersomes permeabilized with alamethicin (final concentration 25 µg/mg microsomal protein) and UDPGA (final concentration 5 mM). All assays were designed so that conditions were linear with respect to time and protein concentration. Substrates were present at concentrations lower than their respective K_m values.	

Enzyme	**Substrate**	**IC_{50} (µM)**			
		MMB	**M8**	**M19**	**M21**
UGT1A1	Estradiol	0.9	47.5	> 100	15.9
UGT1A3	Sulindac sulfone	43.9	> 100	> 100	> 100
UGT1A4	Trifluoperazine	45.6	83.9	39.8	88.4
UGT1A6	Naphthol	> 100	> 100	> 100	> 100
UGT1A9	Propofol	4.2	> 100	> 100	> 100
UGT2B7	Naloxone	> 100	> 100	> 100	> 100

2.6.5.12C: Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes	**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21
	Report No.: 60N-1687
Study System: Human hepatocytes	
Method: Test articles incubated with cultured human hepatocytes from 3 donors for 72 hours. mRNA expression was determined using standard protocols with primer/probe sets specific for human CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp.	

Donor	**CYP1A2 mRNA Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 µM	1.84 ± 0.12	0.03 µM	1.14 ± 0.03	0.1 µM	1.53 ± 0.12	0.1 µM	1.17 ± 0.21
	0.3 µM	3.16* ± 0.06	0.1 µM	1.09 ± 0.05	0.3 µM	1.81 ± 0.22	0.3 µM	1.62 ± 0.20
	1 µM	4.18* ± 0.30	0.3 µM	1.31 ± 0.14	1 µM	2.10*** ± 0.06	1 µM	1.48 ± 0.09
	3 µM	3.00* ± 0.48	1 µM	0.97 ± 0.12	3 µM	2.53* ± 0.22	3 µM	1.11 ± 0.02
	10 µM	0.48 ± 0.09	3 µM	0.64 ± 0.03	10 µM	3.49* ± 0.73	10 µM	0.02 ± 0.01
2	0.1 µM	0.76 ± 0.12	0.03 µM	0.58 ± 0.10	0.1 µM	0.79 ± 0.10	0.1 µM	0.79 ± 0.16
	0.3 µM	0.99 ± 0.10	0.1 µM	0.80 ± 0.16	0.3 µM	1.22 ± 0.14	0.3 µM	1.04 ± 0.25
	1 µM	1.24 ± 0.07	0.3 µM	1.03 ± 0.31	1 µM	1.19 ± 0.22	1 µM	0.88 ± 0.37
	3 µM	1.08 ± 0.11	1 µM	0.76 ± 0.11	3 µM	1.40 ± 0.15	3 µM	0.48 ± 0.09
	10 µM	0.12 ± 0.02	3 µM	1.04 ± 0.20	10 µM	1.70 ± 0.34	10 µM	0.08 ± 0.01
3	0.1 µM	1.84 ± 0.15	0.03 µM	1.19 ± 0.05	0.1 µM	1.09 ± 0.18	0.1 µM	1.08 ± 0.17
	0.3 µM	2.55* ± 0.49	0.1 µM	1.08 ± 0.09	0.3 µM	1.10 ± 0.27	0.3 µM	1.47 ± 0.10
	1 µM	2.67* ± 0.06	0.3 µM	1.17 ± 0.08	1 µM	1.04 ± 0.27	1 µM	1.99 ± 0.10
	3 µM	2.56* ± 0.11	1 µM	1.03 ± 0.03	3 µM	2.41 ± 0.64	3 µM	2.02 ± 0.14
	10 µM	0.53 ± 0.02	3 µM	1.17 ± 0.08	10 µM	2.10 ± 0.72	10 µM	0.45 ± 0.03

*$p < 0.0001$ from vehicle control.

***$p < 0.00016$ from vehicle control.

2.6.5.12C (cont.): Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes					**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21			
Donor	**CYP2B6 mRNA Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 µM	1.36 ± 0.14	0.03 µM	1.38 ± 0.41	0.1 µM	1.38 ± 0.23	0.1 µM	1.28 ± 0.47
	0.3 µM	2.04 ± 0.31	0.1 µM	0.94 ± 0.12	0.3 µM	1.32 ± 0.17	0.3 µM	1.84 ± 0.15
	1 µM	2.58* ± 0.44	0.3 µM	1.20 ± 0.10	1 µM	1.14 ± 0.19	1 µM	1.24 ± 0.16
	3 µM	2.12 ± 0.35	1 µM	0.53 ± 0.17	3 µM	1.26 ± 0.41	3 µM	0.49 ± 0.15
	10 µM	0.60 ± 0.19	3 µM	0.37 ± 0.03	10 µM	1.97 ± 0.90	10 µM	1.27 ± 0.29
2	0.1 µM	0.82 ± 0.09	0.03 µM	0.79 ± 0.19	0.1 µM	1.11 ± 0.25	0.1 µM	0.93 ± 0.20
	0.3 µM	1.08 ± 0.15	0.1 µM	1.15 ± 0.46	0.3 µM	1.22 ± 0.04	0.3 µM	1.15 ± 0.17
	1 µM	1.40 ± 0.04	0.3 µM	1.02 ± 0.23	1 µM	1.14 ± 0.18	1 µM	1.54 ± 0.16
	3 µM	1.62 ± 0.19	1 µM	1.07 ± 0.01	3 µM	1.20 ± 0.14	3 µM	1.27 ± 0.37
	10 µM	0.77 ± 0.10	3 µM	1.28 ± 0.10	10 µM	1.38 ± 0.00	10 µM	1.10 ± 0.19
3	0.1 µM	1.32 ± 0.21	0.03 µM	1.54 ± 0.58	0.1 µM	1.07 ± 0.11	0.1 µM	1.13 ± 0.53
	0.3 µM	1.57 ± 0.06	0.1 µM	0.69 ± 0.20	0.3 µM	1.16 ± 0.38	0.3 µM	1.11 ± 0.23
	1 µM	1.58 ± 0.16	0.3 µM	1.22 ± 0.37	1 µM	1.06 ± 0.08	1 µM	1.39 ± 0.32
	3 µM	1.84 ± 0.23	1 µM	1.39 ± 0.11	3 µM	1.39 ± 1.05	3 µM	1.35 ± 0.36
	10 µM	0.36 ± 0.08	3 µM	1.29 ± 0.19	10 µM	2.33 ± 0.70	10 µM	1.06 ± 0.27

*$p < 0.0001$ from vehicle control.

2.6.5.12C (cont.): Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes					**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21			
Donor	**CYP2C8 mRNA Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 μM	1.35 ± 0.18	0.03 μM	1.23 ± 0.23	0.1 μM	1.28 ± 0.35	0.1 μM	1.31 ± 0.40
	0.3 μM	1.17 ± 0.38	0.1 μM	1.29 ± 0.06	0.3 μM	1.22 ± 0.34	0.3 μM	1.42 ± 0.17
	1 μM	1.23 ± 0.35	0.3 μM	1.04 ± 0.23	1 μM	1.17 ± 0.22	1 μM	0.80 ± 0.13
	3 μM	1.13 ± 0.07	1 μM	0.47 ± 0.10	3 μM	1.23 ± 0.09	3 μM	0.33 ± 0.03
	10 μM	0.44 ± 0.11	3 μM	0.22 ± 0.04	10 μM	1.44 ± 0.36	10 μM	0.61 ± 0.18
2	0.1 μM	0.85 ± 0.09	0.03 μM	0.94 ± 0.15	0.1 μM	1.27 ± 0.26	0.1 μM	1.01 ± 0.33
	0.3 μM	0.77 ± 0.24	0.1 μM	1.15 ± 0.43	0.3 μM	1.39 ± 0.26	0.3 μM	1.06 ± 0.14
	1 μM	0.89 ± 0.08	0.3 μM	1.30 ± 0.23	1 μM	1.31 ± 0.25	1 μM	0.87 ± 0.19
	3 μM	0.57 ± 0.10	1 μM	1.13 ± 0.25	3 μM	1.32 ± 0.23	3 μM	0.57 ± 0.05
	10 μM	0.41 ± 0.03	3 μM	1.09 ± 0.12	10 μM	1.52 ± 0.40	10 μM	1.18 ± 0.30
3	0.1 μM	0.89 ± 0.14	0.03 μM	1.07 ± 0.10	0.1 μM	0.50 ± 0.07	0.1 μM	0.78 ± 0.04
	0.3 μM	0.96 ± 0.22	0.1 μM	0.86 ± 0.11	0.3 μM	0.44 ± 0.06	0.3 μM	0.80 ± 0.12
	1 μM	0.69 ± 0.20	0.3 μM	0.77 ± 0.13	1 μM	0.49 ± 0.14	1 μM	0.91 ± 0.10
	3 μM	0.84 ± 0.27	1 μM	0.56 ± 0.20	3 μM	0.71 ± 0.33	3 μM	0.85 ± 0.31
	10 μM	0.18 ± 0.02	3 μM	0.40 ± 0.09	10 μM	0.47 ± 0.26	10 μM	0.52 ± 0.07

2.6.5.12C (cont.): Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes					**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21			
Donor	**CYP2C9 mRNA Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 µM	1.25 ± 0.24	0.03 µM	1.11 ± 0.20	0.1 µM	1.32 ± 0.11	0.1 µM	1.43 ± 0.64
	0.3 µM	1.26 ± 0.20	0.1 µM	1.12 ± 0.08	0.3 µM	1.42 ± 0.31	0.3 µM	2.10 ± 0.49
	1 µM	1.27 ± 0.10	0.3 µM	2.15 ± 0.57	1 µM	1.11 ± 0.07	1 µM	1.61 ± 0.53
	3 µM	0.95 ± 0.09	1 µM	1.12 ± 0.20	3 µM	1.76 ± 0.11	3 µM	0.47 ± 0.10
	10 µM	0.63 ± 0.10	3 µM	0.61 ± 0.07	10 µM	1.65 ± 0.23	10 µM	1.12 ± 0.09
2	0.1 µM	0.84 ± 0.21	0.03 µM	0.59 ± 0.06	0.1 µM	1.25 ± 0.32	0.1 µM	0.80 ± 0.15
	0.3 µM	0.93 ± 0.35	0.1 µM	1.14 ± 0.37	0.3 µM	1.38 ± 0.13	0.3 µM	1.03 ± 0.11
	1 µM	0.94 ± 0.08	0.3 µM	1.27 ± 0.19	1 µM	1.06 ± 0.18	1 µM	1.13 ± 0.10
	3 µM	0.91 ± 0.14	1 µM	0.96 ± 0.26	3 µM	1.53 ± 0.38	3 µM	0.81 ± 0.22
	10 µM	0.54 ± 0.02	3 µM	1.29 ± 0.06	10 µM	1.60 ± 0.59	10 µM	1.43 ± 0.45
3	0.1 µM	1.04 ± 0.12	0.03 µM	1.22 ± 0.11	0.1 µM	0.78 ± 0.23	0.1 µM	0.77 ± 0.10
	0.3 µM	1.05 ± 0.15	0.1 µM	1.02 ± 0.11	0.3 µM	0.88 ± 0.06	0.3 µM	0.80 ± 0.13
	1 µM	0.90 ± 0.08	0.3 µM	0.91 ± 0.04	1 µM	0.60 ± 0.07	1 µM	0.93 ± 0.03
	3 µM	0.91 ± 0.07	1 µM	0.86 ± 0.08	3 µM	0.89 ± 0.14	3 µM	0.97 ± 0.13
	10 µM	0.31* ± 0.05	3 µM	0.92 ± 0.08	10 µM	0.66 ± 0.30	10 µM	0.38 ± 0.03

*$p < 0.0001$ from vehicle control.

2.6.5.12C (cont.): Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes					**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21			
Donor	**CYP2C19 mRNA Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 µM	1.27 ± 0.22	0.03 µM	1.36 ± 0.60	0.1 µM	1.09 ± 0.18	0.1 µM	0.97 ± 0.31
	0.3 µM	1.67 ± 0.21	0.1 µM	1.53 ± 0.40	0.3 µM	1.08 ± 0.26	0.3 µM	1.85 ± 0.33
	1 µM	1.26 ± 0.20	0.3 µM	1.01 ± 0.09	1 µM	1.31 ± 0.04	1 µM	1.35 ± 0.22
	3 µM	1.30 ± 0.61	1 µM	0.71 ± 0.16	3 µM	1.05 ± 0.19	3 µM	0.77 ± 0.32
	10 µM	0.85 ± 0.14	3 µM	0.59 ± 0.14	10 µM	1.16 ± 0.22	10 µM	1.57 ± 0.49
2	0.1 µM	0.92 ± 0.21	0.03 µM	0.98 ± 0.20	0.1 µM	1.26 ± 0.14	0.1 µM	0.92 ± 0.26
	0.3 µM	1.09 ± 0.16	0.1 µM	1.22 ± 0.33	0.3 µM	1.30 ± 0.15	0.3 µM	1.45 ± 0.26
	1 µM	1.11 ± 0.08	0.3 µM	2.44* ± 0.65	1 µM	1.31 ± 0.28	1 µM	1.29 ± 0.11
	3 µM	0.90 ± 0.08	1 µM	1.08 ± 0.11	3 µM	2.63* ± 0.31	3 µM	0.85 ± 0.23
	10 µM	0.39 ± 0.04	3 µM	1.40 ± 0.14	10 µM	1.54 ± 0.13	10 µM	1.07 ± 0.10
3	0.1 µM	1.27 ± 0.33	0.03 µM	1.11 ± 0.32	0.1 µM	0.79 ± 0.03	0.1 µM	0.76 ± 0.16
	0.3 µM	1.28 ± 0.30	0.1 µM	1.01 ± 0.20	0.3 µM	1.19 ± 0.21	0.3 µM	0.94 ± 0.16
	1 µM	1.18 ± 0.31	0.3 µM	1.06 ± 0.04	1 µM	1.13 ± 0.45	1 µM	0.92 ± 0.21
	3 µM	2.01 ± 0.16	1 µM	0.87 ± 0.27	3 µM	1.22 ± 0.25	3 µM	1.62 ± 0.52
	10 µM	2.18** ± 0.35	3 µM	1.21 ± 0.19	10 µM	0.97 ± 0.39	10 µM	1.07 ± 0.42

*$p < 0.0001$ from vehicle control.

**$p < 0.00015$ from vehicle control.

2.6.5.12C (cont.): Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes					**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21			
Donor	**CYP3A4 mRNA Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 μM	1.28 ± 0.21	0.03 μM	1.18 ± 0.22	0.1 μM	1.06 ± 0.02	0.1 μM	1.03 ± 0.56
	0.3 μM	1.40 ± 0.08	0.1 μM	1.13 ± 0.07	0.3 μM	1.03 ± 0.08	0.3 μM	1.05 ± 0.10
	1 μM	1.46 ± 0.14	0.3 μM	1.07 ± 0.21	1 μM	1.03 ± 0.05	1 μM	0.33 ± 0.07
	3 μM	0.54 ± 0.15	1 μM	0.26 ± 0.03	3 μM	0.87 ± 0.13	3 μM	0.04 ± 0.00
	10 μM	0.10 ± 0.00	3 μM	0.06 ± 0.00	10 μM	1.30 ± 0.54	10 μM	0.20 ± 0.11
2	0.1 μM	1.03 ± 0.24	0.03 μM	0.76 ± 0.16	0.1 μM	1.09 ± 0.19	0.1 μM	1.13 ± 0.27
	0.3 μM	0.89 ± 0.09	0.1 μM	0.98 ± 0.31	0.3 μM	1.34 ± 0.08	0.3 μM	1.36 ± 0.25
	1 μM	0.77 ± 0.12	0.3 μM	1.09 ± 0.19	1 μM	1.16 ± 0.04	1 μM	0.86 ± 0.13
	3 μM	0.47 ± 0.04	1 μM	0.96 ± 0.01	3 μM	1.09 ± 0.24	3 μM	0.24 ± 0.10
	10 μM	0.39 ± 0.02	3 μM	1.07 ± 0.17	10 μM	1.37 ± 0.20	10 μM	0.79 ± 0.20
3	0.1 μM	1.28 ± 0.64	0.03 μM	0.92 ± 0.14	0.1 μM	0.58 ± 0.24	0.1 μM	0.79 ± 0.12
	0.3 μM	0.96 ± 0.11	0.1 μM	0.67 ± 0.06	0.3 μM	0.65 ± 0.04	0.3 μM	0.81 ± 0.31
	1 μM	0.83 ± 0.15	0.3 μM	0.90 ± 0.16	1 μM	0.58 ± 0.03	1 μM	0.74 ± 0.16
	3 μM	0.39 ± 0.06	1 μM	0.62 ± 0.09	3 μM	0.76 ± 0.14	3 μM	0.22 ± 0.05
	10 μM	0.17 ± 0.07	3 μM	0.74 ± 0.14	10 μM	0.59 ± 0.32	10 μM	0.39 ± 0.09

2.6.5.12C (cont.): Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes					**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21			
Donor	**UGT1A1 mRNA Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 µM	1.13 ± 0.16	0.03 µM	1.03 ± 0.07	0.1 µM	1.01 ± 0.18	0.1 µM	1.37 ± 0.35
	0.3 µM	1.57 ± 0.09	0.1 µM	1.23 ± 0.06	0.3 µM	1.10 ± 0.13	0.3 µM	1.19 ± 0.32
	1 µM	2.16** ± 0.16	0.3 µM	0.93 ± 0.16	1 µM	1.21 ± 0.16	1 µM	1.84 ± 0.25
	3 µM	2.68* ± 0.10	1 µM	0.99 ± 0.04	3 µM	1.11 ± 0.09	3 µM	3.06* ± 0.92
	10 µM	1.78 ± 0.06	3 µM	1.00 ± 0.09	10 µM	1.56 ± 0.32	10 µM	2.03 ± 0.45
2	0.1 µM	0.89 ± 0.16	0.03 µM	0.81 ± 0.23	0.1 µM	1.13 ± 0.14	0.1 µM	1.00 ± 0.05
	0.3 µM	1.16 ± 0.18	0.1 µM	1.18 ± 0.29	0.3 µM	1.49 ± 0.23	0.3 µM	1.28 ± 0.20
	1 µM	1.66 ± 0.15	0.3 µM	1.09 ± 0.26	1 µM	1.38 ± 0.38	1 µM	1.50 ± 0.61
	3 µM	2.12 ± 0.19	1 µM	1.08 ± 0.13	3 µM	1.42 ± 0.15	3 µM	1.65 ± 0.41
	10 µM	1.19 ± 0.23	3 µM	1.32 ± 0.18	10 µM	1.67 ± 0.23	10 µM	1.59 ± 0.29
3	0.1 µM	1.00 ± 0.18	0.03 µM	1.01 ± 0.21	0.1 µM	0.93 ± 0.10	0.1 µM	0.93 ± 0.23
	0.3 µM	1.26 ± 0.10	0.1 µM	0.95 ± 0.14	0.3 µM	0.86 ± 0.18	0.3 µM	0.87 ± 0.17
	1 µM	1.48 ± 0.18	0.3 µM	0.97 ± 0.06	1 µM	1.10 ± 0.05	1 µM	1.83* ± 0.39
	3 µM	2.11* ± 0.22	1 µM	0.93 ± 0.09	3 µM	0.98 ± 0.10	3 µM	1.79*** ± 0.16
	10 µM	1.60 ± 0.13	3 µM	0.84 ± 0.06	10 µM	1.05 ± 0.12	10 µM	1.86* ± 0.37

*$p < 0.0001$ from vehicle control.

**$p < 0.00015$ from vehicle control.

***$p < 0.00016$ from vehicle control.

2.6.5.12C (cont.): Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes					**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21			
Donor	**P-gp mRNA Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 µM	1.20 ± 0.39	0.03 µM	1.72 ± 0.30	0.1 µM	1.57 ± 0.75	0.1 µM	1.34 ± 0.25
	0.3 µM	1.26 ± 0.31	0.1 µM	1.60 ± 0.29	0.3 µM	1.18 ± 0.11	0.3 µM	1.56 ± 0.20
	1 µM	1.41 ± 0.14	0.3 µM	1.68 ± 0.56	1 µM	1.38 ± 0.25	1 µM	1.57 ± 0.12
	3 µM	1.21 ± 0.21	1 µM	1.97 ± 0.39	3 µM	1.74 ± 0.45	3 µM	1.63 ± 0.29
	10 µM	0.81 ± 0.37	3 µM	1.79 ± 0.49	10 µM	1.27 ± 0.12	10 µM	0.94 ± 0.17
2	0.1 µM	1.22 ± 0.20	0.03 µM	0.79 ± 0.06	0.1 µM	0.86 ± 0.16	0.1 µM	0.89 ± 0.15
	0.3 µM	1.08 ± 0.21	0.1 µM	0.91 ± 0.11	0.3 µM	0.97 ± 0.20	0.3 µM	1.30 ± 0.28
	1 µM	0.97 ± 0.13	0.3 µM	1.04 ± 0.22	1 µM	0.95 ± 0.04	1 µM	1.15 ± 0.21
	3 µM	1.15 ± 0.16	1 µM	0.82 ± 0.11	3 µM	1.01 ± 0.27	3 µM	0.99 ± 0.41
	10 µM	0.48 ± 0.06	3 µM	1.16 ± 0.22	10 µM	1.29 ± 0.26	10 µM	0.76 ± 0.24
3	0.1 µM	1.48 ± 0.11	0.03 µM	1.18 ± 0.26	0.1 µM	1.15 ± 0.23	0.1 µM	1.23 ± 0.25
	0.3 µM	1.19 ± 0.21	0.1 µM	1.40 ± 0.46	0.3 µM	1.11 ± 0.13	0.3 µM	0.95 ± 0.24
	1 µM	1.16 ± 0.09	0.3 µM	1.64 ± 0.16	1 µM	1.13 ± 0.12	1 µM	1.37 ± 0.12
	3 µM	1.32 ± 0.12	1 µM	1.22 ± 0.28	3 µM	1.26 ± 0.29	3 µM	1.46 ± 0.33
	10 µM	1.38 ± 0.21	3 µM	1.10 ± 0.35	10 µM	0.86 ± 0.28	10 µM	1.38 ± 0.46

2.6.5.12C (cont.): Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes					**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21			
Donor	**CYP1A2 Activity Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 µM	1.05 ± 0.03	0.03 µM	0.84 ± 0.08	0.1 µM	0.81 ± 0.03	0.1 µM	1.08 ± 0.06
	0.3 µM	0.87 ± 0.05	0.1 µM	0.87 ± 0.06	0.3 µM	0.93 ± 0.06	0.3 µM	0.87 ± 0.05
	1 µM	0.44* ± 0.06	0.3 µM	0.86 ± 0.06	1 µM	0.97 ± 0.06	1 µM	0.52** ± 0.02
	3 µM	0.22* ± 0.02	1 µM	0.55 ± 0.02	3 µM	1.31 ± 0.05	3 µM	0.13* ± 0.01
	10 µM	NC	3 µM	0.17** ± 0.01	10 µM	1.05 ± 0.05	10 µM	NC
2	0.1 µM	1.22 ± 0.20	0.03 µM	1.02 ± 0.08	0.1 µM	0.95 ± 0.03	0.1 µM	1.08 ± 0.07
	0.3 µM	1.23 ± 0.08	0.1 µM	1.03 ± 0.08	0.3 µM	1.03 ± 0.03	0.3 µM	1.03 ± 0.04
	1 µM	1.04 ± 0.04	0.3 µM	1.00 ± 0.07	1 µM	1.10 ± 0.05	1 µM	0.87 ± 0.08
	3 µM	0.58 ± 0.06	1 µM	0.96 ± 0.09	3 µM	1.30 ± 0.06	3 µM	0.43* ± 0.03
	10 µM	0.03* ± 0.01	3 µM	0.95 ± 0.08	10 µM	1.17 ± 0.13	10 µM	NC
3	0.1 µM	1.36 ± 0.14	0.03 µM	1.05 ± 0.06	0.1 µM	0.95 ± 0.07	0.1 µM	1.28 ± 0.03
	0.3 µM	1.32 ± 0.11	0.1 µM	1.12 ± 0.07	0.3 µM	1.04 ± 0.02	0.3 µM	1.24 ± 0.04
	1 µM	1.15 ± 0.08	0.3 µM	1.08 ± 0.08	1 µM	1.10 ± 0.07	1 µM	1.12 ± 0.05
	3 µM	0.75 ± 0.04	1 µM	1.08 ± 0.13	3 µM	1.62 ± 0.10	3 µM	0.66 ± 0.04
	10 µM	0.13 ± 0.01	3 µM	1.20 ± 0.05	10 µM	1.50 ± 0.18	10 µM	NC

*$p < 0.0001$ from vehicle control.

**$p < 0.00015$ from vehicle control.

2.6.5.12C (cont.): Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes					**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21			
Donor	**CYP2B6 Activity Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 µM	1.00 ± 0.08	0.03 µM	0.92 ± 0.09	0.1 µM	0.81 ± 0.03	0.1 µM	0.92 ± 0.09
	0.3 µM	0.92 ± 0.10	0.1 µM	0.91 ± 0.02	0.3 µM	0.87 ± 0.05	0.3 µM	0.82 ± 0.09
	1 µM	0.60* ± 0.15	0.3 µM	0.71 ± 0.01	1 µM	0.87 ± 0.07	1 µM	0.38* ± 0.02
	3 µM	0.58* ± 0.08	1 µM	0.29 ± 0.03	3 µM	1.00 ± 0.09	3 µM	0.07* ± 0.01
	10 µM	0.03* ± 0.00	3 µM	0.09* ± 0.02	10 µM	1.04 ± 0.06	10 µM	0.01* ± 0.01
2	0.1 µM	1.12 ± 0.02	0.03 µM	0.94 ± 0.02	0.1 µM	0.80 ± 0.02	0.1 µM	0.97 ± 0.06
	0.3 µM	1.14 ± 0.05	0.1 µM	0.95 ± 0.02	0.3 µM	0.91 ± 0.04	0.3 µM	0.93 ± 0.04
	1 µM	1.23 ± 0.03	0.3 µM	0.97 ± 0.03	1 µM	0.97 ± 0.04	1 µM	0.96 ± 0.07
	3 µM	1.72* ± 0.14	1 µM	0.98 ± 0.08	3 µM	1.21 ± 0.15	3 µM	0.76 ± 0.03
	10 µM	0.32* ± 0.02	3 µM	0.97 ± 0.07	10 µM	1.31** ± 0.21	10 µM	0.19* ± 0.06
3	0.1 µM	0.95 ± 0.08	0.03 µM	0.75 ± 0.10	0.1 µM	0.79 ± 0.03	0.1 µM	0.71 ± 0.04
	0.3 µM	1.05 ± 0.13	0.1 µM	0.77 ± 0.10	0.3 µM	0.80 ± 0.07	0.3 µM	0.80 ± 0.02
	1 µM	1.07 ± 0.21	0.3 µM	0.97 ± 0.11	1 µM	0.75 ± 0.04	1 µM	0.78 ± 0.18
	3 µM	0.82 ± 0.13	1 µM	1.00 ± 0.09	3 µM	0.70 ± 0.11	3 µM	0.76 ± 0.14
	10 µM	0.10* ± 0.02	3 µM	1.15 ± 0.05	10 µM	0.75 ± 0.11	10 µM	0.02*[a] ± ID

[a] n = 2.

*p < 0.0001 from vehicle control.

**p < 0.00015 from vehicle control.

2.6.5.12C (cont.): Potential of MMB, M8, M19, and M21 to Induce CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, UGT1A1, and P-gp in Cultured Human Hepatocytes					**Test Article:** MMB, M8, M19, and M21			
Donor	**CYP3A4/5 Activity Changes (Fold Over Control) (Mean ± SD, n = 3)**							
	MMB		**M8**		**M19**		**M21**	
1	0.1 µM	0.97 ± 0.03	0.03 µM	0.97 ± 0.07	0.1 µM	0.88 ± 0.04	0.1 µM	0.97 ± 0.05
	0.3 µM	0.95 ± 0.07	0.1 µM	1.03 ± 0.07	0.3 µM	0.89 ± 0.02	0.3 µM	0.83 ± 0.05
	1 µM	0.62* ± 0.11	0.3 µM	0.88 ± 0.05	1 µM	0.92 ± 0.04	1 µM	0.30* ± 0.02
	3 µM	0.30* ± 0.03	1 µM	0.31* ± 0.01	3 µM	0.97 ± 0.01	3 µM	0.06* ± 0.00
	10 µM	NC	3 µM	0.09* ± 0.01	10 µM	0.98 ± 0.04	10 µM	NC
2	0.1 µM	0.95 ± 0.06	0.03 µM	0.93 ± 0.06	0.1 µM	0.81 ± 0.01	0.1 µM	0.96 ± 0.04
	0.3 µM	0.96 ± 0.06	0.1 µM	0.94 ± 0.04	0.3 µM	0.86 ± 0.03	0.3 µM	0.92 ± 0.02
	1 µM	0.73 ± 0.01	0.3 µM	0.91 ± 0.09	1 µM	0.88 ± 0.03	1 µM	0.72 ± 0.03
	3 µM	0.33* ± 0.02	1 µM	0.90 ± 0.08	3 µM	0.94 ± 0.07	3 µM	0.29* ± 0.02
	10 µM	NC	3 µM	0.82 ± 0.04	10 µM	0.90 ± 0.08	10 µM	0.05* ± 0.01
3	0.1 µM	0.87 ± 0.09	0.03 µM	0.82 ± 0.16	0.1 µM	0.83 ± 0.17	0.1 µM	0.95 ± 0.09
	0.3 µM	0.82 ± 0.08	0.1 µM	0.87 ± 0.12	0.3 µM	0.78 ± 0.13	0.3 µM	0.89 ± 0.09
	1 µM	0.56 ± 0.04	0.3 µM	1.01 ± 0.08	1 µM	0.82 ± 0.16	1 µM	0.61 ± 0.10
	3 µM	0.35 ± 0.04	1 µM	0.89 ± 0.04	3 µM	0.96 ± 0.25	3 µM	0.36 ± 0.07
	10 µM	NC	3 µM	0.74 ± 0.03	10 µM	1.00 ± 0.24	10 µM	NC

*$p < 0.0001$ from vehicle control.

2.6.5.13. 薬物動態試験：累積排泄

2.6.5.13A: Excretion of ^{14}C-MMB Into Urine and Feces Following Oral Administration in Mice			**Test Article:** ^{14}C-MMB	
			Report No.: 8290926	
Species:	Swiss Mouse			
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/2			
Feeding Condition:	Nonfasted			
Vehicle/Formulation:	1 N HCl in SWFI, pH 1.35 / Solution			
Method of Administration:	Oral Gavage			
Dose:	100 mg/kg (300 μCi/kg)			
Analyte:	Carbon-14			
Assay:	Combustion and scintillation counting			
Collection Period (h)	**Cumulative Recovery of Radioactivity (% of Dose)**			
	Urine	**Feces**	**Carcass (residual)**	**Total Excreta[a]**
0-24	5.0	75.6	-	-
0-48	5.6	89.0	-	-
0-168	5.8	90.7	0.7	98.2

[a] Total recovery of radioactivity in excreta included cage rinses, cage wash, and cage wipe.

2.6.5.13B: Excretion of ^{14}C-MMB Into Urine, Feces, and Bile Following Oral Administration in Rats		**Test Article:** ^{14}C-MMB				
		Report No.: 8290931				
Species:		Sprague-Dawley Rat				
Sex (M/F)/No. of Animals:		M/3				
Feeding Condition:		Fed				
Vehicle/Formulation:		0.05M HCl in SWFI, pH 1.44 / Solution				
Method of Administration:		Oral Gavage				
Dose:		15 mg/kg (100 μCi/kg)				
Analyte:		Carbon-14				
Assay:		Combustion and scintillation counting				
		Cumulative Recovery of Radioactivity (%Dose)				
	Collection Period (h)	**Urine**	**Feces**	**Bile**	**Carcass (residual)**	**Total Excreta[a]**
Intact	0-24	13.2 ± 1.7	62.6 ± 6.6	NA	NA	NA
	0-48	13.9 ± 1.8	75.1 ± 3.4	NA	NA	NA
	0-168	14.1 ± 1.8	77.2 ± 3.3	NA	4.1 ± 0.8	96.1 ± 0.8
Bile duct cannulated	0-24	15.2 ± 2.9	36.9 ± 12.3	29.2 ± 2.2	NA	NA
	0-48	16.2 ± 3.5	42.9 ± 8.7	31.7 ± 3.4	NA	NA
	0-168	16.6 ± 3.7	44.3 ± 8.0	33.0 ± 4.0	2.0 ± 0.6	96.8 ± 0.7

[a] Total recovery of radioactivity in excreta included cage rinses, cage wash, cage wipe, bile cannula rinse, and jacket rinse.

2.6.5.13C: Excretion of ^{14}C-MMB Into Urine, Feces, and Bile Following Oral Administration in Dogs					**Test Article:** ^{14}C-MMB
					Report No.: 8290929
Species:		Beagle Dog			
Sex (M/F)/No. of Animals:		M/3			
Feeding Condition:		Fasted			
Vehicle/Formulation:		0.05M HCl in SWFI water, pH 1.41 / Solution			
Method of Administration:		Oral Gavage			
Dose:		20 mg/kg (10 μCi/kg)			
Analyte:		Carbon-14			
Assay:		Combustion and scintillation counting			
		Cumulative Recovery of Radioactivity (%Dose)			
	Collection Period (h)	**Urine**	**Feces**	**Bile**	**Total Excreta[a]**
Intact	0–24	9.0 ± 5.2	45.9 ± 31.8	NA	NA
	0-48	9.3 ± 5.2	69.7 ± 5.4	NA	NA
	0-168	9.6 ± 5.1	70.8 ± 5.3	NA	91.2 ± 2.5
Bile duct cannulated	0–24	2.4 ± 1.1	45.2 ± 4.0	40.4 ± 6.5	NA
	0-48	2.6 ± 1.1	47.3 ± 4.6	41.3 ± 6.3	NA
	0-168	2.8 ± 1.2	47.5 ± 4.5	41.5 ± 6.3	94.4 ± 1.2

[a] Total recovery of radioactivity in excreta included cage rinses, cage wash, cage wipe, bile cannula rinse, and jacket rinse.

2.6.5.14. 薬物動態試験：胆汁中排泄

実施せず

2.6.5.15. 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用

2.6.5.15A: In Vitro Assessment of MMB, M8, M19, and M21 as P-gp or BCRP Substrates		**Test Article:** MMB, M8, M19, M21				
		Report No.: AD-352-2013, AD-352-2014, AD-352-2016, AD-352-2022				
Type of Study: Drug Transport						
Method: Bidirectional permeability of MMB (target concentration of 10 µM) and M8, M19, and M21 (target concentration of 1 µM) was assessed across monolayers of wild type MDCKII cells and P-gp or BCRP-overexpressing MDCKII cells in the presence and absence of known P-gp and BCRP inhibitors.						
P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)						
Analyte		**Wild Type MDCKII**	**P-gp Overexpressing MDCKII**		**BCRP Overexpressing MDCKII**	
			- Inhibitor	**+ Inhibitor (cyclosporin A, 10 µM)**	**- Inhibitor**	**+ Inhibitor (Ko134, 10 µM)**
MMB	P_{app} (A→B)	12.3	7.9	17.3	7.5	19.9
	P_{app} (B→A)	17.0	39.8	27.1	33.2	30.6
	Efflux Ratio	1.4	5.0	1.6	4.4	1.5
M8	P_{app} (A→B)	1.5	0.5	0.4	0.6	0.9
	P_{app} (B→A)	1.5	0.6	0.4	0.8	0.9
	Efflux Ratio	1.0	1.0	0.9	1.3	1.1
M19	P_{app} (A→B)	52.4	41.9	43.7	16.5	38.2
	P_{app} (B→A)	24.0	27.2	24.1	42.1	36.2
	Efflux Ratio	0.5	0.6	0.6	2.5	0.9
M21	P_{app} (A→B)	2.5	1.3	3.2	1.5	2.2
	P_{app} (B→A)	4.6	11.0	3.2	12.0	13.9
	Efflux Ratio	1.8	8.1	1.0	8.1	6.3

2.6.5.15B: In Vitro Assessment of MMB, M8, M19, and M21 as Substrates for Hepatic Uptake Transporters	**Test Article:** MMB, M8, M19, M21
	Report No.: AD-352-2018, AD-352-2029
Type of Study: Drug Transport	
Method: The uptake rate of MMB, M8, M19, and M21 (each at 1 μM) was determined in wild type and Chinese Hamster Ovary cells transfected with the genes encoding human OATP1B1 and OATPB13 transporters, both in the presence and absence of the OATP inhibitor rifampicin (40 μM).	

Assay Condition	**MMB**	**M8**	**M19**	**M21**
CHO WT -inhibitor	8.8	1.5	0.7	7.8
CHO WT +inhibitor	8.9	1.6	0.8	8.8
CHO OATP1B1 - inhibitor	12.9	1.4	1.2	11.8
CHO OATP1B1 + inhibitor	9.7	1.4	0.9	9.8
CHO OATP1B3 - inhibitor	15.5	1.6	1.6	10.9
CHO OATP1B3 + inhibitor	11.0	1.4	1.1	9.8

2.6.5.15C: In Vitro Assessment of MMB, M19, and M21 as Substrates for OCT1	**Test Article:** ^{14}C-MMB, M19, M21
	Report No.: AD-352-2019
Type of Study: Drug Transport	
Study System: Chinese Hamster Ovary Cell (wild type and transfected with OCT1)	
Method: The accumulation of ^{14}C-MMB, M19, and M21 in wild type and Chinese Hamster Ovary cells transfected with OCT1 assessed at concentrations of 1 and 10 μM or 0.5 and 5 μM at 2 time points (2 and 20 minutes).	

^{14}C-MMB		**M19**		**M21**	
Assay Condition	**Fold Accumulation Compared to WT Cells**	**Assay Condition**	**Fold Accumulation Compared to WT Cells**	**Assay Condition**	**Fold Accumulation Compared to WT Cells**
1 μM for 2 minutes	0.92	1 μM for 2 minutes	1.0	0.5 μM for 2 minutes	1.17
1 μM for 20 minutes	0.90	1 μM for 20 minutes	0.61	0.5 μM for 20 minutes	1.06
10 μM for 2 minutes	1.0	10 μM for 2 minutes	1.07	5 μM for 2 minutes	1.0
10 μM for 20 minutes	0.94	10 μM for 20 minutes	0.57	5 μM for 20 minutes	0.83

2.6.5.15D: In Vitro Assessment of MMB, M8, M19, and M21 as Inhibitors of Drug Transporters	**Test Article:** MMB, M8, M19, M21 **Report No.:** OPT-2012-066, OPT-2012-086, OPT-2012-126, AD-352-2015, AD-352-2017, AD-352-2019, AD-352-2023, AD-352-2030
Type of Study: Drug Transport	
Study System: Cell lines or membrane vesicles transfected with human transporters	
Method: Test articles or reference inhibitors were incubated at 37°C in the presence of probe substrates.	

Transporter	**MMB**		**M8**		**M19**		**M21**	
	% Inhibition (max conc. tested)	**IC_{50} (µM)**	**% Inhibition (max conc. tested)**	**IC_{50} (µM)**	**% Inhibition (max conc. tested)**	**IC_{50} (µM)**	**% Inhibition (max conc. tested)**	**IC_{50} (µM)**
P-gp	12% (15 µM)	> 15	< 5% (50 µM)	> 50	< 5% (10 µM)	> 10	< 5% (10 µM)	> 10
BCRP	110% (72 µM)	2.9	< 5% (50 µM)	> 50	< 5% (10 µM)	> 10	6% (10 µM)	> 10
OATP1B1	6% (15 µM)	> 15	60% (40 µM)	29.6	45% (10 µM)	> 10	55% (10 µM)	8.4
OATP1B3	< 5% (15 µM)	> 15	30% (40 µM)	> 40	58% (10 µM)	8.0	55% (10 µM)	8.5
OCT1	16% (15 µM)	> 15	60% (40 µM)	30	5% (10 µM)	> 10	21% (10 µM)	> 10
BSEP	< 5% (15 µM)	> 15	< 5% (40 µM)	> 40	16% (10 µM)	> 10	19% (10 µM)	> 10
OCT2	< 5% (15 µM)	> 15	27% (40 µM)	> 40	< 5% (10 µM)	> 10	15% (10 µM)	> 10
MATE1	34% (10 µM)	> 10	61% (40 µM)	24	< 5% (10 µM)	> 10	78% (10 µM)	2.4
OAT1	< 5% (15 µM)	> 15	27% (40 µM)	> 40	18% (10 µM)	> 10	< 5% (10 µM)	> 10
OAT3	5% (15 µM)	> 15	< 5% (40 µM)	> 40	< 5% (10 µM)	> 10	< 5% (10 µM)	> 10

2.6.5.16. 薬物動態試験：その他

2.6.5.16A: Pharmacokinetics of MMB and M21 Following Co-dosing of MMB and M21 in Male Sprague-Dawley Rats					**Test Article:** MMB, M21			
					Study No.: AD-352-2020			
Type of Study: Combination Pharmacokinetic								
Method: Three fasted male Sprague-Dawley rats/group were co-dosed with MMB and M21 by oral gavage at MMB/M21 doses of 5/5, 15/5, 5/10, and 5/25 mg/kg. MMB and M21 were formulated in 0.05 M HCl in sterile water (pH 1.5). Plasma was analyzed by LC-MS/MS for MMB and M21.								
PK Parameters (Mean ± SD, n = 3)								
MMB/M21 Dose (mg/kg)	**5/5**		**15/5**		**5/10**		**5/25**	
Analytes	**MMB**	**M21**	**MMB**	**M21**	**MMB**	**M21**	**MMB**	**M21**
C_{max} (ng/mL)	4034 ± 386	61.2 ± 16.1	14125 ± 2942	52.0 ± 22.4	5218 ± 625	93.7 ± 30.4	5947 ± 1437	228 ± 62.0
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	44978 ± 6022	665 ± 20	108481 ± 19277	722 ± 239	54746 ± 13218	1165 ± 305	34870 ± 3039	2331 ± 322
(time for calculation – h)	0 - 24	0 - 24	0 - 24	0 - 24	0 - 24	0 - 24	0 - 24	0 - 24