# 目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 ....4
2.6.4.1 まとめ ....4
2.6.4.2 分析法 ....9
2.6.4.3 吸収 ....11
2.6.4.4 分布 ....20
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） ....23
2.6.4.6 排泄 ....44
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 ....46
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 ....53
2.6.4.9 考察及び結論 ....57
2.6.4.10 図表 ....59
2.6.4.11 参考文献 ....59

**薬物動態試験の概要文の略号一覧表**

| 略号 | 省略していない表現（英語） | 省略していない表現（日本語） |
|---|---|---|
| α1-AGP | α1-acid glycoprotein | α1-酸性糖タンパク |
| AMS | accelerator mass spectrometry | 加速器質量分析 |
| AUC | area under the concentration-time curve | 濃度-時間曲線下面積 |
| $AUC_{(0\text{-}6h)}$ | AUC from zero time to 6 hours | 投与時から 6 時間までの濃度-時間曲線下面積 |
| $AUC_{(0\text{-}24h)}$ | AUC from zero time to 24 hours | 投与時から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積 |
| $AUC_{(0\text{-}48h)}$ | AUC from zero time to 48 hours | 投与時から 48 時間までの濃度-時間曲線下面積 |
| $AUC_{(0\text{-}inf)}$ | AUC from zero time extrapolated to infinite time | 投与時から投与後無限大までの濃度-時間曲線下面積 |
| $AUC_{(0\text{-}t)}$ | AUC from zero time to time of last quantifiable concentration | 投与時から定量が可能であった最終採血時間（t）までの濃度-時間曲線下面積 |
| BCRP | breast cancer resistance protein | 乳癌耐性タンパク |
| CFR | corrected flux ratio | －（対照細胞における輸送比［刷子縁膜から基底膜への輸送に対する基底膜から刷子縁膜への輸送比率］で補正したトランスポーター発現細胞での輸送比） |
| $CL_p$ | total plasma clearance | （血漿中濃度基準の）全身クリアランス |
| $C_{max}$ | maximum observed concentration | 最高濃度 |
| CYP | cytochrome P450 | チトクローム P450 |
| eq. | equivalent | 当量 |
| F | absolute bioavailability | 絶対バイオアベイラビリティ |
| $F_a$ | gastrointestinal absorption fraction | 消化管吸収率 |
| FGFR | fibroblast growth factor receptor | 線維芽細胞増殖因子受容体 |
| GLP | Good Laboratory Practice | 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 |
| HG | human γ-globulin | ヒトγ-グロブリン |
| HPLC | high performance liquid chromatography | 高速液体クロマトグラフィー |
| HSA | human serum albumin | ヒト血清アルブミン |
| $IC_{50}$ | 50% inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| $K_m$ | Michaelis constant | ミカエリス定数 |
| LC-HRMS | liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry | 液体クロマトグラフィー-高分解能質量分析 |
| LC-MS | liquid chromatography with mass spectrometry | 液体クロマトグラフィー-質量分析 |
| LC-MS/MS | liquid chromatography with tandem mass spectrometry | 液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 |
| $LC\text{-}MS(MS^n)$ | liquid chromatography with mass spectrometry or multi-stage mass | － |

| 略号 | 省略していない表現（英語） | 省略していない表現（日本語） |
|---|---|---|
| | spectrometry | |
| LSC | liquid scintillation counter | 液体シンチレーションカウンター |
| MATE | multidrug and toxin extrusion | 多剤・毒性化合物排出 |
| mRNA | messenger ribonucleic acid | メッセンジャーRNA |
| *m/z* | mass-to-charge ratio of protonated ion | － |
| NADPH | nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced | 還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 |
| OAT | organic anion transporter | 有機アニオントランスポーター |
| OATP | organic anion transporting polypeptide | 有機アニオン輸送ポリペプチド |
| OCT | organic cation transporter | 有機カチオントランスポーター |
| PBPK | physiologically based pharmacokinetics | 生理学的薬物速度論 |
| P-gp | P-glycoprotein | P 糖タンパク |
| PK | pharmacokinetic, pharmacokinetics | 薬物速度論，薬物動態，ファーマコキネティクス |
| $R_B$ | blood to plasma concentration ratio | 血液／血漿中濃度比 |
| rCYP | recombinant human cytochrome P450 | 遺伝子組換えヒトチトクローム P450 |
| RT-PCR | reverse transcription-polymerase chain reaction | 逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 |
| SD | Sprague Dawley | －（ラット系統名） |
| TK | toxicokinetic, toxicokinetics | トキシコキネティクス |
| $t_{max}$ | time at which the highest drug concentration occurs | 最高濃度到達時間 |
| $t_{½}$ | terminal elimination phase half-life | 最終消失半減期 |
| $V_{max}$ | maximum velocity | 最大速度 |
| $V_{ss}$ | volume of distribution at steady state | 定常状態における分布容積 |

－は該当なしを示す。

## 2.6.4 薬物動態試験の概要文

### 2.6.4.1 まとめ

非臨床薬物動態試験の概略

タスルグラチニブの薬物動態（PK）試験で用いた動物種（系統）は，ラット（Wistar Hannover）及びイヌ（ビーグル）であった。ラット（Wistar Hannover）及びイヌ（ビーグル）は毒性試験で用いられている動物種（系統）であり，単回経口投与時の PK は，ラット（Wistar Hannover）及びイヌ（ビーグル）での毒性試験時のトキシコキネティクス（TK）の投与 1 日目の結果を利用した。反復経口投与時の PK は，ラット（Wistar Hannover，Sprague Dawley［SD］）及びイヌ（ビーグル）での毒性試験時の TK の結果を利用した。白色ラット（SD），有色ラット（Lister-Hooded）又はイヌ（ビーグル）の吸収，分布，代謝又は排泄は，$^{14}$C 標識-タスルグラチニブ（[$^{14}$C]タスルグラチニブ）を用いて評価した。血漿タンパク結合率及び血球移行性は，in vitro 試験で評価した。代謝については，肝細胞，遺伝子組換えヒトチトクローム P450（rCYP）又は肝ミクロソームを用いた in vitro 試験系により評価した。チトクローム P450（CYP）誘導作用はヒト肝細胞を用いて評価し，CYP 阻害作用はヒト肝ミクロソーム又は rCYP を用いて評価した。薬物トランスポーターに対する基質認識性及び阻害作用は，トランスポーター発現細胞及び Caco-2 細胞を用いて評価した。

PK 試験には，被験物質として非標識タスルグラチニブあるいは[$^{14}$C]タスルグラチニブを用いた。本 2.6.4 項（薬物動態試験の概要文）では，in vivo 試験のタスルグラチニブの投与量はタスルグラチニブコハク酸塩としての量を示し，濃度はタスルグラチニブフリー体として表示した。[$^{14}$C]タスルグラチニブを投与した試験での投与量はタスルグラチニブフリー体換算量を示し，放射能濃度はタスルグラチニブフリー体当量（equivalent [eq.]/g or mL）として表示した。非標識タスルグラチニブを用いた場合には，血漿中薬物濃度の定量に液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析（LC-MS/MS）を用いた。[$^{14}$C]タスルグラチニブを用いた場合には，放射能濃度の測定に外部標準線源法による液体シンチレーションカウンター（LSC）あるいは定量的全身オートラジオグラフィーを用いた。PK パラメータは得られたデータから直接又はモデル非依存的解析法により算出した。本 2.6.4 項を通して in vitro 及び in vivo の代謝物については，代謝物通し番号として M 番号を用いた。

吸収

タスルグラチニブコハク酸塩を雄性 Wistar Hannover ラットに単回静脈内投与（2 mg/kg［コハク酸塩として］）したときのタスルグラチニブの血漿中濃度は 3.28 時間の最終消失半減期（$t_{½}$）で消失した。血漿中濃度基準の全身クリアランス（$CL_p$）及び定常状態における分布容積（$V_{ss}$）は，それぞれ 3015 mL/h/kg 及び 5393 mL/kg であった。単回経口投与（2～27 mg/kg［コハク酸塩として］）したときの最高濃度到達時間（$t_{max}$）は 4 時間であり，$t_{½}$は 2.08～2.73 時間であった。投与時から投与後無限大までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{(0\text{-}inf)}$）及び最高濃度（$C_{max}$）は投与量 2～27 mg/kg において投与量公比を上回る増加を示した。経口投与 2 mg/kg における絶対バイオアベイラビリティ（F）は 5.4%であった。

タスルグラチニブコハク酸塩を雄性ビーグル犬に単回静脈内投与（1.5 mg/kg［コハク酸塩として］）したときのタスルグラチニブの血漿中濃度は 7.79 時間の $t_{½}$で消失した。$CL_p$及び$V_{ss}$は，

それぞれ913 mL/h/kg及び8837 mL/kgであった。単回経口投与（1.5～27 mg/kg［コハク酸塩として］）したときの$t_{max}$は1.30～3.33時間であり，$t_{½}$は5.66～8.58時間であった。$AUC_{(0\text{-}inf)}$及び$C_{max}$は投与量1.5～27 mg/kgにおいてほぼ投与量公比に応じた増加を示した。経口投与1.5 mg/kgにおけるFは65.3%であった。

雄性SDラット（白色）に[$^{14}$C]タスルグラチニブを経口投与（3 mg/kg［フリー体として］）後，血液及び血漿中放射能濃度は投与後2時間に最高（45.4及び77.7 ng eq./mL）となり，$t_{½}$はそれぞれ4.02及び5.24時間であった。雄性Lister-Hoodedラット（有色）に[$^{14}$C]タスルグラチニブを経口投与（3 mg/kg［フリー体として］）後，血液及び血漿中放射能濃度は投与後 2～8 時間に最高（12.5及び18.0 ng eq./mL）となり，血漿中放射能の$t_{½}$は13.9時間（1例の値）であった。雄性ビーグル犬に[$^{14}$C]タスルグラチニブを経口投与（1.5 mg/kg［フリー体として］）後，血液及び血漿中放射能濃度は投与後 2～6 時間に最高（75.9 及び 103 ng eq./mL）となり，$t_{½}$はそれぞれ 116及び77.4時間（1例の値）であった。

13 週間の反復経口投与毒性試験におけるタスルグラチニブの暴露量は，雄ラットより雌ラットの方が大きかったが，イヌでは性差は認められなかった。13 週間の反復投与によるタスルグラチニブの暴露量は，雄ラットでは投与初日に比べて増加したが，イヌでは蓄積は認められなかった。いずれの動物種においても，タスルグラチニブの代謝物であるM2の暴露量はタスルグラチニブと比較して低かった。

<u>分布</u>

[$^{14}$C]タスルグラチニブをラット（白色及び有色）に単回経口投与（3 mg/kg［フリー体として］）後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で検討した。

雄性SDラット（白色）の多くの組織で，投与後5時間で放射能濃度が最高となり，胆管，腎臓（内側及び外側の皮質），肝臓，副腎（皮質及び髄質），脾臓，甲状腺及び下垂体で放射能濃度が高値を示した。投与後 168 時間で大動脈壁においてのみ放射能濃度が検出された。雄性Lister-Hoodedラット（有色）では，投与後4～12時間に組織中放射能濃度が最高となった。大動脈壁及びメラニン含有組織において投与後672時間（最終採取時点）まで放射能濃度が認められた。メラニン含有組織では，白色ラットに比べて高い放射能濃度を示し，メラニン含有組織と[$^{14}$C]タスルグラチニブ由来放射能の結合親和性を示唆した。

平衡透析法（in vitro系）を用いて，タスルグラチニブ及びその代謝物であるM2並びに(*R*)-M9の血漿タンパク結合率を検討した。タスルグラチニブ（添加濃度：100～3000 ng/mL［フリー体として］）の雄性Wistar Hannoverラット，雄性ビーグル犬，雌性BALB/cAJcl-nu/nuマウス及びヒト（男性）における血漿タンパク結合率の平均値は，それぞれ96.8%，92.0%，97.0%及び93.7%であった。M2（添加濃度：30～1000 ng/mL［フリー体として］）のヒト（男性）における血漿タンパク結合率の平均値は 90.0%であった。(*R*)-M9（添加濃度：3～30 ng/mL［フリー体として］）のヒト（男性）における血漿タンパク結合率は98.1%～98.3%であった。

ヒト血漿中に存在するヒト血清アルブミン（HSA），α1-酸性糖タンパク（α1-AGP）及びヒト

γ-グロブリン（HG）のうち，タスルグラチニブ及び M2 は主に HSA に結合した。

雌性 BALB/c-nu/nu マウス，雄性 SD ラット，雄性ビーグル犬及びヒト（男性）におけるタスルグラチニブ及び M2 の in vitro での血液／血漿中濃度比（$R_B$）値を測定した（検討濃度：30～300 ng/mL［いずれもフリー体として］）。タスルグラチニブの $R_B$ 値は，マウスで 1.23～1.29，ラットで 0.952～1.02，イヌで 0.929～0.966，ヒトで 1.06～1.14 であった。M2 の $R_B$ 値は，マウスで 1.14～1.30，ラットで 1.12～1.16，イヌで 0.992～1.01，ヒトで 1.14～1.16 であった。

<u>代謝</u>

マウス，ラット，イヌ及びヒト凍結肝細胞，並びにラット及びイヌ肝ミクロソームを用いてタスルグラチニブの代謝プロファイルを in vitro で検討した。ヒト及び動物の肝細胞から全部で 8 個の代謝物（M1～M8）が検出された。M1～M5 がヒト肝細胞で検出され，そのうち M1～M4 はマウス，ラット又はイヌの肝細胞でも検出された。ラット及びイヌ肝ミクロソームにおいて M5 が検出された。以上の in vitro 試験においてヒト特異的代謝物は検出されなかった。

タスルグラチニブの代謝にかかわるヒト CYP 分子種の同定と寄与率を見積もるため，複数の in vitro 代謝試験を実施した。

タスルグラチニブの代謝にかかわる CYP を同定するため，rCYP 各分子種を用いて in vitro 代謝実験を行った。タスルグラチニブは rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 で代謝され，その他の検討した分子種（rCYP1A2，rCYP2B6，rCYP2C8，rCYP2C9，rCYP2C19，rCYP2D6 及び rCYP3A5）ではほとんど代謝されなかった。

タスルグラチニブからの M2 の生成に関与するヒト CYP 分子種を同定するため，rCYP 各分子種を用いて M2 の生成を精査するとともに，rCYP 及びヒト肝ミクロソームを用いて酵素反応の速度論的解析を行った。タスルグラチニブは rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 を介して M2 を生成し，M2 生成の $K_m$（ミカエリス定数）及び $V_{max}$（最大速度）は，rCYP3A4 では 63.2 μmol/L 及び 1.17 pmol/min/pmol CYP，rCYP2J2 では 5.38 μmol/L 及び 0.699 pmol/min/pmol CYP，CYP4F12 では 0.471 μmol/L 及び 5.99 pmol/min/pmol CYP であった。ヒト肝ミクロソームにおける M2 生成の $K_m$ 及び $V_{max}$ は，それぞれ 2.18 μmol/L 及び 10.4 pmol/min/mg protein であった。

タスルグラチニブからの M2 生成にかかわる主たるヒト CYP 分子種を同定するため，CYP 阻害剤（アザムリン，ダナゾール，HET0016，ピモジド及びケトコナゾール）の阻害効果をヒト肝ミクロソーム及び rCYP4F12 で検討した。アザムリン（CYP3A 阻害剤）及びダナゾール（CYP2J2 阻害剤）は，ヒト肝ミクロソーム及び rCYP4F12 において M2 生成に対する阻害を示さないか，阻害効果は軽微であった。HET0016，ピモジド及びケトコナゾールによる M2 生成に対する阻害効果は，ヒト肝ミクロソームと rCYP4F12 の間で類似していた。これらの結果より，CYP4F12 がタスルグラチニブからの M2 の生成にかかわる主たる CYP 分子種であると考えられた。

ヒト凍結肝細胞でのタスルグラチニブ代謝に対する CYP3A 選択的阻害剤（アザムリン）の影響を検討した。タスルグラチニブのヒトの肝代謝に対する CYP3A の寄与率は in vitro で 25%と推定された。

M2 の代謝にかかわる CYP 分子種を同定するため，rCYP 各分子種を用いて in vitro 代謝実験を

行った。M2 は rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 によって代謝されたが，その他の評価した CYP 分子種（rCYP1A2，rCYP2B6，rCYP2C8，rCYP2C9，rCYP2C19，rCYP2D6 及び rCYP3A5）ではほとんど代謝されなかった。

以上の一連の in vitro 代謝試験により，タスルグラチニブの代謝には CYP2J2，CYP3A4 及び CYP4F12 が関与し，CYP3A の寄与は 25%程度であること，さらに主要代謝物 M2 は主に CYP4F12 を介して生成することが示された。

[$^{14}$C]タスルグラチニブを雄性 SD ラット又は雄性ビーグル犬に単回経口投与（ラット：3 mg/kg，イヌ：1.5 mg/kg［いずれもフリー体として］）後の放射能の代謝プロファイルを検討した。

ラット及びイヌ血漿中では，未変化体（タスルグラチニブ）が主成分であった（ラット：血漿中総放射能の投与時から 6 時間までの濃度-時間曲線下面積［$AUC_{(0\text{-}6h)}$］の 19.2%，イヌ：血漿中総放射能の投与時から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積［$AUC_{(0\text{-}24h)}$］の 40.6%）。ラット血漿中で最も主要な代謝物は M7 であり（血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}6h)}$の 13.6%），その他に血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}6h)}$の 10%未満の 4 種の代謝物（M3 の脱メチル体，M6，M6 の+2O+2H 体及び M6 の脱メチル体）が検出された。イヌ血漿中で最も主要な代謝物は M3 であったが，血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}24h)}$の 10%未満（7.31%）であった。尿中の主成分は，ラットでは M7（投与放射能量の 0.74%）と M6 の+2O+2H 体（同 0.30%）であり，イヌでは未変化体（同 1.84%）及び M3（同 0.24%）であった。ラット及びイヌ糞中では，未変化体が主成分であった（ラット：同 13.6%，イヌ：同 17.6%）。ラット糞中の主代謝物は M7（同 11.1%），M7 の+O–2H 体（同 14.5%），M3 の脱メチル体（同 8.63%）及び M7 のジカルボン酸代謝物（同 8.12%）であり，イヌ糞中の主代謝物は M3（同 16.9%）であった。タスルグラチニブのラット及びイヌにおける主代謝経路は，メトキシエトキシ鎖の脱メチル化による M7 の生成（ラット），ヒドロキシエチル基のカルボン酸体への酸化による M3 の生成（イヌ）及びさらなる二次代謝であった。ラットではマイナーな代謝経路として，ヒドロキシエチル基のカルボン酸体への酸化による M3 の生成及び加水分解による M6 の生成とそれらの二次代謝が認められた。

ヒトマスバランス試験（002 試験，投与量：35 mg/3.7 MBq/man）における血漿中放射能の代謝プロファイルを検討した。ハミルトン法に従い投与時から 48 時間までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{(0\text{-}48h)}$）に基づいて調製されたヒトプール血漿試料において，タスルグラチニブ，M2 及び M9 が主成分として同定され，それぞれ総薬物関連 $AUC_{(0\text{-}48h)}$の 30.9%，20.6%及び 12.3%を占めた。その他の代謝物は，総薬物関連 $AUC_{(0\text{-}48h)}$の 3.1%以下であった。

ヒトマスバランス試験及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験における血漿試料の代謝物分析により，タスルグラチニブの経口投与後，ヒト及びイヌ血漿中に M9 が検出された。キラルクロマトグラフィー分析の結果，M9 はハミルトン法に従い $AUC_{(0\text{-}24h)}$に基づいて調製されたヒトプール血漿試料において，64%の(*R*)-M9 と 36%の(*S*)-M9 の混合物であった。

ヒトマスバランス試験における排泄物中放射能の代謝プロファイルを検討した。未変化体は尿及び糞中の主成分であり，投与放射能量のそれぞれ 2.05%及び 32.08%を占めた。尿及び糞中の主な代謝物は M2 であり，尿及び糞中で投与放射能量のそれぞれ 2.55%及び 30.53%を占めた。マイナーな代謝物である M1，M3，M4 は，タスルグラチニブの酸化代謝及び M9 はタスルグラ

チニブの酸化的*N*-脱アルキル化あるいはM2の酸化代謝によって生成した。その他のマイナー代謝物であるM7はタスルグラチニブの脱メチル化により，M5は*N*-アミドインドール部分の加水分解により，M6はアミド基の加水分解により生成した。排泄物中に検出されたこれらのマイナー代謝物は，それぞれ投与放射能量の3%未満であった。

タスルグラチニブのヒトマスバランス試験の排泄物中代謝プロファイル及びin vitro代謝試験より，タスルグラチニブの主代謝経路は，CYP4F12を介した酸化的*N*-脱アルキル化によるM2の生成と考えられた。

CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6及びCYP3Aに対するタスルグラチニブ，M2及び(*R*)-M9の阻害能をヒト肝ミクロソームで検討した。タスルグラチニブはCYP2D6，CYP3A（基質：テストステロン），CYP3A（基質：ミダゾラム）及びCYP3A（基質：ニフェジピン）をそれぞれ95.0，48.0，16.4及び27.9 μmol/Lの50%阻害濃度（$IC_{50}$）で可逆的に阻害したが，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9及びCYP2C19に対する阻害能は弱かった（$IC_{50}$>100 μmol/L）。M2はCYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP3A（基質：テストステロン），CYP3A（基質：ミダゾラム）及びCYP3A（基質：ニフェジピン）をそれぞれ77.5，93.0，82.0，62.4，22.1及び31.6 μmol/Lの$IC_{50}$で可逆的に阻害した。CYP1A2，CYP2B6及びCYP2C8に対するM2の可逆的阻害能は弱いか全くなかった（$IC_{50}$>100 μmol/L）。タスルグラチニブ及びM2は，検討した全てのCYP分子種に対して時間依存的な阻害能を示さなかった。(*R*)-M9のこれらのCYP分子種に対する可逆的阻害能は弱く（$IC_{50}$>10 μmol/L），検討濃度10 μmol/Lにおいて時間依存的な阻害を示さなかった。

rCYPを用いて,タスルグラチニブ及びM2によるCYP2J2及びCYP4F12の可逆的阻害能と時間依存的阻害能を検討した。タスルグラチニブ及びM2は，CYP2J2に対して弱い可逆的阻害能を示した（$IC_{50}$はそれぞれ>30 μmol/L及び25.1 μmol/L）。タスルグラチニブ及びM2は，CYP4F12に対して可逆的な阻害作用を示した（$IC_{50}$はそれぞれ0.446 μmol/L及び0.827 μmol/L）。タスルグラチニブ及びM2は，CYP2J2及びCYP4F12に対して検討濃度10 μmol/Lにおいて時間依存的な阻害作用を示さないか弱かった。

タスルグラチニブ及びM2のCYP1A2，CYP2B6及びCYP3A4メッセンジャーRNA（mRNA）に対する誘導能を，3ドナー由来のヒト凍結肝細胞を用いて検討した。タスルグラチニブ（検討濃度：0.3，1及び3 μmol/L）は3ドナー全てに対してCYP1A2，CYP2B6及びCYP3A4のmRNA発現レベルを濃度依存的に誘導し，溶媒対照に対する最大増加率はそれぞれ10.72倍，4.47倍及び10.50倍であった。M2（検討濃度：0.3～10 μmol/L）は，1ドナー（ロットHU8200-A）でのCYP3A4 mRNA発現レベルを除いて，全てのドナーで10 μmol/Lまで CYP1A2，CYP2B6及びCYP3A4のmRNA発現レベルを増加させなかった。ロットHU8200-AにおけるM2のCYP3A4 mRNA発現に対する作用は濃度依存性が明確ではなく，陽性対照に対する最大%値はわずか1.6%であった。ゆえにM2はCYP1A2，CYP2B6及びCYP3A4のmRNAに対して誘導能を有さなかった。

排泄

[$^{14}$C]タスルグラチニブをラット（白色）又はイヌに単回経口投与（ラット：3 mg/kg，イヌ：1.5 mg/kg［いずれもフリー体として］）後の放射能の排泄について評価した。雄性 SD ラット（白色）では放射能の排泄は速やかで，投与後 168 時間までに主に糞中に排泄され（投与放射能量の>95%），尿中排泄はわずかであった（投与放射能量の<5%）。胆管カニューレ処置ラットにおいて，投与後 72 時間の胆汁，糞及び尿中への放射能の累積排泄率はそれぞれ投与放射能量の38.0%，17.8%及び 34.8%であった。雄性ビーグル犬では放射能の排泄は速やかで，投与後 168 時間までの累積排泄率は投与放射能量の 92.0%（尿中 4.47%，糞中 86.7%）であった。

薬物動態学的薬物相互作用

In vitro 評価系によるヒト代謝酵素誘導及び阻害については代謝の項に示し，ヒト薬物トランスポーターに対する基質認識性及び阻害活性についてはその他の薬物動態試験の項に示した。

臨床試験では，臨床薬物相互作用試験（003 試験）において，CYP3A の誘導薬（リファンピシン）によるタスルグラチニブ及び M2 の臨床 PK への影響が評価された（2.7.2.2.2.4 項参照）。

その他の薬物動態試験

In vitro 系にてタスルグラチニブ及び M2 の各種ヒト薬物トランスポーターに対する基質認識性，並びにタスルグラチニブ，M2 及び(*R*)-M9 のトランスポーター阻害能を検討した。

タスルグラチニブ及び M2 は P 糖タンパク（P-gp）の基質であったが，乳癌耐性タンパク（BCRP），有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。

タスルグラチニブ及び M2 は検討した最高濃度（それぞれ 13 及び 30 µmol/L）において P-gp を阻害しなかった。BCRP に対する阻害も弱く，$IC_{50}$ はそれぞれ>39 及び>100 µmol/L であった。タスルグラチニブは，OATP1B1，OATP1B3，有機カチオントランスポーター（OCT）1，OCT2，多剤・毒性化合物排出（MATE）1 及び MATE2-K をそれぞれ 14.6，6.43，0.888，5.53，0.0870 及び 5.99 µmol/L の $IC_{50}$ で阻害した。有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び OAT3 に対する阻害は弱かった（$IC_{50}$>30 µmol/L）。M2 は，OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OCT2，MATE1 及び MATE2-K をそれぞれ 18.6，7.43，0.332，3.85，0.0287 及び 6.76 µmol/L の $IC_{50}$ で阻害したが，OAT1 及び OAT3 を阻害しなかった（$IC_{50}$>30 µmol/L）。(*R*)-M9 は，OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OCT2 及び MATE1 をそれぞれ 1.57，0.850，1.02，3.28 及び 0.749 µmol/L の $IC_{50}$ で阻害したが，P-gp，BCRP，OAT1，OAT3 及び MATE-2K を阻害しなかった（$IC_{50}$>10 µmol/L）。

### 2.6.4.2 分析法

#### 2.6.4.2.1 血漿中タスルグラチニブ及び M2 の定量法

**（添付資料 4.2.2.1.1［試験番号 B13006］，添付資料 4.2.2.1.2［試験番号 B13007］，添付資料 4.2.2.1.3［試験番号 B18035］，添付資料 4.2.2.1.4［試験番号 B18036］，添付資料 4.2.2.1.5［試験番号 B18037］）**

ラット（Wistar）及びイヌ（ビーグル）血漿試料中タスルグラチニブの定量のため，LC-MS/MS 法による定量法のバリデーションを行った（4.2.2.1.1，4.2.2.1.2）。系統の異なるラット（Wistar Hannover 及び SD）については，LC-MS/MS 法によるパーシャルな定量法のバリデーシ

ョンを行った（4.2.2.1.1，4.2.2.1.5）。これらの血漿中濃度定量法バリデーションの詳細を 2.6.5.2 項（試験番号 B13006，B13007，B18037）に示した。

ラット（SD）及びイヌ（ビーグル）血漿試料中 M2 の定量のため，LC-MS/MS 法による定量法のバリデーションを行った（4.2.2.1.3，4.2.2.1.4）。これらの血漿中濃度定量法バリデーションの詳細を 2.6.5.2 項（試験番号 B18035，B18036）に示した。

いずれの動物種においても，基準を満たす検量線，直線性，回収率，真度及び精度が得られた。いずれの動物種においても，血漿中タスルグラチニブの定量下限値は 1 ng/mL であり，血漿中 M2 の定量下限値は 0.05 ng/mL であった。タスルグラチニブ及び M2 の 4°C 保存注入試料中，凍結保存添加血漿試料中，又は凍結融解サイクルでの安定性が確認された。

なお，一部の反復投与 TK 試験では，血漿中濃度測定は完全にバリデートされていない LC-MS/MS 法を用いて行われており，該当する試験について 2.6.5.4 項の表脚注にその旨を記した。

#### 2.6.4.2.2 放射性標識体の測定法

##### 2.6.4.2.2.1 [$^{14}$C]タスルグラチニブ

[$^{14}$C]タスルグラチニブは，放射能標識体を要する各種非臨床薬物動態試験で使用した。[$^{14}$C]タスルグラチニブの構造式を図 2.6.4-1 に示す。[$^{14}$C]タスルグラチニブの比放射能（ロット：AL-IC-11141-0080）は [redacted] MBq/mg であり，使用した試験中の放射化学的純度に問題はなかった。

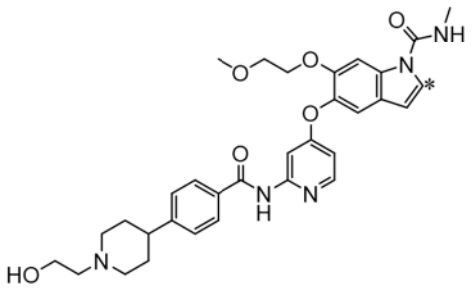



**図 2.6.4-1 [$^{14}$C]タスルグラチニブの構造**

*:　Indicates the labeled position with $^{14}$C.

##### 2.6.4.2.2.2 放射活性の測定

血液，血漿，組織，尿，胆汁及び糞中の $^{14}$C に由来する放射能濃度は，外部標準線源法により LSC で測定した。組織分布の評価は定量的全身オートラジオグラフィーで行った。放射能濃度はタスルグラチニブフリー体当量（ng eq./g or mL）として表示した。ラット及びイヌに[$^{14}$C]タスルグラチニブを投与した際の代謝物プロファイリングにおいては，試料中の代謝物を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で分離後オンライン又はオフライン放射能検出器によって定量し，LC-MS(MS$^{n}$)（liquid chromatography with mass spectrometry or multi-stage mass spectrometry）によって代謝物の構造を同定若しくは推定した。

### 2.6.4.3 吸収

本項（2.6.4.3 項）における全ての単回投与 PK 試験及び医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用反復投与毒性試験の TK 試験において，投与量はタスルグラチニブコハク酸塩としての量を示し，濃度はタスルグラチニブフリー体として表示した。なお，GLP 非適用反復投与毒性試験の TK 試験では，タスルグラチニブフリー体を被験物質として投与した。タスルグラチニブ及び M2 の血漿中濃度は LC-MS/MS 法で測定し，PK パラメータは得られたデータから直接又はモデル非依存的解析法により算出した。[$^{14}$C]タスルグラチニブを用いた場合，投与量はタスルグラチニブフリー体換算量として表示し，放射能量を LSC で測定したのち放射能濃度はタスルグラチニブフリー体当量として表示した。

#### 2.6.4.3.1 ラット単回投与

##### 2.6.4.3.1.1 ラットに単回投与したときの血漿中濃度推移

**（添付資料 4.2.2.2.1［試験番号 DMPKT2013-014］，添付資料 4.2.2.2.2［試験番号 B13015］）**

タスルグラチニブコハク酸塩を雄性 Wistar Hannover ラット（各 4 例/群）に単回静脈内投与（2 mg/kg［コハク酸塩として］）又は単回経口投与（2，7 及び 27 mg/kg［コハク酸塩として］）した際の血漿中タスルグラチニブ濃度を LC-MS/MS 法で定量し，薬物動態特性を検討した（4.2.2.2.1，4.2.2.2.2）。当試験の経口投与群は，ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（4.2.3.2.2［試験番号：K13100］）の雄性ラットの投与 1 日目の血漿中濃度としてサンプリングしたものである。血漿中濃度推移を図 2.6.4-2 に示し，得られた薬物動態パラメータを表 2.6.4-1 に示す。

タスルグラチニブコハク酸塩を雄性ラットに単回静脈内投与（2 mg/kg）したときのタスルグラチニブの血漿中濃度は 3.28 時間の $t_{½}$で消失した。$CL_p$ 及び $V_{ss}$ は，それぞれ 3015 mL/h/kg 及び 5393 mL/kg であった。タスルグラチニブコハク酸塩を雄性ラットに単回経口投与（2，7 及び 27 mg/kg）したときの $t_{max}$ は 4 時間であり，$t_{½}$は 2.08～2.73 時間であった。$AUC_{(0\text{-}inf)}$及び $C_{max}$ は投与量 2～27 mg/kg において投与量公比を上回る増加を示した。投与量標準化 AUC 比（対静脈内投与 2 mg/kg）は，経口投与 2，7 及び 27 mg/kg において，それぞれ 5.4%，7.9%及び 10.9%であり，経口投与 2 mg/kg における F は 5.4%であった。

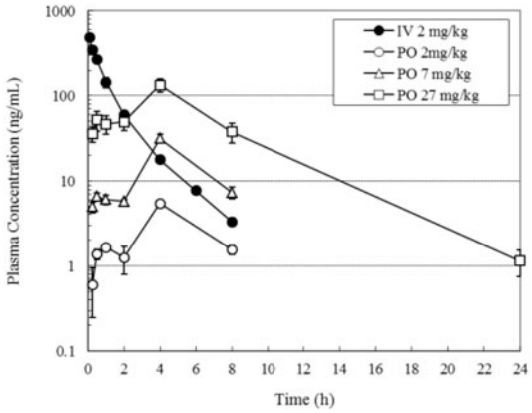



**図 2.6.4-2 雄性ラットにタスルグラチニブコハク酸塩を単回静脈内及び単回経口投与したときの血漿中タスルグラチニブ濃度推移**

Each point represents the mean ±SEM of 4 animals. Each dose value is expressed as tasurgratinib succinate. IV = intravenous, PO = oral.
出典：添付資料 4.2.2.2.1 (DMPKT2013-014)

**表 2.6.4-1 雄性ラットにタスルグラチニブコハク酸塩を単回静脈内及び単回経口投与したときのタスルグラチニブの薬物動態パラメータ**

| Pharmacokinetic Parameters | IV Administration | PO Administration | | |
|---|---|---|---|---|
| | 2 mg/kg | 2 mg/kg | 7 mg/kg | 27 mg/kg |
| $t_{max}$ (h) | NA | 4.00 (4 – 4) | 4.00 (4 – 4) | 4.00 (4 – 4) |
| $C_{max}$ (ng/mL) | NA | 5.46±0.490 | 31.6±3.80 | 134±22.5 |
| $t_{½}$ (h) | 3.28±1.81 | 2.27±0.23 | 2.08±0.45 | 2.73±0.42 |
| $AUC_{(0\text{-}t)}$ (ng·h/mL) | 500.1±43.4 | 21.7±1.1 | 114.2±8.6 | 727.6±159.2 |
| $AUC_{(0\text{-}inf)}$ (ng·h/mL) | 510.3±47.2 | 26.9±1.9 | 138.1±10.0 | 741.1±153.7 |
| $MRT_{(0\text{-}inf)}$ (h) | 1.91±0.53 | 5.78±0.34 | 5.67±0.57 | 5.91±0.38 |
| $CL_p$ (mL/h/kg) | 3015±245 | NA | NA | NA |
| $V_{ss}$ (mL/kg) | 5393±926 | NA | NA | NA |
| F (%) | NA | 5.4 | NA | NA |
| Dose-normalized AUC ratio (%) | NA | 5.4 | 7.9 | 10.9 |

Each value represents the mean ±SEM of 4 animals (except $t_{max}$, F, and dose-normalized AUC ratio). Each $t_{max}$ value represents the mean (range) of 4 animals. Each dose value is expressed as tasurgratinib succinate. Concentrations are expressed as the free form of tasurgratinib. F was calculated from the ratio of the mean of $AUC_{(0\text{-}inf)}$ following oral administration to that following intravenous administration at 2 mg/kg. To calculate dose-normalized AUC ratios, the mean of dose-normalized $AUC_{(0\text{-}inf)}$ following oral administration was divided by the mean of $AUC_{(0\text{-}inf)}$ following intravenous administration.
AUC = area under the concentration-time curve, $AUC_{(0\text{-}inf)}$ = AUC from zero time extrapolated to infinite time, $AUC_{(0\text{-}t)}$ = AUC from zero time to time of last quantifiable concentration, $CL_p$ = total plasma clearance, $C_{max}$ = maximum observed concentration, F = absolute bioavailability, IV = intravenous, $MRT_{(0\text{-}inf)}$ = mean residence time from zero time extrapolated to infinite time, NA = not applicable, PO = oral, $t_{½}$ = terminal elimination phase half-life, $t_{max}$ = time at which the highest drug concentration occurs, $V_{ss}$ = volume of distribution at steady state.
出典：添付資料 4.2.2.2.1 (DMPKT2013-014)

### 2.6.4.3.1.2 ラットに[$^{14}$C]タスルグラチニブを単回経口投与したときの放射能濃度推移（添付資料 4.2.2.2.5［試験番号 8362069｛参考｝］）

雄性 SD ラット（白色）及び雄性 Lister-Hooded ラット（有色）に絶食下で[$^{14}$C]タスルグラチニブ（3 mg/kg［フリー体として］）を単回経口投与後の放射能の吸収について LSC 測定により検討した（4.2.2.2.5）。

白色及び有色ラットに[$^{14}$C]タスルグラチニブを経口投与後の血液及び血漿中放射能の薬物動態パラメータを表 2.6.4-2 に示した。白色ラットにおける血液中の放射能濃度は投与後 2 時間に最高値（45.4 ng eq./mL）となり，その $AUC_{(0\text{-inf})}$は 221 ng eq.·h/mL であり，$t_{½}$は 4.02 時間であった。血漿中の放射能濃度は投与後 2 時間に最高値（77.7 ng eq./mL）となり，その $AUC_{(0\text{-inf})}$は 369 ng eq.·h/mL であり，$t_{½}$は 5.24 時間であった。有色ラットにおける血液中の放射能濃度は投与後 2～8 時間に最高値（12.5 ng eq./mL）となった。血漿中の放射能濃度は投与後 2～8 時間に最高値（18.0 ng eq./mL）となり，その $AUC_{(0\text{-inf})}$は 219 ng eq.·h/mL（1 例の値）であり，$t_{½}$は 13.9 時間（1 例の値）であった。

**表 2.6.4-2 [$^{14}$C]タスルグラチニブを雄性ラットに 3 mg/kg で単回経口投与したときの血液及び血漿中放射能の薬物動態パラメータ**

| Pharmacokinetic Parameters | Albino Rats[a] | | Partially-Pigmented Rats[b] | |
|---|---|---|---|---|
| | Blood | Plasma | Blood | Plasma |
| $t_{½}$ (h) | 4.02 | 5.24 | NC | 13.9[c] |
| $t_{max}$ (h) | 2 | 2 | 4 (2 – 8)[d] | 4 (2 – 8)[d] |
| $C_{max}$ (ng eq./mL) | 45.4 | 77.7 | 12.5±2.51 | 18.0±2.28 |
| $t_{last}$ (h) | 12 | 48 | 12 (12 – 24)[d] | 48 (12 – 72)[d] |
| $C_{last}$ (ng eq./mL) | 4.56 | 1.70 | 3.70±1.11 | 1.85±1.66 |
| $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng eq.·h/mL) | 222 | 318 | 154±51.2 | 201±70.7 |
| $AUC_{(0\text{-}t)}$ (ng eq.·h/mL) | 195 | 356 | 137±62.3 | 219±101 |
| $AUC_{(0\text{-inf})}$ (ng eq.·h/mL) | 221 | 369 | NC | 219[c] |

Dose of [$^{14}$C]tasurgratinib: 3 mg/kg as free form.
AUC = area under the concentration-time curve, $AUC_{(0\text{-}24h)}$ =AUC from zero time to 24 hours, $AUC_{(0\text{-inf})}$ = AUC from zero time extrapolated to infinite time, $AUC_{(0\text{-}t)}$ = AUC from zero time to time of last quantifiable concentration, $C_{last}$ = last measurable concentration, $C_{max}$ = maximum observed concentration, eq. = equivalent, NC = not calculable, $t_{½}$ = terminal elimination phase half-life, $t_{last}$ = time of the last measurable concentration, $t_{max}$ = time at which the highest drug concentration occurs.
a: Mean blood or plasma concentrations from 3 animals/point were used for calculating pharmacokinetic parameters.
b: Mean ±SD of 3 animals.
c: Single determination, not calculable from the other 2 animals.
d: Median (range).
出典：添付資料 4.2.2.2.5 (8362069)

### 2.6.4.3.2 イヌ単回投与

#### 2.6.4.3.2.1 イヌに単回投与したときの血漿中濃度推移

**（添付資料 4.2.2.2.3［試験番号 DMPKT2013-015］，添付資料 4.2.2.2.4［試験番号 B13016］）**

タスルグラチニブコハク酸塩を雄性ビーグル犬（各 3～5 例/群）に単回静脈内投与（1.5 mg/kg［コハク酸塩として］）又は単回経口投与（1.5，5.4 及び 27 mg/kg［コハク酸塩として］）した際の血漿中タスルグラチニブ濃度を LC-MS/MS 法で定量し，薬物動態特性を検討した（4.2.2.2.3，4.2.2.2.4）。当試験の経口投与群は，イヌにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（4.2.3.2.5［試験番号：T13032］）の雄性イヌの投与初日の血漿中濃度としてサンプリングしたものである。血漿中濃度推移を図 2.6.4-3 に示し，得られた薬物動態パラメータを表 2.6.4-3 に示す。

タスルグラチニブコハク酸塩を雄性イヌに単回静脈内投与（1.5 mg/kg）したときのタスルグラチニブの血漿中濃度は 7.79 時間の $t_{½}$で消失した。$CL_p$ 及び $V_{ss}$ は，それぞれ 913 mL/h/kg 及び 8837 mL/kg であった。タスルグラチニブコハク酸塩を雄性イヌに単回経口投与（1.5，5.4 及び 27 mg/kg）したときの $t_{max}$ は 1.30～3.33 時間であり，$t_{½}$は 5.66～8.58 時間であった。$AUC_{(0\text{-}inf)}$及び $C_{max}$ は投与量 1.5～27 mg/kg においてほぼ投与量公比に応じた増加を示した。投与量標準化 AUC 比（対静脈内投与 1.5 mg/kg）は，経口投与 1.5，5.4 及び 27 mg/kg において，それぞれ 65.3%，63.9%及び 60.1%であり，経口投与 1.5 mg/kg における F は 65.3%であった。

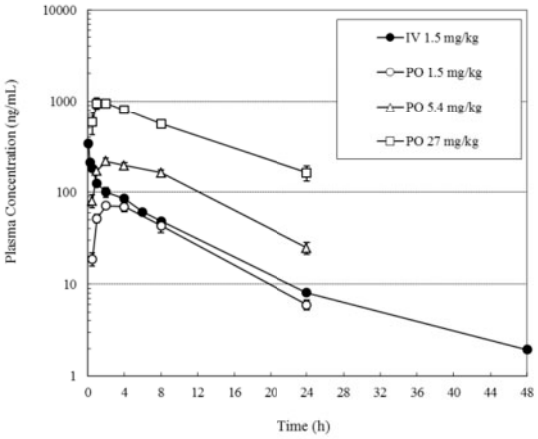



**図 2.6.4-3 雄性イヌにタスルグラチニブコハク酸塩を単回静脈内及び単回経口投与したときの血漿中タスルグラチニブ濃度推移**

Each point represents the mean ±SEM of 3 or 5 animals.　Each dose value is expressed as tasurgratinib succinate.　IV = intravenous, PO = oral.
出典：添付資料 4.2.2.2.3 (DMPKT2013-015)

**表 2.6.4-3 雄性イヌにタスルグラチニブコハク酸塩を単回静脈内及び単回経口投与したときのタスルグラチニブの薬物動態パラメータ**

| Pharmacokinetic Parameters | IV Administration | PO Administration | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1.5 mg/kg | 1.5 mg/kg | 5.4 mg/kg | 27 mg/kg |
| $t_{max}$ (h) | NA | 3.33 (2 – 4) | 2.40 (2 – 4) | 1.30 (0.5 – 2) |
| $C_{max}$ (ng/mL) | NA | 73.2±4.33 | 219±17.1 | 1010±108 |
| $t_{½}$ (h) | 7.79±0.21 | 5.66±0.08 | 6.64±0.51 | 8.58±0.90 |
| $AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL) | 1215.3±33.2 | 744.8±90.1 | 2551.1±112.7 | 10,993.3±1049.8 |
| $AUC_{(0-inf)}$ (ng·h/mL) | 1237.2±34.5 | 793.5±95.2 | 2797.0±141.7 | 13,144.6±1510.9 |
| $MRT_{(0-inf)}$ (h) | 9.68±0.36 | 9.37±0.15 | 10.63±0.72 | 13.02±1.28 |
| $CL_p$ (mL/h/kg) | 913±25 | NA | NA | NA |
| $V_{ss}$ (mL/kg) | 8837±445 | NA | NA | NA |
| F (%) | NA | 65.3 | NA | NA |
| Dose-normalized AUC ratio (%) | NA | 65.3 | 63.9 | 60.1 |

Each value represents the mean ±SEM of 3 or 5 animals (except $t_{max}$, F, and dose-normalized AUC ratio). Each $t_{max}$ value represents the mean (range) of 3 or 5 animals. Each dose value is expressed as tasurgratinib succinate. Concentrations are expressed as the free form of tasurgratinib. F was calculated from the ratio of the mean of $AUC_{(0-inf)}$ following oral administration relative to that following intravenous administration at 1.5 mg/kg. To calculate dose-normalized AUC ratio, the mean of dose-normalized $AUC_{(0-inf)}$ following oral administration was divided by the mean of dose-normalized $AUC_{(0-inf)}$ following intravenous administration. AUC = area under the concentration-time curve, $AUC_{(0-inf)}$ = AUC from zero time extrapolated to infinite time, $AUC_{(0-t)}$ = AUC from zero time to time of last quantifiable concentration, $CL_p$ = total plasma clearance, $C_{max}$ = maximum observed concentration, F = absolute bioavailability, IV = intravenous, $MRT_{(0-inf)}$ = mean residence time from zero time extrapolated to infinite time, NA = not applicable, PO = oral, $t_{½}$ = terminal elimination phase half-life, $t_{max}$ = time at which the highest drug concentration occurs, $V_{ss}$ = volume of distribution at steady state.

出典：添付資料 4.2.2.2.3 (DMPKT2013-015)

### 2.6.4.3.2.2 イヌに[$^{14}$C]タスルグラチニブを単回経口投与したときの放射能濃度推移（添付資料 4.2.2.2.6［試験番号 8361652｛参考｝］）

雄性ビーグル犬に絶食下で[$^{14}$C]タスルグラチニブ（1.5 mg/kg［フリー体として］）を単回経口投与後の放射能の吸収について LSC 測定により検討した（4.2.2.2.6）。

ビーグル犬に[$^{14}$C]タスルグラチニブを経口投与後の血液及び血漿中放射能の薬物動態パラメータを表 2.6.4-4 に示した。血液中の放射能濃度は投与後 2～4 時間に最高値（75.9 ng eq./mL）となり，その $AUC_{(0-inf)}$は 1840 ng eq.·h/mL であり，$t_{½}$は 116 時間であった。血漿中の放射能濃度は投与後 2～6 時間に最高値（103 ng eq./mL）となり，その $AUC_{(0-inf)}$は 2320 ng eq.·h/mL（1 例の値）であり，$t_{½}$は 77.4 時間（1 例の値）であった。

表 2.6.4-4 [$^{14}$C]タスルグラチニブを雄性イヌに 1.5 mg/kg で単回経口投与したときの血液及び血漿中放射能の薬物動態パラメータ

| Pharmacokinetic Parameters | Oral Administration (n=3) | |
|---|---|---|
| | Blood | Plasma |
| $t_{½}$ (h) | 116±32.9 | 77.4[a] |
| $t_{max}$ (h) | 2.00 (2.00 – 4.00)[b] | 4.00 (2.00 – 6.00)[b] |
| $C_{max}$ (ng eq./mL) | 75.9±7.02 | 103±6.16 |
| $t_{last}$ (h) | 168±0.00 | 168±0.00 |
| $C_{last}$ (ng eq./mL) | 2.03±0.37 | 2.03±0.92 |
| $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng eq.·h/mL) | 955±94.4 | 1410±130 |
| $AUC_{(0\text{-}t)}$ (ng eq.·h/mL) | 1480±167 | 2060±288 |
| $AUC_{(0\text{-}inf)}$ (ng eq.·h/mL) | 1840±306 | 2320[a] |

Dose of [$^{14}$C]tasurgratinib: 1.5 mg/kg as free form.
Parameters are shown as the mean ±SD except for $t_{max}$, which is presented as median with range in a parenthesis.
AUC = area under the concentration-time curve, $AUC_{(0\text{-}24h)}$ = AUC from zero time to 24 hours, $AUC_{(0\text{-}inf)}$ = AUC from zero time extrapolated to infinite time, $AUC_{(0\text{-}t)}$ = AUC from zero time to time of last quantifiable concentration, $C_{last}$ = last measurable concentration, $C_{max}$ = maximum observed concentration, eq. = equivalent, $t_{½}$ = terminal elimination phase half-life, $t_{last}$ = time of the last measurable concentration, $t_{max}$ = time at which the highest drug concentration occurs.
a: Data based on single value (Animal No.102M only).
b: Median (range).
出典：添付資料 4.2.2.2.6 (8361652)

### 2.6.4.3.3 ラット反復投与（反復投与毒性試験でのトキシコキネティクス）

雌雄ラットを用いた 1 日 1 回反復経口投与毒性試験（2 週間［Wistar Hannover］，4 週間［Wistar Hannover］及び 13 週間［SD］）におけるタスルグラチニブの TK プロファイルを評価した。なお，13 週間反復経口投与毒性試験では，M2 の TK プロファイルも評価した。血漿中タスルグラチニブ及び M2 濃度を LC-MS/MS 法で測定し，TK パラメータをモデル非依存解析より算出した。

#### 2.6.4.3.3.1 ラットにおける 2 週間反復投与毒性試験でのトキシコキネティクス（添付資料 4.2.3.2.1［試験番号 T12097｛参考｝］）

ラット（Wistar Hannover，雌雄，2～3 匹/群）にタスルグラチニブを 1 日 1 回 2 週間反復経口投与（投与量：10，30，100 及び 300 mg/kg［フリー体として］）したときのタスルグラチニブの TK プロファイルを評価した（4.2.3.2.1）。結果を 2.6.5.4 項（試験番号 T12097）に示した。

暴露量（$C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$）は雄よりも雌で高かった。$C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，10 から 30 mg/kg 投与時の雌を除き，投与量公比を下回る増加を示した。10 及び 30 mg/kg 反復投与後の $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$には，30 mg/kg 投与時の雌を除き，投与初日と比べて明らかな差は認められなかった。

#### 2.6.4.3.3.2 ラットにおける 4 週間反復投与毒性試験でのトキシコキネティクス（添付資料 4.2.3.2.2［試験番号 K13100］）

ラット（Wistar Hannover，雌雄，各群 4 例）にタスルグラチニブコハク酸塩を 4 週間反復経口投与したときのタスルグラチニブの TK プロファイルを検討した（4.2.3.2.2）。タスルグラチニブ

コハク酸塩を Wistar Hannover ラットに 1 日 1 回 4 週間経口投与（投与量 2，7 及び 27 mg/kg［コハク酸塩として］）し，投与初日及び 29 日目の血漿試料を採取した。血漿中タスルグラチニブ濃度を LC-MS/MS 法で測定し，TK パラメータをモデル非依存解析より算出した。

結果を表 2.6.4-5 に示した。タスルグラチニブの $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ に性差が認められた（雌＞雄）。タスルグラチニブの $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ は 2～27 mg/kg において投与量公比を上回る増加を示した。4 週間の反復投与後もタスルグラチニブの $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ に変化は認められず，顕著な蓄積は認められなかった。

**表 2.6.4-5 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験におけるタスルグラチニブのトキシコキネティクスパラメータ**

| Dose (mg/kg) | Day | Male | | Female | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL) | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL) |
| 2 | Day 1 | 5.46±0.98 | 35.8±4.7 | 20.8±5.0 | 155±41 |
| | Day 29 | 6.62±3.68 | 49.0±21.3 | 21.6±7.4 | 177±38 |
| 7 | Day 1 | 31.6±7.6 | 185±27 | 129±13 | 869±76 |
| | Day 29 | 52.8±21.5 | 305±126 | 202±53 | 1320±220 |
| 27 | Day 1 | 134±45 | 927±373 | 795±307 | 4710±1550 |
| | Day 29 | 137±47 | 1400±980 | 677±178 | 5560±2130 |

Data represents the mean ±SD of 4 animals.　Each dose value is expressed as tasurgratinib succinate.
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = AUC from zero time to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.2.2 (K13100)

### 2.6.4.3.3.3 ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験でのトキシコキネティクス（添付資料 4.2.3.2.3［試験番号 B200206］）

ラット（SD，雌雄，各群 4 例）にタスルグラチニブコハク酸塩を 13 週間反復経口投与したときのタスルグラチニブ及び M2 の TK プロファイルを検討した（4.2.3.2.3）。タスルグラチニブコハク酸塩を SD ラットに 1 日 1 回 13 週間経口投与（投与量 0.6，2 及び 5 mg/kg［コハク酸塩として］）し，投与初日及び 91 日目の血漿試料を採取した。血漿中タスルグラチニブ及び M2 濃度を LC-MS/MS 法で測定し，TK パラメータをモデル非依存解析より算出した。

結果を表 2.6.4-6 に示した。タスルグラチニブの $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ は，雌雄で 0.6～5 mg/kg において投与量公比を上回る増加を示した。タスルグラチニブの $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ には性差が認められた（雌＞雄）。13 週間の反復投与により，タスルグラチニブの暴露量は雄で蓄積した。

M2 の $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ はタスルグラチニブの値と比較して低く（1.0%未満），雄では 13 週間の反復投与により暴露量が増加した。

表 2.6.4-6 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験におけるタスルグラチニブ及び M2 のトキシコキネティクスパラメータ

**1) Toxicokinetic Summary of Tasurgratinib**

| Dose (mg/kg) | Day | Male | | Female | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0-24h)}$ (ng·h/mL) | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0-24h)}$ (ng·h/mL) |
| 0.6 | Day 1 | 1.97±0.593 | 5.90±1.78 | 5.27±1.31 | 50.2±6.24 |
| | Day 91 | 3.89±1.36 | 34.1±17.4 | 7.25±1.80 | 67.9±8.17 |
| 2 | Day 1 | 11.3±3.20 | 78.7±21.2 | 31.2±10.1 | 282±37.4 |
| | Day 91 | 24.6±11.4 | 227±78.3 | 46.7±24.2 | 425±200 |
| 5 | Day 1 | 36.1±6.90 | 239±53.9 | 133±36.3 | 1150±99.7 |
| | Day 91 | 60.5±14.9 | 546±118 | 141±60.1 | 1460±348 |

**2) Toxicokinetic Summary of M2**

| Dose (mg/kg) | Day | Male | | Female | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0-24h)}$ (ng·h/mL) | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0-24h)}$ (ng·h/mL) |
| 0.6 | Day 1 | NC | NC | NC | NC |
| | Day 91 | NC | NC | NC | NC |
| 2 | Day 1 | NC | NC | NC | NC |
| | Day 91 | 0.110±0.0842 | 0.955±0.772 | 0.117±0.0575 | 0.874±0.741 |
| 5 | Day 1 | 0.0754±0.0175 | 0.226±0.0526 | 0.237±0.0646 | 2.17±0.350 |
| | Day 91 | 0.214±0.0952 | 2.02±0.926 | 0.367±0.182 | 3.71±1.28 |

Data represents the mean ±SD of 4 animals. Each dose value is expressed as tasurgratinib succinate. NC means not calculated because almost all samples were below the quantification limit (BQL, tasurgratinib: <1 ng/mL, M2: <0.05 ng/mL).
$AUC_{(0-24h)}$ = AUC from zero time to 24 hours, BQL = below the quantification limit, NC = not calculated.
出典：添付資料 4.2.3.2.3 (B200206)

### 2.6.4.3.4 イヌ反復投与（反復投与毒性試験でのトキシコキネティクス）

雌雄ビーグル犬を用いた 1 日 1 回反復経口投与毒性試験（2 週間，4 週間及び 13 週間）におけるタスルグラチニブの TK プロファイルを評価した。なお，13 週間反復経口投与毒性試験では，M2 の TK プロファイルも評価した。血漿中タスルグラチニブ及び M2 濃度を LC-MS/MS 法で測定し，TK パラメータをモデル非依存解析より算出した。

#### 2.6.4.3.4.1 イヌにおける 2 週間反復投与毒性試験でのトキシコキネティクス（添付資料 4.2.3.2.4［試験番号 T13014｛参考｝］）

ビーグル犬（雌雄，各群 1 例）にタスルグラチニブを 1 日 1 回 2 週間反復経口投与（投与量：3 及び 30 mg/kg［フリー体として］）したときのタスルグラチニブの TK プロファイルを評価した（4.2.3.2.4）。結果を 2.6.5.4 項（試験番号 T13014）に示した。

$C_{max}$ 及び $AUC_{(0-24h)}$は投与量公比を下回る増加を示した。$C_{max}$ 及び $AUC_{(0-24h)}$は，雌雄間及び投与初日と 14 日目の間で顕著な差はなかった。

### 2.6.4.3.4.2 イヌにおける 4 週間反復投与毒性試験でのトキシコキネティクス（添付資料 4.2.3.2.5［試験番号 T13032］）

ビーグル犬（雌雄，3～5 例/群）にタスルグラチニブコハク酸塩を 4 週間反復経口投与したときのタスルグラチニブの TK プロファイルを検討した（4.2.3.2.5）。タスルグラチニブコハク酸塩をビーグル犬に 1 日 1 回 4 週間経口投与（投与量：1.5，5.4 及び 27 mg/kg［コハク酸塩として］）し，投与初日及び 28 日目の血漿試料を採取した。血漿中タスルグラチニブ濃度を LC-MS/MS 法で測定し，TK パラメータをモデル非依存解析より算出した。

結果を表 2.6.4-7 に示した。タスルグラチニブの $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は 1.5～27 mg/kg においてほぼ投与量公比に応じて増加した。$C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，1.5 及び 5.4 mg/kg において雌雄間及び投与初日と 28 日目で同程度であった。

**表 2.6.4-7 イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験におけるタスルグラチニブのトキシコキネティクスパラメータ**

| Dose (mg/kg) | Day | Male | | Female | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL) | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL) |
| 1.5[a] | Day 1 | 73.2±7.5 | 842±185 | 80.1±14.2 | 765±121 |
| | Day 28 | 93.7±23.4 | 983±296 | 110±28 | 1260±120 |
| 5.4[b] | Day 1 | 219±38 | 2890±280 | 344±25 | 3820±480 |
| | Day 28 | 295±76 | 3640±610 | 334±52 | 4790±780 |
| 27[b,c] | Day 1 | 1010±240 | 11,700±2300 | 990±318 | 10,500±2900 |
| | Day 28 | NA | NA | NA | NA |

Data represents the mean ±SD of 3 or 5 animals. Each dose value is expressed as tasurgratinib succinate.
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = AUC from zero time to 24 hours, NA: not applicable.
a: $C_{max}$ and $AUC_{(0\text{-}24h)}$ values represent the mean ±SD of 3 animals.
b: $C_{max}$ and $AUC_{(0\text{-}24h)}$ values represent the mean ±SD of 5 animals.
c: The administration period of high-dose level was shortened to 13 days.
出典：添付資料 4.2.3.2.5 (T13032)

### 2.6.4.3.4.3 イヌにおける 13 週間反復投与毒性試験でのトキシコキネティクス（添付資料 4.2.3.2.6［試験番号 B200205］）

ビーグル犬（雌雄，3 例/群）にタスルグラチニブコハク酸塩を 13 週間反復経口投与したときのタスルグラチニブ及び M2 の TK プロファイルを検討した（4.2.3.2.6）。タスルグラチニブコハク酸塩をビーグル犬に 1 日 1 回 13 週間経口投与（投与量：0.5，1 及び 2 mg/kg［コハク酸塩として］）し，投与初日及び 91 日目の血漿試料を採取した。血漿中タスルグラチニブ及び M2 濃度を LC-MS/MS 法で測定し，TK パラメータをモデル非依存解析より算出した。

結果を表 2.6.4-8 に示した。タスルグラチニブの $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，雌雄ともに 0.5～2 mg/kg において投与量公比に応じて増加した。タスルグラチニブの $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$に顕著な性差は認められなかった。13 週間反復投与によるタスルグラチニブの暴露量の蓄積は，雌雄ともに認められなかった。

M2 の $C_{max}$ 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$はタスルグラチニブの値と比較して低かった（2.0%未満）。13 週間反復投与による M2 の暴露量の蓄積は，雌雄ともに認められなかった。

表 2.6.4-8 イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験におけるタスルグラチニブ及び M2 のトキシコキネティクスパラメータ

**1) Toxicokinetic Summary of Tasurgratinib**

| Dose (mg/kg) | Day | Male | | Female | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0-24h)}$ (ng·h/mL) | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0-24h)}$ (ng·h/mL) |
| 0.5 | Day 1 | 22.3±2.63 | 312±4.73 | 28.3±3.46 | 321±4.62 |
| | Day 91 | 32.9±3.00 | 408±9.87 | 30.6±6.98 | 379±35.4 |
| 1 | Day 1 | 44.1±5.35 | 661±78.0 | 51.0±11.6 | 697±41.4 |
| | Day 91 | 64.4±10.2 | 844±62.6 | 69.1±17.1 | 932±135 |
| 2 | Day 1 | 86.5±23.9 | 1230±403 | 96.0±4.80 | 1170±176 |
| | Day 91 | 143±49.2 | 1370±512 | 101±6.01 | 1470±251 |

**2) Toxicokinetic Summary of M2**

| Dose (mg/kg) | Day | Male | | Female | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0-24h)}$ (ng·h/mL) | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{(0-24h)}$ (ng·h/mL) |
| 0.5 | Day 1 | 0.181±0.0182 | 1.49±0.182 | 0.261±0.120 | 2.22±0.975 |
| | Day 91 | 0.236±0.0610 | 1.89±0.179 | 0.205±0.0487 | 2.45±0.256 |
| 1 | Day 1 | 0.368±0.199 | 4.39±1.38 | 0.572±0.236 | 7.32±3.21 |
| | Day 91 | 0.413±0.124 | 5.73±1.87 | 0.624±0.346 | 7.51±3.31 |
| 2 | Day 1 | 0.957±0.209 | 11.1±5.33 | 0.795±0.0277 | 8.68±3.44 |
| | Day 91 | 0.960±0.351 | 8.41±3.50 | 0.830±0.0799 | 10.0±3.18 |

Data represents the mean ±SD of 3 animals.　Each dose value is expressed as tasurgratinib succinate.
$AUC_{(0-24h)}$ = AUC from zero time to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.2.6 (B200205)

### 2.6.4.3.5 タスルグラチニブの吸収に対する食事の影響

タスルグラチニブの吸収に対する食餌の影響を評価する非臨床試験は行われていない。

臨床試験では，003 試験（5.3.3.4.1）でタスルグラチニブの吸収に対する高脂肪食の効果を評価した（2.7.1.2.2 項参照）。

## 2.6.4.4 分布

### 2.6.4.4.1 白色ラット又は有色ラットに[$^{14}$C]タスルグラチニブを単回経口投与したときの放射能の組織分布（添付資料 4.2.2.2.5［試験番号 8362069｛参考｝］）

雄性 SD ラット（白色）及び雄性 Lister-Hooded ラット（有色）に絶食下で[$^{14}$C]タスルグラチニブ（3 mg/kg［フリー体として］）を単回経口投与後の放射能の組織分布について検討した（4.2.2.2.5）。組織分布の評価は定量的全身オートラジオグラフィーで行った。結果を 2.6.5.5 項（試験番号 8362069）に示し，以下に概略を示す。

白色ラットにおいて，消化管を除く多くの組織で，投与後 5 時間に放射能濃度が最高となった。胆管，腎臓（内側及び外側の皮質），肝臓，副腎（皮質及び髄質），脾臓，甲状腺及び下垂体で放射能濃度は高値を示し，それらの $C_{max}$ は 1030～2100 ng eq./g であった。最終採取時点である投与後 168 時間で大動脈壁においてのみ 71.0 ng eq./g の放射能濃度が検出された。全ての時点において中枢神経系組織の放射能濃度は低値であった。

有色ラットは全般的に白色ラットと同様の放射能の組織分布を示し，白色ラットに比べて各組織の放射能濃度は低かった。投与後 4～12 時間に組織中放射能濃度が最高となった。最終採取

時点である投与後 672 時間において，大動脈壁に 25.7 ng eq./g，髄膜に 46.6 ng eq./g の放射能濃度が検出された。メラニン含有組織では，白色ラットに比べて高い放射能濃度を示し（ブドウ膜／網膜で最高値 1010 ng eq./g［白色ラットでは 171 ng eq./g］），最終採取時点まで濃度が検出された（ブドウ膜／網膜では 372 ng eq./g）。これらのことから，[$^{14}$C]タスルグラチニブ由来放射能のメラニン含有組織への結合親和性が示唆された。

#### 2.6.4.4.2 血漿タンパク結合率

**（添付資料 5.3.2.1.1［試験番号 B13014］，添付資料 5.3.2.1.2［試験番号 B16010］，5.3.2.1.3［試験番号 AL-7881-G］添付資料 5.3.2.1.4［試験番号 AL-8206-G］）**

平衡透析法を用いて，タスルグラチニブ（添加濃度：100，1000 及び 3000 ng/mL［フリー体として］）の雄性 Wistar Hannover ラット，雄性ビーグル犬，雌性 BALB/cAJcl-nu/nu マウス及びヒト（男性）における血漿タンパク結合率を in vitro 試験で検討した（5.3.2.1.1）。インキュベーションは，イヌ及びヒトにおいては 37°C で 48 時間行い，マウス及びラットにおいては血漿試料中での安定性を確保するため 4°C で 48 時間行った。

表 2.6.4-9 に示すように，タスルグラチニブの各動物種における血漿タンパク結合率には，添加濃度 100～3000 ng/mL（フリー体として）の範囲で濃度依存性はなかった。タスルグラチニブの血漿タンパク結合率の平均値は，ラット 96.8%，イヌ 92.0%，マウス 97.0%及びヒト 93.7%であった。

表 2.6.4-9 タスルグラチニブの血漿タンパク結合率（in vitro）

| Spiked Concentration as Free Form (ng/mL) | Plasma Protein Binding (%) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Rat[a] | Dog[b] | Mouse[a] | Human[b] |
| 100 | 96.9±0.2 | 91.7±0.6 | 97.0±0.1 | 93.2±0.4 |
| 1000 | 96.7±0.3 | 91.6±0.3 | 96.8±0.1 | 93.6±0.4 |
| 3000 | 96.7±0.1 | 92.6±0.5 | 97.1±0.2 | 94.3±1.1 |
| Mean of 3 concentrations | 96.8 | 92.0 | 97.0 | 93.7 |

Each value represents the mean ±SEM (n=3). In rats, 3 lots of pooled plasma from 2 animals were used. In mice, 1 lot of pooled plasma from 65 animals was used in triplicate. In dogs and humans, plasma from 3 individuals was used.
a: Dialysis condition: 4 °C for 48 hours.
b: Dialysis condition: 37 °C for 48 hours.
出典：添付資料 5.3.2.1.1 (B13014)

平衡透析法を用いて，M2（添加濃度：30，100 及び 1000 ng/mL［フリー体として］）のヒト（男性）における血漿タンパク結合率を in vitro 試験で検討した（5.3.2.1.2）。インキュベーションは，37°C で 48 時間行った。

表 2.6.4-10 に示すように，M2 のヒト血漿タンパク結合率には，添加濃度 30～1000 ng/mL（フリー体として）の範囲で濃度依存性はなかった。M2 のヒト血漿タンパク結合率の平均値は 90.0%であった。

表 2.6.4-10 M2 のヒト血漿タンパク結合率（in vitro）

| Spiked Concentration as Free Form (ng/mL) | Human Plasma Protein Binding (%)[a] |
|---|---|
| 30 | 90.1±0.7 |
| 100 | 90.5±0.3 |
| 1000 | 89.3±0.6 |
| Mean of 3 concentrations | 90.0 |

Each value represents the mean ±SEM (n=3).
a: Dialysis condition: 37 °C for 48 hours.
出典：添付資料 5.3.2.1.2 (B16010)

ヒト血漿中でタスルグラチニブ及び M2（添加濃度：30，100 及び 300 ng/mL［いずれもフリー体として］）が結合するタンパク質を評価するため，生理的濃度に調製した HSA（40 mg/mL），α1-AGP（1 mg/mL）及び HG（12 mg/mL）へのタスルグラチニブ及び M2 の結合率を平衡透析法で測定した（5.3.2.1.3）。インキュベーションは，37℃ で 24 時間行った。

表 2.6.4-11 に示すように，タスルグラチニブの各タンパク質への結合率は，HSA で 71.1%～72.4%，α1-AGP で 30.9%～37.3%，HG で 36.5%～39.0%であった。M2 の各タンパク質への結合率は，HSA で 73.5%～74.8%，α1-AGP で 45.0%～51.7%，HG で 42.6%～45.9%であった。これらの結果より，ヒト血漿中に存在する HSA，α1-AGP 及び HG のうち，タスルグラチニブ及び M2 は主に HSA に結合することが示された。

表 2.6.4-11 タスルグラチニブ及び M2 のヒト血漿中タンパク質への結合率（in vitro）

| Plasma Protein (Concentration) | Spiked Concentration as Free Form (ng/mL) | Protein Binding (%) | |
|---|---|---|---|
| | | Tasurgratinib | M2 |
| **HSA (40 mg/mL)** | 30 | 71.1±0.9 | 73.5±1.3 |
| | 100 | 72.2±0.3 | 74.3±0.4 |
| | 300 | 72.4±1.2 | 74.8±1.3 |
| **α1-AGP (1 mg/mL)** | 30 | 30.9±3.2 | 45.0±3.2 |
| | 100 | 32.0±3.7 | 46.8±3.1 |
| | 300 | 37.3±4.5 | 51.7±3.5 |
| **HG (12 mg/mL)** | 30 | 39.0±6.9 | 42.6±1.5 |
| | 100 | 36.5±1.6 | 45.9±1.5 |
| | 300 | 37.5±3.5 | 44.5±0.9 |

Each value represents the mean ±SD (n=3). Dialysis condition: 37 °C for 24 hours.
α1-AGP = α1-acid glycoprotein, HG = human γ-globulin, HSA = human serum albumin.
出典：添付資料 5.3.2.1.3 (AL-7881-G)

平衡透析法を用いて，(*R*)-M9（添加濃度：3，10 及び 30 ng/mL［フリー体として］）のヒト（男性）における血漿タンパク結合率を in vitro 試験で検討した（5.3.2.1.4）。インキュベーションは，37℃ で 6 時間行った。

表 2.6.4-12 に示すように，(*R*)-M9 のヒト血漿タンパク結合率には，添加濃度 3～30 ng/mL（フリー体として）の範囲で濃度依存性はなく，平均値は 98.1%～98.3%であった。

表 2.6.4-12 (*R*)-M9 のヒト血漿タンパク結合率（in vitro）

| Spiked Concentration as Free Form (ng/mL) | Human Plasma Protein Binding (%)[a] |
|---|---|
| 3 | 98.3±0.1 |
| 10 | 98.1±0.1 |
| 30 | 98.3±0.2 |

Each value represents the mean ±SD (n=3).
a: Dialysis condition: 37 °C for 6 hours.
出典：添付資料 5.3.2.1.4 (AL-8206-G)

#### 2.6.4.4.3 血球移行性（添付資料 5.3.2.3.1［試験番号 AL-7880-G］）

雌性 BALB/c-nu/nu マウス，雄性 SD ラット，雄性ビーグル犬及びヒト（男性）の血液試料におけるタスルグラチニブ及び M2（添加濃度：30，100 及び 300 ng/mL［いずれもフリー体として］）の $R_B$ 値を in vitro 試験で測定した（37°C で 30 分間インキュベーション）（5.3.2.3.1）。

表 2.6.4-13 に結果を示した。タスルグラチニブの $R_B$ 値は，マウスで 1.23～1.29，ラットで 0.952～1.02，イヌで 0.929～0.966，ヒトで 1.06～1.14 であった。M2 の $R_B$ 値は，マウスで 1.14～1.30，ラットで 1.12～1.16，イヌで 0.992～1.01，ヒトで 1.14～1.16 であった。タスルグラチニブ及び M2 の $R_B$ 値は，薬物濃度に依存せず，種差も認められなかった。

表 2.6.4-13 タスルグラチニブ及び M2 の血球移行性（in vitro）

| Species | Compound | $R_B$ | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Concentration as Free Form (ng/mL) | | |
| | | 30 | 100 | 300 |
| Mouse | Tasurgratinib | 1.29+0.07 | 1.26+0.03 | 1.23+0.03 |
| Rat | | 1.02±0.03 | 1.02±0.03 | 0.952±0.057 |
| Dog | | 0.966±0.069 | 0.929±0.025 | 0.954±0.076 |
| Human | | 1.14±0.16 | 1.09±0.05 | 1.06±0.05 |
| Mouse | M2 | 1.30±0.06 | 1.14±0.06 | 1.14±0.05 |
| Rat | | 1.14±0.05 | 1.16±0.06 | 1.12±0.09 |
| Dog | | 0.998±0.030 | 0.992±0.051 | 1.01±0.06 |
| Human | | 1.14±0.06 | 1.16±0.02 | 1.15±0.05 |

Data are expressed as the mean ±SD of triplicate samples (mouse) or 3 individuals (rat, dog, and human).
Incubation at 37 °C for 30 minutes.
$R_B$ = blood to plasma concentration ratio.
出典：添付資料 5.3.2.3.1 (AL-7880-G)

#### 2.6.4.4.4 胎盤通過

タスルグラチニブの胎盤通過試験は検討されていない。

### 2.6.4.5 代謝（動物種間の比較）

#### 2.6.4.5.1 生体試料中の代謝物の構造と定量

非標識タスルグラチニブ及び[$^{14}$C]タスルグラチニブを用いた in vitro 及び in vivo 代謝試験を実施し，タスルグラチニブの代謝物プロファイルを評価した。

### 2.6.4.5.1.1 代謝物の分析（in vitro）
### 2.6.4.5.1.1.1 肝細胞及び肝ミクロソームにおけるタスルグラチニブの代謝（添付資料 5.3.2.2.1［試験番号 C13529］）

In vitro におけるタスルグラチニブの代謝プロファイルを明らかにするために，マウス，ラット，イヌ及びヒト凍結肝細胞，並びにラット及びイヌ肝ミクロソームでの代謝物分析を行った。タスルグラチニブの検討濃度は，凍結肝細胞では 5 μmol/L とし，肝ミクロソームでは 100 μmol/L とした。代謝物の構造は代謝物標品を用いて LC-MS/MS により同定した（5.3.2.2.1）。

本試験により得られた in vitro における推定代謝経路を図 2.6.4-4 に示し，同定された代謝物構造式を 2.6.5.10 項（試験番号 C13529）に示した。ヒト及び動物の肝細胞を用いて代謝反応させたときに全部で 8 個の代謝物（M1～M8）が検出された。M1～M5 はヒト肝細胞で検出された。M1～M4 及び M6～M8 はマウス，ラット又はイヌの肝細胞でも検出された。また，ラット及びイヌ肝ミクロソームにおいて，M5 が検出された。以上の in vitro 代謝物分析試験において，ヒト特異的代謝物は検出されなかった。

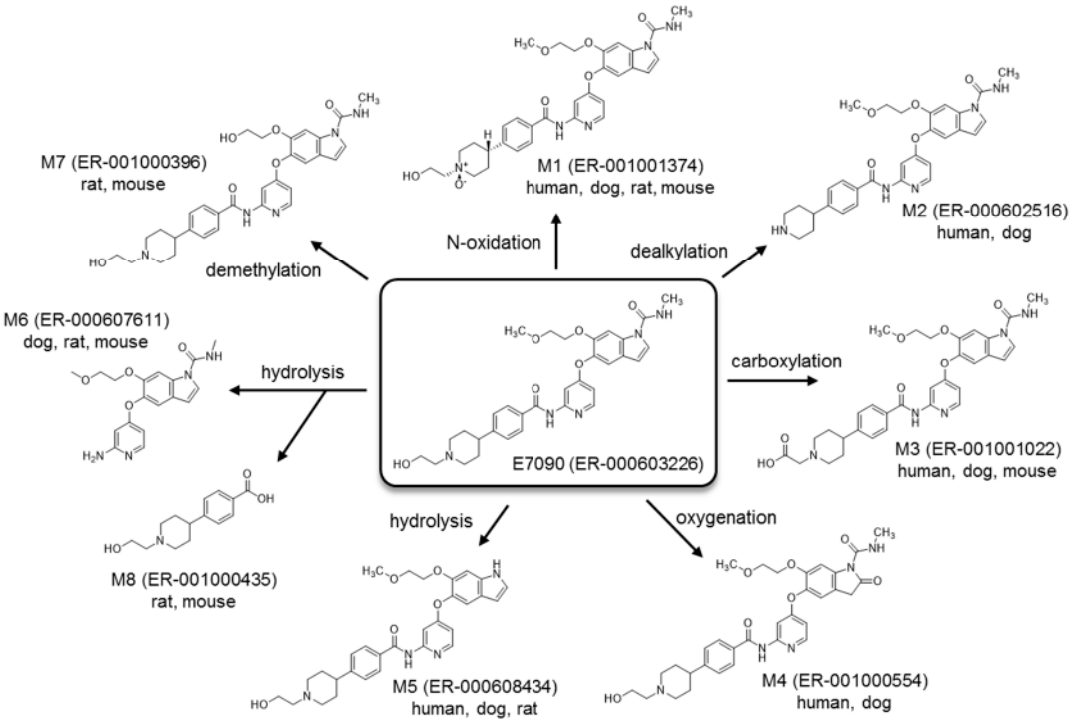



**図 2.6.4-4 In vitro 代謝試験（試験番号 C13529）で同定された代謝物に基づくタスルグラチニブの推定代謝経路**

E7090 indicates tasurgratinib.　M-numbers indicate serial metabolite numbers.
ER-numbers indicate laboratory compound code.　No human-specific metabolites were observed in the study.

出典：添付資料 5.3.2.2.1 (C13529)

#### 2.6.4.5.1.2 代謝物の分析（in vivo）

##### 2.6.4.5.1.2.1 白色ラット及びイヌに[$^{14}$C]タスルグラチニブを単回経口投与したときの代謝（添付資料 4.2.2.4.1［試験番号 8361653｛参考｝］）

[$^{14}$C]タスルグラチニブを雄性 SD ラット（白色）又は雄性ビーグル犬に単回経口投与（ラット：3 mg/kg，イヌ：1.5 mg/kg［いずれもフリー体として］）後の血漿及び排泄物中放射能の代謝プロファイルを検討した（4.2.2.4.1）。試験番号 8362069（4.2.2.2.5）及び 8361652（4.2.2.2.6）で採取した血漿及び排泄物試料を用い，放射能検出による HPLC 及び LC-MS(/MS)で代謝物分析を行った。各代謝物の構造式を図 2.6.4-4 及び 2.6.5.10 項（試験番号 C13529）に示した。

血漿：ラット及びイヌ血漿中では，未変化体（タスルグラチニブ）が主成分であった（ラット：血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}6h)}$の 19.2%，イヌ：血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}24h)}$の 40.6%）。

ラット血漿中で最も主要な代謝物は M7 であり（血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}6h)}$の 13.6%），その他に血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}6h)}$の 10%未満の代謝物が 4 種検出された（M3 の脱メチル体：8.00%，M6：7.25%，M6 の+2O+2H 体：8.50%，M6 の脱メチル体：8.55%）。

イヌ血漿中で最も主要な代謝物は M3 であったが，血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}24h)}$の 10%未満であった（7.31%）。

尿：ラット及びイヌの放射能の尿中排泄は，ともに投与放射能量の 5%未満と少なかった（表 2.6.4-30 及び表 2.6.4-31）。尿中の主成分は，ラットでは M7（投与放射能量の 0.74%）と M6 の+2O+2H 体（同 0.30%）であり，イヌでは未変化体（同 1.84%）及び M3（同 0.24%）であった。

胆汁（ラットのみ）：ラット胆汁中の主代謝物は，M7（投与放射能量の 6.68%）及び M3 の脱メチル体（同 5.62%）であった。未変化体及びその他の代謝物はいずれも投与放射能量の 5%未満であった。

糞：ラット及びイヌ糞中では，未変化体が主成分であった（ラット：投与放射能量の 13.6%，イヌ：同 17.6%）。ラットの主代謝物は M7（同 11.1%），M7 の+O–2H 体（同 14.5%），M3 の脱メチル体（同 8.63%），M7 のジカルボン酸代謝物（同 8.12%）であり，イヌの主代謝物は M3（同 16.9%）であった。ラット，イヌともに，糞中に検出されたその他の代謝物はいずれも投与放射能量の 5%未満であった。

ラット及びイヌ血漿及び排泄物中代謝物プロファイルより，タスルグラチニブのラット及びイヌにおける主代謝経路は，メトキシエトキシ鎖の脱メチル化による M7 の生成（ラット），ヒドロキシエチル基のカルボン酸体への酸化による M3 の生成（イヌ）及びさらなる二次代謝であった。ラットではマイナーな代謝経路として，ヒドロキシエチル基のカルボン酸体への酸化による M3 の生成及び加水分解による M6 の生成とそれらの二次代謝が認められた。

##### 2.6.4.5.1.2.2 ヒトに[$^{14}$C]タスルグラチニブを単回経口投与したときの尿及び糞中代謝プロファイル（添付資料 5.3.2.2.7［試験番号 8426048｛参考｝］）

ヒトマスバランス試験（002 試験，投与量：35 mg/3.7 MBq/man）における排泄物中放射能の代謝プロファイルを検討した。投与放射能量の 1%を超える全ての代謝物を放射能検出による HPLC 及び LC-MS(/MS)を使用して同定した（5.3.2.2.7）。

未変化体は尿及び糞中の主成分であり，投与放射能量のそれぞれ 2.05%及び 32.08%を占めた。尿及び糞中の主な代謝物は未変化体の酸化的 *N*-脱アルキル化体である M2 であり，投与放射能量

のそれぞれ 2.55%及び 30.53%を占めた。

尿及び糞中のマイナーな代謝物である M1，M3，M4 は，タスルグラチニブの酸化代謝及び M9 はタスルグラチニブの酸化的 *N*-脱アルキル化によって生成した。その他のマイナー代謝物である M7 はタスルグラチニブの脱メチル化により，M5 は *N*-アミドインドール部分の加水分解により，M6 はアミド基の加水分解により生成した。排泄物中に検出されたこれらのマイナー代謝物は，いずれも投与放射能量の 3%未満であった。

以上より，タスルグラチニブのヒト排泄物中における主代謝経路は，未変化体の酸化的 *N*-脱アルキル化による M2 の生成であった。

#### 2.6.4.5.1.2.3 ヒトに[$^{14}$C]タスルグラチニブを単回経口投与したときの血漿中代謝プロファイル（添付資料 5.3.2.2.8［試験番号 AE-8462-G］，5.3.2.2.16［試験番号 AL-7939-G｛参考｝］，5.3.2.2.17［試験番号 DMPKT2022-004｛参考｝］）

ヒトマスバランス試験（002 試験，投与量：35 mg/3.7 MBq/man）における血漿中放射能の代謝プロファイルを検討した。ハミルトン法に従い $AUC_{(0\text{-}48h)}$に基づいて調製されたプール血漿試料を代謝物分析に供して，加速器質量分析（AMS），HPLC 及び LC-MS($MS^n$)で代謝物を定量分析した（5.3.2.2.8）。なお，ヒトマスバランス試験における，非標識タスルグラチニブ及び M2 の LC-MS/MS 法による血漿中薬物動態解析の成績は 2.7.2.2.2.3 項に示した。

ハミルトン法に従い $AUC_{(0\text{-}48h)}$に基づいて調製されたプール血漿試料中の放射能のほぼ全て（90.6%）が 0.1%ギ酸含有テトラヒドロフランで抽出可能であった。ヒト血漿中において，タスルグラチニブ，M2 及び M9 が主成分であり，それぞれ総薬物関連 $AUC_{(0\text{-}48h)}$の 30.9%，20.6%及び 12.3%を占めた。すなわち，M2 及び M9 の総薬物関連 $AUC_{(0\text{-}48h)}$はタスルグラチニブの総薬物関連 $AUC_{(0\text{-}48h)}$に対して，それぞれ約 67%及び約 40%であった。その他の代謝物は，総薬物関連 $AUC_{(0\text{-}48h)}$の 3.1%以下の微量成分として検出された。また，002 試験の試料を用いて探索的に血漿中 M9 濃度を定量したところ，$C_{max}$は 2.72 ng/mL であった（5.3.2.2.16，5.3.2.2.17）。

#### 2.6.4.5.1.2.4 タスルグラチニブ経口投与後のヒト及びイヌ血漿中 M2 酸化代謝物（M9）の構造解析（添付資料 5.3.2.2.9［試験番号 DMPKT2021-007］）

2.6.4.5.1.2.3 項で述べたように，ヒトマスバランス試験（002 試験，投与量：35 mg/3.7 MBq/man）において，M2 と M9 がヒト血漿中の主要な代謝物として同定された。M9 はその構造中に不斉中心を持ち，血漿中でエナンチオマー（(*R*)-M9 と(*S*)-M9）の混合物として存在すると考えられた。

そこで，本検討では，ヒトマスバランス試験から得られたヒト血漿試料（ハミルトン法に従い $AUC_{(0\text{-}24h)}$に基づいて調製されたプール血漿試料）を供して，キラルカラムを備えた液体クロマトグラフィー-高分解能質量分析（LC-HRMS）を用いて M9 のエナンチオマー比を測定した。さらに，13 週間反復投与毒性試験（試験番号 B200205［4.2.3.2.6］，投与量：2 mg/kg/day）で採取したイヌ（ビーグル）の血漿試料（投与 91 日目におけるプール血漿［雄：投与後 2 時間，雌：投与後 4 時間］）も分析し，イヌで M9 が生成されるかについても検討した。得られた構造式を 2.6.5.9 項（試験番号 DMPKT2021-007）に示した。

ヒト血漿：ハミルトン法に従い $AUC_{(0\text{-}24h)}$に基づいて調製されたプール血漿試料中で，M9 は

4.22 分の保持時間で検出され，*m/z* 558.2366 にプロトン化分子イオンが観測された。本マスクロマトグラムとスペクトルの情報は，M9 標準物質と同等であった。キラルクロマトグラフィーの結果から，プール血漿試料中の M9 は，64%の(*R*)-M9 と 36%の(*S*)-M9 の混合物であった。

イヌ血漿：雌のプール血漿試料中で，M9 は 4.03 分の保持時間で検出され，*m/z* 558.2347 にプロトン化分子イオンが観測された。M9 は雄のプール血漿試料からも検出された。分析感度等を勘案するとイヌのプール血漿試料中で M9 エナンチオマーを検出することは困難と考えられたため，キラルクロマトグラフィーは実施しなかった。

以上，ヒトマスバランス試験及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験における血漿試料の代謝物分析により，ヒト及びイヌ血漿中に M9 が検出された。キラルクロマトグラフィーの分析結果より，ハミルトン法に従い $AUC_{(0\text{-}24h)}$に基づいて調製されたヒトプール血漿試料において，M9 は(*R*)-M9 と(*S*)-M9 の混合物であり，(*R*)-M9（64%）の方が(*S*)-M9（36%）よりも高い暴露を示すと考えられた。

### 2.6.4.5.2 推定代謝経路

動物及びヒトの in vivo 及び in vitro の各種代謝試験成績に基づくタスルグラチニブの推定代謝経路を図 2.6.4-5 に示す。なお，動物及びヒトの in vitro の代謝試験成績に基づくタスルグラチニブの推定代謝経路については図 2.6.4-4 に示した。

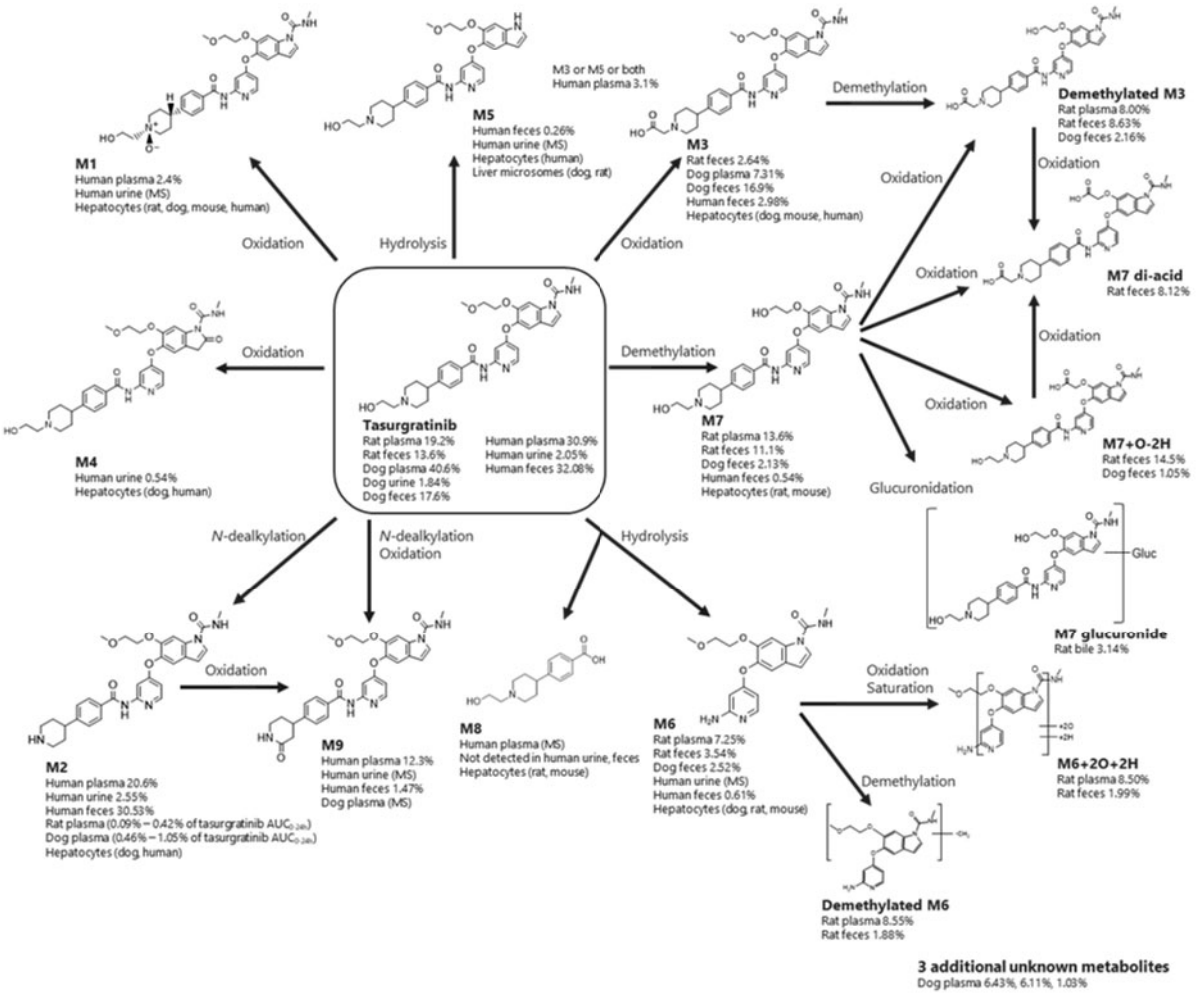



**図 2.6.4-5 In vivo 及び in vitro（ラット，イヌ及びヒト）の各種代謝試験成績に基づくタスルグラチニブの推定代謝経路**

The M-numbers mean metabolites identified in in vitro or in vivo metabolism studies. Plasma: % of radioactivity in pooled plasma sample prepared from 0 to 48 hours based on the Hamilton method for human, and % of the total drug related exposure based on the AUC from 0 to 6 hours for rats and from 0 to 24 hours for dogs, except where specifically noted. Urine, feces: % of dose. MS: Peak observed in mass spectrometry but not radio analysis. AUC = area under the concentration-time curve, Gluc = glucuronide.
出典：添付資料 4.2.2.4.1 (8361653), 5.3.2.2.7 (8426048), 5.3.2.2.8 (AE-8462-G), 5.3.2.2.9 (DMPKT2021-007), 4.2.3.2.3 (B200206), 4.2.3.2.6 (B200205), 5.3.2.2.16 (AL-7939-G), 5.3.2.2.17 (DMPKT2022-004), 5.3.2.2.1 (C13529).

#### 2.6.4.5.3 全身循環系に移行する前の代謝（消化管／肝 初回通過効果）

肝細胞及び肝ミクロソームを用いた in vitro 代謝を評価し，2.6.4.5.1.1.1 項に示した。

#### 2.6.4.5.4 ヒト in vitro 代謝に関与する CYP の同定

タスルグラチニブの代謝にかかわる CYP 分子種を同定し寄与率を見積もるため，以下に示す一連の in vitro 代謝試験を実施した。

#### 2.6.4.5.4.1 CYP の同定 (1)：タスルグラチニブの代謝にかかわる CYP 酵素の同定（添付資料 5.3.2.2.2［試験番号 DMPKT2013-013］）

タスルグラチニブの代謝にかかわる CYP 分子種を同定するため，rCYP を用いてタスルグラチニブの in vitro 代謝実験を行った。還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）存在下及び非存在下において，タスルグラチニブ（0.1 μg/mL［フリー体として］）と各 rCYP（rCYP1A2，rCYP2B6，rCYP2C8，rCYP2C9，rCYP2C19，rCYP2D6，rCYP3A4 及び rCYP3A5）を 37°C で 30 分間反応させ，代謝活性を検討した（5.3.2.2.2）。

表 2.6.4-14 に示すように，NADPH 非存在下では，検討した rCYP においてタスルグラチニブの代謝活性は確認されなかった。NADPH 存在下では，タスルグラチニブの rCYP3A4 における残存率は 47.0%であり代謝を受けたが，検討したその他の分子種における残存率は NADPH 非存在下における値とほぼ同等であり代謝は確認されなかった。これらのことより，タスルグラチニブは CYP3A4 によって代謝され，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A5 によってほとんど代謝されないことが示された。

表 2.6.4-14 各 CYP 分子種におけるタスルグラチニブの代謝活性

| rCYP Isoform | Residual Ratio of Tasurgratinib (%) | |
|---|---|---|
| | NADPH (+) | NADPH (–) |
| rCYP1A2 | 106.3 | 103.8 |
| rCYP2B6 | 95.9 | 99.3 |
| rCYP2C8 | 98.1 | 97.8 |
| rCYP2C9 | 89.0 | 91.3 |
| rCYP2C19 | 95.9 | 98.1 |
| rCYP2D6 | 112.3 | 113.8 |
| rCYP3A4 | 47.0 | 111.3 |
| rCYP3A5 | 115.6 | 114.5 |

Microsomal protein concentration and rCYP concentration were 0.6 mg/mL and 50 pmol rCYP/mL, respectively. Incubation for all rCYP isoforms tested was conducted at 37 °C for 30 minutes.
Residual ratio (%)
= (mean peak area ratio after 30-minute incubation) / (mean peak area ratio at 0 minute) × 100.
NADPH (+): Incubation sample with NADPH generating system.
NADPH (–): Incubation sample without NADPH generating system.
rCYP = recombinant human cytochrome P450, NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced.
出典：添付資料 5.3.2.2.2 (DMPKT2013-013)

#### 2.6.4.5.4.2 CYP の同定 (2)：タスルグラチニブの代謝及び M2 の生成にかかわる CYP 酵素の同定（添付資料 5.3.2.2.3［試験番号 AE-8232-G］）

2.6.4.5.4.1 項の試験に引き続き，タスルグラチニブの代謝及びタスルグラチニブからの M2 の

生成に関与する CYP をさらに明らかにするために，ヒト肝ミクロソーム及び rCYP 各分子種を用いて CYP 酵素の同定を追加検討した（5.3.2.2.3）。

1) rCYP 各分子種を用いたタスルグラチニブの代謝及びタスルグラチニブからの M2 生成に関与する CYP の同定：タスルグラチニブ（1 μmol/L）を rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 とインキュベーションした後のタスルグラチニブの残存率は，それぞれ 76.3%，10.9%及び 43.9%であった。一方，rCYP1A2，rCYP2B6，rCYP2C8，rCYP2C9*1，rCYP2C19，rCYP2D6*1 及び rCYP3A5 における残存率は 85.2%以上であった。タスルグラチニブ（1 μmol/L）を rCYP3A4，rCYP2J2 及び rCYP4F12 とインキュベーションした際の M2 生成速度は，それぞれ 0.0116，0.0954 及び 3.15 pmol/min/pmol CYP であった。

2) rCYP 及びヒト肝ミクロソームにおけるタスルグラチニブからの M2 生成に関する $K_m$ 及び $V_{max}$ の算出：$K_m$ 及び $V_{max}$ の値は，rCYP3A4 では 63.2 μmol/L 及び 1.17 pmol/min/pmol CYP（$V_{max}/K_m$：0.0185 μL/min/pmol CYP），rCYP2J2 では 5.38 μmol/L 及び 0.699 pmol/min/pmol CYP（$V_{max}/K_m$：0.130 μL/min/pmol CYP），CYP4F12 では 0.471 μmol/L 及び 5.99 pmol/min/pmol CYP（$V_{max}/K_m$：12.7 μL/min/pmol CYP）であった。ヒト肝ミクロソームにおける $K_m$ 及び $V_{max}$ は，それぞれ 2.18 μmol/L 及び 10.4 pmol/min/mg protein（$V_{max}/K_m$：4.77 μL/min/mg protein）であった。

これらの結果より，タスルグラチニブが複数の CYP 分子種で代謝され，M2 が CYP2J2，CYP3A4 及び CYP4F12 によって生成することが示された。

#### 2.6.4.5.4.3 CYP の同定 (3)：タスルグラチニブ及び M2 の代謝にかかわる CYP 酵素の同定（添付資料 5.3.2.2.4［試験番号 SUNBAE2020-001］）

2.6.4.5.4.1 及び 2.6.4.5.4.2 項の試験の後，タスルグラチニブ及び M2 の代謝にかかわる CYP を同定するため，rCYP 各分子種を用いてさらなる in vitro 代謝実験を行った。タスルグラチニブでは rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 について評価し，M2 では rCYP1A2，rCYP2B6，rCYP2C8，rCYP2C9，rCYP2C19，rCYP2D6，rCYP2J2，rCYP3A4，rCYP3A5 及び rCYP4F12 について評価した。タスルグラチニブ（フリー体として 0.1 μg/mL）及び M2（0.1 μg/mL）を，NADPH 存在下及び非存在下において rCYP（50 pmol/mL）と 37℃ で 30 分間インキュベートし，代謝活性を検討した（5.3.2.2.4）。

タスルグラチニブの結果を表 2.6.4-15 に示す。NADPH 存在下でタスルグラチニブは rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 によって代謝され，残留率はそれぞれ 67.6%，35.2%及び 10.0%未満であった。

M2 の結果を表 2.6.4-16 に示す。NADPH 存在下で M2 は rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 によって代謝され，残存率はそれぞれ 68.4%，49.5%及び 53.5%であった。

以上の結果より，タスルグラチニブ及び M2 が CYP2J2，CYP3A4 及び CYP4F12 によって代謝され，M2 は試験したその他の CYP 分子種によってほとんど代謝されないことが示された。

表 2.6.4-15 CYP2J2，CYP3A4 及び CYP4F12 におけるタスルグラチニブの代謝活性

| rCYP Isoform | Residual Ratio of Tasurgratinib (%) | |
|---|---|---|
| | NADPH (+)[a] | NADPH (–)[b] |
| rCYP2J2 | 67.6 | 102.4 |
| rCYP3A4 | 35.2 | 96.8 |
| rCYP4F12 | <10.0 | 97.9 |

Concentration of tasurgratinib (as is free base) and microsomal protein were 0.1 μg/mL and 1.05 mg/mL, respectively. Incubation was conducted at 37 °C for 30 minutes.
NADPH = reduced form of β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, rCYP = recombinant human cytochrome P450.
a: Incubation sample with NADPH-generating system.
b: Incubation sample without NADPH-generating system.
出典：添付資料 5.3.2.2.4 (SUNBAE2020-001)

表 2.6.4-16 各 CYP 分子種における M2 の代謝活性

| rCYP Isoform | Residual Ratio of M2 (%) | |
|---|---|---|
| | NADPH (+)[a] | NADPH (–)[b] |
| rCYP1A2 | 106.3 | 109.8 |
| rCYP2B6 | 102.7 | 103.1 |
| rCYP2C8 | 100.9 | 102.5 |
| rCYP2C9 | 106.3 | 113.2 |
| rCYP2C19 | 97.9 | 101.4 |
| rCYP2D6 | 101.4 | 109.9 |
| rCYP2J2 | 68.4 | 102.8 |
| rCYP3A4 | 49.5 | 100.2 |
| rCYP3A5 | 91.7 | 100.5 |
| rCYP4F12 | 53.5 | 99.0 |

Concentration of M2 and microsomal protein were 0.1 μg/mL and 1.05 mg/mL, respectively. Incubation was conducted at 37 °C for 30 minutes.
NADPH = reduced form of β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, rCYP = recombinant human cytochrome P450.
a: Incubation sample with NADPH-generating system.
b: Incubation sample without NADPH-generating system.
出典：添付資料 5.3.2.2.4 (SUNBAE2020-001)

### 2.6.4.5.4.4 CYP の同定 (4)：タスルグラチニブからの M2 の生成にかかわる CYP 酵素の同定（添付資料 5.3.2.2.5［試験番号 DMPKT2021-005］）

2.6.4.5.4.2 項の試験において，タスルグラチニブから rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 を介して M2 が生成されることが示された。そこで，M2 生成にかかわる主要な CYP 分子種を同定するため，CYP 阻害剤であるアザムリン（最大濃度：1 μmol/L），ダナゾール（最大濃度：3 μmol/L），HET0016（最大濃度：10 μmol/L），ピモジド（最大濃度：10 μmol/L）及びケトコナゾール（最大濃度：3 μmol/L）を用い，ヒト肝ミクロソームにおけるタスルグラチニブ（0.1 μmol/L）からの M2 生成に対する効果を検討した。さらに，これら CYP 阻害剤の CYP4F12 に対する阻害効果を rCYP でも評価し，ヒト肝ミクロソーム及び rCYP4F12 の阻害剤に対する感受性プロファイルを比較した（5.3.2.2.5）。

アザムリン（CYP3A 阻害剤）及びダナゾール（CYP2J2 阻害剤）は，ヒト肝ミクロソーム及び rCYP4F12 において，それぞれ 1 及び 3 μmol/L の最大濃度まで M2 生成に対する阻害を示さない

か，阻害効果は軽微であった。HET0016，ピモジド及びケトコナゾールは濃度依存的に M2 生成を抑制し，ヒト肝ミクロソームと rCYP4F12 で同様の阻害効果を示した。例外的に HET0016 の 1 μmol/L においては，ヒト肝ミクロソームでのみ M2 生成を促進した。

ヒト肝ミクロソームと rCYP4F12 の各種阻害剤に対する感受性プロファイルが類似していたことから，CYP4F12 がヒトにおけるタスルグラチニブからの M2 の生成にかかわる主要な CYP 分子種であることが示唆された。

以上の CYP の同定 (1)～(4) の in vitro 代謝試験により，タスルグラチニブは CYP2J2，CYP3A4 及び CYP4F12 により代謝され，主要代謝物 M2 は主に CYP4F12 を介して生成すること，さらに M2 は CYP2J2，CYP3A4 及び CYP4F12 によって代謝されることが示された。

#### 2.6.4.5.4.5 タスルグラチニブの代謝における CYP3A の寄与率 （添付資料 5.3.2.2.6［試験番号 DMPKT2022-001］）

CYP の同定 (1)～(3)（2.6.4.5.4.1 ～2.6.4.5.4.3 項）により，タスルグラチニブは複数の CYP 分子種（CYP2J2，CYP3A4 及び CYP4F12）で代謝されることが示された。本項では，タスルグラチニブの肝代謝における CYP3A の寄与率を求めるため，ヒト凍結肝細胞を用いて，アザムリン（CYP3A 選択的阻害剤）及びケトコナゾール（CYP2J2，CYP3A 及び CYP4F12 の阻害剤）がタスルグラチニブの代謝に及ぼす影響を検討した（5.3.2.2.6）。

アザムリン（3 μmol/L）及びケトコナゾール（10 μmol/L）は，CYP3A 選択的基質であるミダゾラムの代謝をそれぞれ 86.0%及び 86.0%と強く阻害した。本評価において，ケトコナゾールはタスルグラチニブの消失を 87.4%と強力に阻害したが，アザムリンは 25.0%しか阻害しなかったことから，タスルグラチニブの肝代謝における CYP3A の寄与率は in vitro で 25%と推定された（表 2.6.4-17）。

表 2.6.4-17 ヒト肝細胞におけるミダゾラム及びタスルグラチニブの代謝に対する
アザムリン及びケトコナゾールの阻害効果

**1) Midazolam**

| Inhibitor | k ($min^{-1}$) | Inhibition (%) |
|---|---|---|
| Control | 0.0163 | NA |
| Azamulin (3 μmol/L) | 0.00228 | 86.0 |
| Ketoconazole (10 μmol/L) | 0.00228 | 86.0 |

**2) Tasurgratinib**

| Inhibitor | k ($min^{-1}$) | Inhibition (%) |
|---|---|---|
| Control | 0.00725 | NA |
| Azamulin (3 μmol/L) | 0.00544 | 25.0 |
| Ketoconazole (10 μmol/L) | 0.000910 | 87.4 |

Elimination rate constant (k) is the negative value of slope which was determined by linear regression between natural logarithmic remaining percentage (mean of triplicate samples) and incubation time.

Inhibition (%) = $(k_{control} - k_{inhibition}) / k_{control} \times 100$.

$k_{control}$: Elimination rate constant in the absence of inhibitor (vehicle control).

$k_{inhibition}$: Elimination rate constant in the presence of inhibitor.

k = elimination rate constant, NA = not applicable.

出典：添付資料 5.3.2.2.6 (DMPKT2022-001)

### 2.6.4.5.5 酵素誘導及び阻害

### 2.6.4.5.5.1 CYP 阻害

#### 2.6.4.5.5.1.1 タスルグラチニブの CYP 阻害（探索的試験）（添付資料 5.3.2.2.10［試験番号 DMPKT2013-016｛参考｝］）

ヒト肝ミクロソームにおけるタスルグラチニブの CYP1A2，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A に対する阻害能を探索的試験で検討した（5.3.2.2.10）。

タスルグラチニブ（5 又は 50 μmol/L）と CYP 分子種特異的基質カクテル（フェナセチン [CYP1A2]，ロシグリタゾン [CYP2C8]，トルブタミド [CYP2C9]，(*S*)-メフェニトイン [CYP2C19]，ブフラロール [CYP2D6] 及びミダゾラム [CYP3A]）を NADPH 存在下で反応させ，タスルグラチニブの可逆的阻害能について検討した。

表 2.6.4-18 に示すように，タスルグラチニブ 5 μmol/L においては，検討した CYP に対して可逆的阻害活性を示さなかった（14.4%以下の阻害活性）。タスルグラチニブ 50 μmol/L においては，CYP1A2，CYP2C8，CYP2C9 及び CYP2C19 に対してほとんど可逆的阻害活性を示さなかった（$IC_{50}$>50 μmol/L）が，CYP2D6 及び CYP3A に対しては，それぞれ 63.8%及び 62.5%の可逆的阻害活性を示した。

**表 2.6.4-18 タスルグラチニブによる CYP1A2，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A に対する可逆的阻害（探索的試験）**

| Tasurgratinib Concentration (μmol/L) | Inhibition Percentage (%) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | CYP1A2 | CYP2C8 | CYP2C9 | CYP2C19 | CYP2D6 | CYP3A |
| 5 | 0.2 | 6.9 | 5.5 | 5.3 | 4.5 | 14.4 |
| 50 | 2.4 | 43.7 | 30.1 | 33.1 | 63.8 | 62.5 |

CYP = cytochrome P450.
出典：添付資料 5.3.2.2.10 (DMPKT2013-016)

タスルグラチニブの時間依存的阻害能を検討するため，タスルグラチニブを NADPH 存在下又は非存在下において 37°C で 30 分間プレインキュベーション後，CYP 分子種特異的基質カクテルと NADPH 存在下で反応させた。

表 2.6.4-19 に示すように，タスルグラチニブは 50 μmol/L の濃度まで検討した全ての CYP 分子種に対して，時間依存的な阻害能を示さなかった（残存活性値：コントロールの 87.6%～111.7%）。

**表 2.6.4-19 タスルグラチニブによる CYP1A2，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A に対する時間依存的阻害（探索的試験）**

| CYP Isoform | Tasurgratinib Concentration (μmol/L) | CYP Activity (% of Control) | | Remaining Activity (% of Control) |
|---|---|---|---|---|
| | | GS (+)[a] | GS (–)[b] | |
| CYP1A2 | 0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| | 10 | 94.0 | 91.4 | 102.8 |
| | 50 | 81.2 | 89.4 | 90.8 |
| CYP2C8 | 0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| | 10 | 99.7 | 94.1 | 106.0 |
| | 50 | 94.4 | 87.6 | 107.8 |
| CYP2C9 | 0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| | 10 | 92.5 | 90.3 | 102.4 |
| | 50 | 90.3 | 86.3 | 104.7 |
| CYP2C19 | 0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| | 10 | 88.8 | 101.3 | 87.6 |
| | 50 | 94.7 | 88.9 | 106.5 |
| CYP2D6 | 0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| | 10 | 94.3 | 98.1 | 96.2 |
| | 50 | 93.7 | 91.4 | 102.5 |
| CYP3A | 0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| | 10 | 98.4 | 94.7 | 103.9 |
| | 50 | 90.7 | 81.2 | 111.7 |

CYP = cytochrome P450, GS = NADPH-generating system, NADPH = reduced form of β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.
a: CYP activity (% of control) after preincubation with NADPH-generating system.
b: CYP activity (% of control) after preincubation without NADPH-generating system.
出典：添付資料 5.3.2.2.10 (DMPKT2013-016)

### 2.6.4.5.5.1.2 タスルグラチニブ及び M2 の CYP 阻害（添付資料 5.3.2.2.11［試験番号 AE-8378-G］）

CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A（基質：テストステロン，ミダゾラム及びニフェジピン）に対するタスルグラチニブ及び M2 の阻害能をヒト肝ミクロソームで検討した（5.3.2.2.11）。

表 2.6.4-20 に示すように，タスルグラチニブは CYP2D6，CYP3A（基質：テストステロン），CYP3A（基質：ミダゾラム）及び CYP3A（基質：ニフェジピン）をそれぞれ 95.0，48.0，16.4 及び 27.9 μmol/L の $IC_{50}$ で可逆的に阻害したが，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9 及び CYP2C19 に対する阻害能は弱く，$IC_{50}$ は 100 μmol/L より大きいと見積もられた。表 2.6.4-21 に示すように M2 は CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP3A（基質：テストステロン），CYP3A（基質：ミダゾラム）及び CYP3A（基質：ニフェジピン）をそれぞれ 77.5，93.0，82.0，62.4，22.1 及び 31.6 μmol/L の $IC_{50}$ で可逆的に阻害した。CYP1A2，CYP2B6 及び CYP2C8 に対する M2 の阻害能は弱く，$IC_{50}$ は 100 μmol/L より大きいと見積もられた。

タスルグラチニブ及び M2 は，検討した全ての CYP 分子種に対して時間依存的な阻害能（30 分間のプレインキュベーション系）を示さなかった。

**表 2.6.4-20 タスルグラチニブによる CYP を介した代謝に対する可逆的及び時間依存的阻害作用の $IC_{50}$ 値**

| CYP Isoform (Substrate) | Tasurgratinib (μmol/L) | |
|---|---|---|
| | $IC_{50}$ | |
| | Preincubation Time | |
| | 0 Minutes (Reversible) | 30 Minutes (Time-Dependent) |
| CYP1A2 | >100 | >100 |
| CYP2B6 | >100 | >100 |
| CYP2C8 | >100 | >100 |
| CYP2C9 | >100 | >100 |
| CYP2C19 | >100 | >100 |
| CYP2D6 | 95.0 | >100 |
| CYP3A (Testosterone) | 48.0 | 52.0 |
| CYP3A (Midazolam) | 16.4 | 17.3 |
| CYP3A (Nifedipine) | 27.9 | 34.9 |

CYP = cytochrome P450, $IC_{50}$ = 50% inhibitory concentration.
出典：添付資料 5.3.2.2.11 (AE-8378-G)

表 2.6.4-21 M2 による CYP を介した代謝に対する可逆的及び時間依存的阻害作用の $IC_{50}$ 値

| CYP Isoform (Substrate) | M2 (μmol/L) | |
|---|---|---|
| | $IC_{50}$ | |
| | Preincubation Time | |
| | 0 Minutes (Reversible) | 30 Minutes (Time-Dependent) |
| CYP1A2 | >100 | >100 |
| CYP2B6 | >100 | >100 |
| CYP2C8 | >100 | >100 |
| CYP2C9 | 77.5 | 74.1 |
| CYP2C19 | 93.0 | 70.6 |
| CYP2D6 | 82.0 | 88.8 |
| CYP3A (Testosterone) | 62.4 | 70.4 |
| CYP3A (Midazolam) | 22.1 | 21.0 |
| CYP3A (Nifedipine) | 31.6 | 33.8 |

CYP = cytochrome P450, $IC_{50}$ = 50% inhibitory concentration.
出典：添付資料 5.3.2.2.11 (AE-8378-G)

### 2.6.4.5.5.1.3 タスルグラチニブ及び M2 による CYP2J2 及び CYP4F12 阻害（添付資料 5.3.2.2.12［試験番号 DMPKT2022-003］）

2.6.4.5.4.3 項により，タスルグラチニブ及び M2 が CYP2J2，CYP3A4 及び CYP4F12 で代謝されることが示された。また，2.6.4.5.5.1.2 項により，CYP3A に対するタスルグラチニブ及び M2 の阻害作用は既に示されているが，CYP2J2 及び CYP4F12 に対する阻害作用は未解明であった。そこで，本試験では，テルフェナジンを基質とする rCYP 系においてタスルグラチニブ及び M2 の CYP2J2 及び CYP4F12 に対する阻害作用を検討した。

表 2.6.4-22 に可逆的阻害能の結果を示す。ケトコナゾール（陽性対照阻害剤）は 3 μmol/L で CYP2J2 及び CYP4F12 を阻害し，CYP2J2 及び CYP4F12 を介したテルフェナジンアルコール代謝物の生成をそれぞれ対照の 6.8%及び 12.7%に減少させた。タスルグラチニブは濃度依存的に CYP2J2 及び CYP4F12 を阻害し，$IC_{50}$ はそれぞれ>30 及び 0.446 μmol/L であった。M2 は濃度依存的に CYP2J2 及び CYP4F12 を阻害し，$IC_{50}$ はそれぞれ 25.1 及び 0.827 μmol/L であった。

表 2.6.4-23 に時間依存的阻害能の結果を示す。タスルグラチニブ及び M2 を 10 μmol/L でプレインキュベートした後の CYP2J2 の残存活性はそれぞれ 126.2%及び 94.4%であり，CYP2J2 に対する時間依存的阻害能は認められなかった。CYP4F12 の残存活性は，10 μmol/L のタスルグラチニブ及び M2 とのプレインキュベーションにより，それぞれ 83.6%及び 69.5%まで低下した。しかしながら，タスルグラチニブ又は M2 存在下での，ピーク面積比に基づくテルフェナジンアルコール代謝物の生成は，NADPH 生成系の有無にかかわらず同等であった（未掲載データ）。したがって，タスルグラチニブ及び M2 の CYP4F12 に対する時間依存的阻害能は弱いと考えられた。

表 2.6.4-22 タスルグラチニブ，M2 及びケトコナゾールによる CYP2J2 及び CYP4F12 に対する可逆的阻害

| Inhibitor | Concentration (μmol/L) | % of Control [a] | | $IC_{50}$ (μmol/L) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | rCYP2J2 | rCYP4F12 | rCYP2J2 | rCYP4F12 |
| Control | NA | 100.0 | 100.0 | NA | NA |
| Ketoconazole | 3 | 6.8 | 12.7 | NA | NA |
| Tasurgratinib | 0.03 | 116.1 | 105.6 | >30 | 0.446 |
| | 0.1 | 102.0 | 82.2 | | |
| | 0.3 | 104.2 | 57.5 | | |
| | 1 | 102.7 | 29.3 | | |
| | 3 | 88.8 | 13.1 | | |
| | 10 | 83.5 | 5.5 | | |
| | 30 | 65.5 | 3.0 | | |
| M2 | 0.03 | 94.8 | 89.5 | 25.1 | 0.827 |
| | 0.1 | 105.7 | 89.8 | | |
| | 0.3 | 100.6 | 69.4 | | |
| | 1 | 99.4 | 46.9 | | |
| | 3 | 86.1 | 23.9 | | |
| | 10 | 70.3 | 9.8 | | |
| | 30 | 47.2 | 3.2 | | |

CYP = cytochrome P450, $IC_{50}$ = half-maximal inhibitory concentration, IS = internal standard, NA = not applicable, PAR = peak area ratio, rCYP = recombinant CYP, TFDOH = terfenadine alcohol metabolite.

a: % of control = $PAR_{inhibition}$ / $PAR_{control}$ × 100

where,

$PAR_{inhibition}$: Mean PAR of TFDOH to IS in the presence of an inhibitor.

$PAR_{control}$: Mean PAR of TFDOH to IS in the absence of an inhibitor.

出典：添付資料 5.3.2.2.12 (DMPKT2022-003)

表 2.6.4-23 タスルグラチニブ及び M2 による CYP2J2 及び CYP4F12 に対する時間依存的阻害

| Inhibitor | Concentration (μmol/L) | Remaining Activity (%)[a] | |
|---|---|---|---|
| | | rCYP2J2 | rCYP4F12 |
| Tasurgratinib | 10 | 126.2 | 83.6[b] |
| M2 | 10 | 94.4 | 69.5[b] |

CYP = cytochrome P450, IS = internal standard, NADPH-GS = reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-generating system, PAR = peak area ratio, rCYP = recombinant CYP, TDI = time-dependent inhibition, TFDOH = terfenadine alcohol metabolite.

a: Remaining activity (%) = ($PAR_{inhibition,GS(+)}$/$PAR_{control,GS(+)}$)/($PAR_{inhibition,GS(-)}$/$PAR_{control,GS(-)}$) × 100

where,

$PAR_{inhibition,GS(+)}$: Mean PAR of TFDOH to IS in the presence of an inhibitor and NADPH-GS.

$PAR_{control,GS(+)}$: Mean PAR of TFDOH to IS in the absence of an inhibitor and presence of NADPH-GS.

$PAR_{inhibition,GS(-)}$: Mean PAR of TFDOH to IS in the presence of an inhibitor and absence of NADPH-GS.

$PAR_{control,GS(-)}$: Mean PAR of TFDOH to IS in the absence of an inhibitor and NADPH-GS.

b: PARs in the presence of tasurgratinib or M2 were comparable with or without NADPH-generating system.

出典：添付資料 5.3.2.2.12 (DMPKT2022-003)