ルプキネスカプセル7.9 mg

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.6.4 薬物動態試験の概要文

大塚製薬株式会社

目次

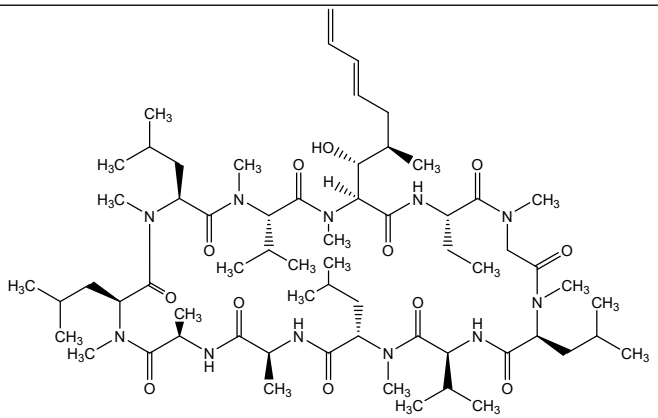
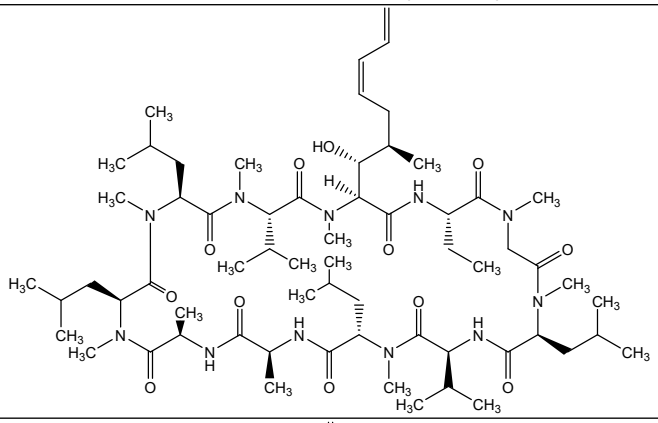
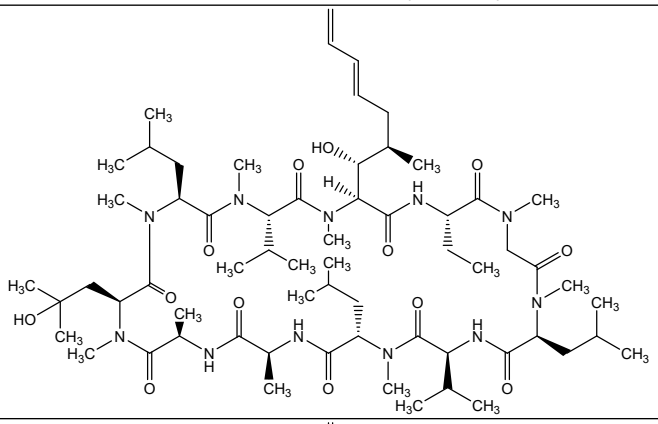
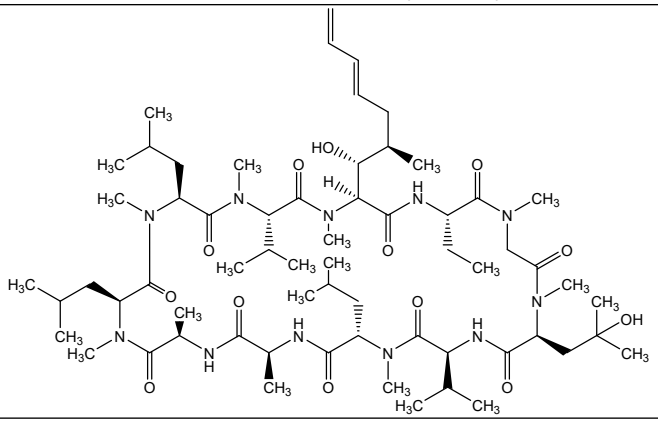
目次 2
略号一覧 4
2.6.4 薬物動態試験の概要文 9
2.6.4.1 まとめ 9
2.6.4.1.1 吸収 10
2.6.4.1.2 分布 11
2.6.4.1.3 代謝 11
2.6.4.1.4 排泄 12
2.6.4.1.5 薬物相互作用 13
2.6.4.1.6 ボクロスポリン異性体の相互変換 13
2.6.4.2 分析法 14
2.6.4.2.1 生物学的マトリクス中の薬物及び代謝物濃度の測定法 14
2.6.4.2.2 薬物動態解析 15
2.6.4.3 吸収 16
2.6.4.3.1 単回投与後の血液中濃度 16
2.6.4.3.2 反復投与後の血液中濃度 19
2.6.4.4 分布 24
2.6.4.4.1 単回投与後の放射能の組織内分布 24
2.6.4.4.2 ボクロスポリンのヒト血球移行 25
2.6.4.4.3 タンパク結合 26
2.6.4.4.4 胎盤通過性 27
2.6.4.5 代謝 28
2.6.4.5.1 *In vitro*代謝 28
2.6.4.5.2 *In vivo*代謝 30
2.6.4.5.3 推定代謝経路 34
2.6.4.5.4 代謝酵素阻害及び代謝酵素誘導 36
2.6.4.6 排泄 39
2.6.4.6.1 尿糞排泄 39
2.6.4.6.2 乳汁排泄 40
2.6.4.6.3 胆汁排泄 40
2.6.4.7 薬物相互作用 40
2.6.4.7.1 ボクロスポリンのP-gpに対する基質性及び阻害 40
2.6.4.7.2 ボクロスポリンのBCRP，OATP1B1，及びOATP1B3に対する基質

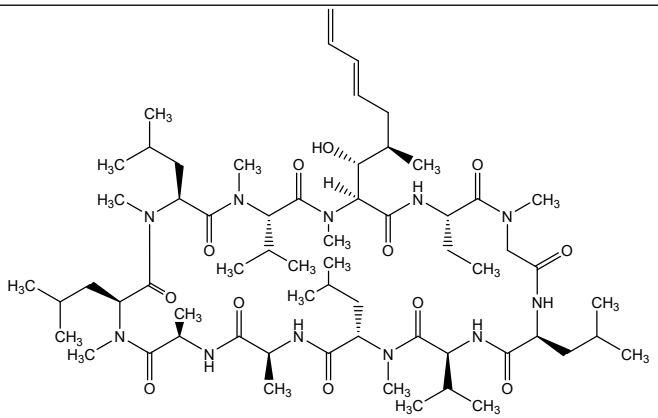
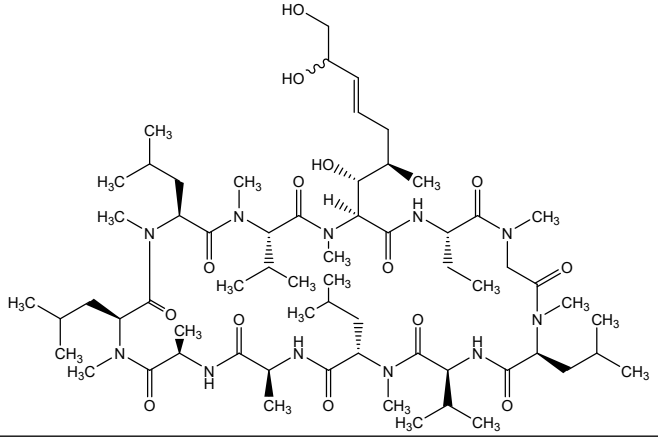
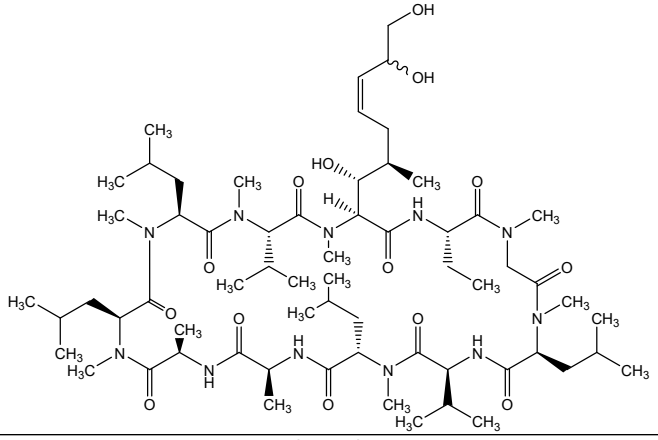
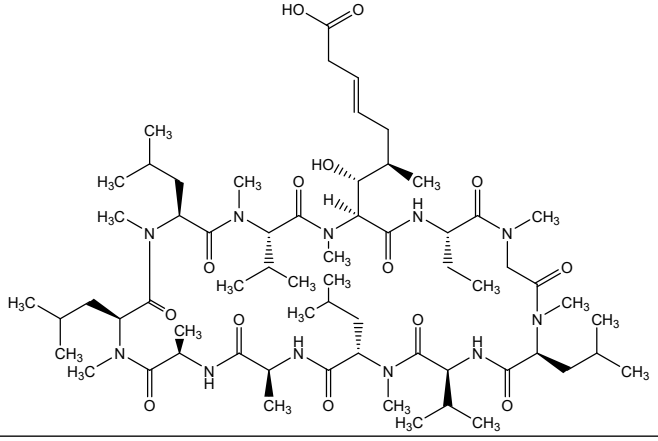
性 41
2.6.4.7.3 ボクロスポリンのOATP1B1に対する阻害 42
2.6.4.7.4 ボクロスポリンのBCRP及びOATP1B3に対する阻害 42
2.6.4.7.5 ボクロスポリンのOAT1，OAT3，OCT2，MATE1，及びMATE2-K に対する阻害 43
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 43
2.6.4.8.1 異性体の相互変換 43
2.6.4.9 考察及び結論 44
2.6.4.10 図表 49

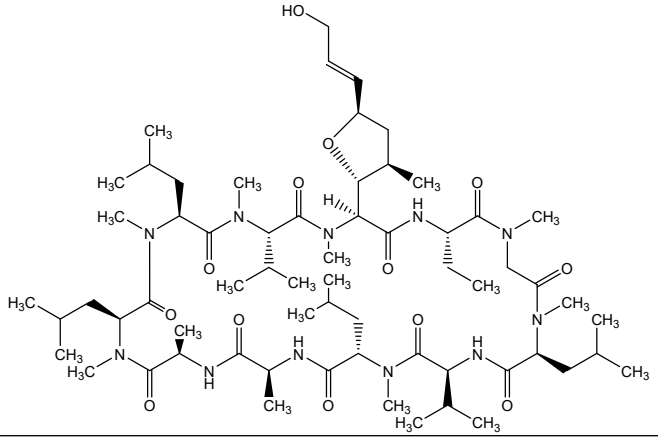
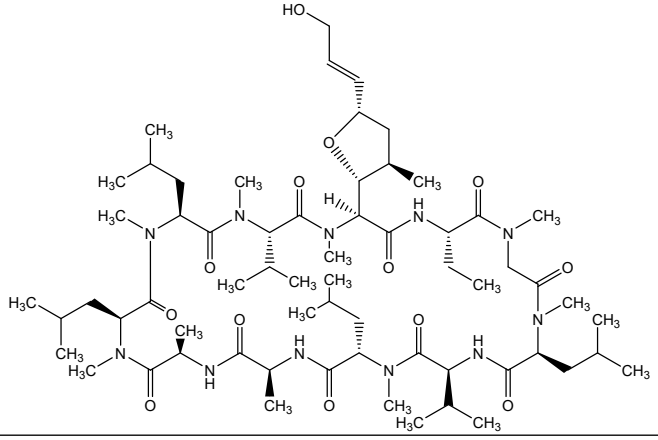
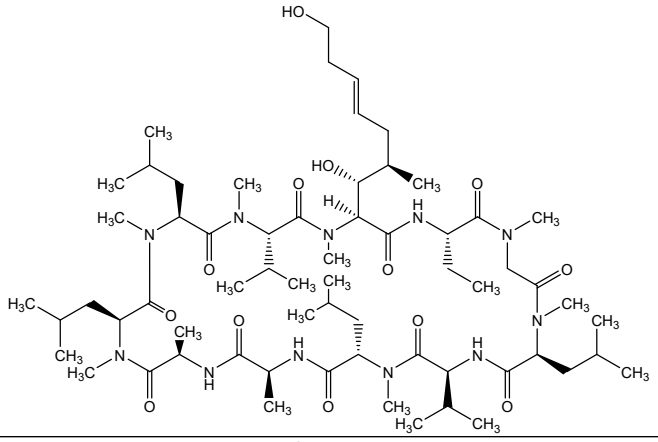
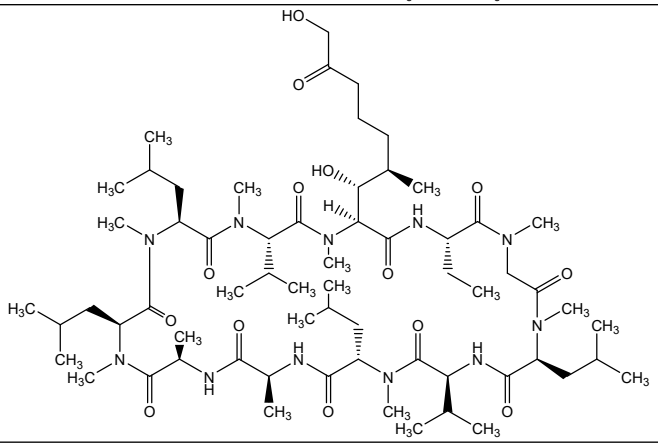
略号一覧

略号	省略していない表現
AAG	Alpha 1 acid glycoprotein　α-1-酸性糖タンパク質
ADME	Absorption/distribution/metabolism/excretion　吸収/分布/代謝/排泄
AME	Absorption/metabolism/excretion　吸収/代謝/排泄
AUC	Area under the concentration-time curve　濃度‐時間曲線下面積
AUC_{12h}	投与後0時間から12時間までの濃度‐時間曲線下面積
AUC_{24h}	投与後0時間から24時間までの濃度‐時間曲線下面積
AUC_t	投与後0時間から最終測定可能時間までの濃度‐時間曲線下面積
AUC_∞	投与後0時間から∞時間までの濃度‐時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein　乳癌耐性タンパク質
BID	Twice daily　1日2回
[^{14}C]	Carbon-14　炭素14
CHO	Chinese hamster ovary　チャイニーズハムスター卵巣
CL	Clearance　クリアランス
CL/F	血管外投与時の全身クリアランス
C_{max}	Maximum concentration　最高濃度
CsA	Cyclosporine A　シクロスポリンA
CYP	Cytochrome P450　シトクロムP450
E3S	Estrone-3-sulfate　エストロン-3-硫酸
ESI/MS/MS	Electrospray ionization/tandem mass spectrometry　エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析
F	絶対的バイオアベイラビリティ
GSH	Glutathione　グルタチオン
[^{3}H]	Tritium　トリチウム
HEK293	Human Embryonic Kidney 293　ヒト胎児腎細胞293
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}	Half maximal inhibitory concentration　50%阻害濃度
ISA247，トランス型ISA247	Isotechnika Pharma Inc. designation for voclosporin ボクロスポリンのIsotechnika Pharma Inc.による呼称
K_i	Inhibitory constant　阻害定数
LC/APCI/MS	Liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization/mass spectrometry　液体クロマトグラフィー/大気圧化学イオン化/質量分析
LC/ESI/MS	Liquid chromatography/electrospray ionization/mass spectrometry　液体ク

	ロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/質量分析
LC/MS	Liquid chromatography/mass spectrometry　液体クロマトグラフィー/質量分析
LC/MS/MS	Liquid chromatography/tandem mass spectrometry　液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析
LSC	Liquid scintillation counting　液体シンチレーション計数法
LX211	Lux Biosciences, Inc. designation for ボクロスポリン　ボクロスポリンのLux Biosciences, Inc.による呼称
MATE	Multidrug and toxin extrusion
MCT	Medium chain triglyceride　中鎖トリグリセリド
MDCKII	Madin-Darby Canine Kidney Cells　Madin-Darbyイヌ腎臓細胞
mix-ISA247（$ISA_{TX}247$）	Formulation consisting of 45-50% *trans*- and 50-55% *cis*-isomers of ISA247 ISA247のトランス異性体（45%～50%）及びシス異性体（50%～55%）を成分とする薬剤
NOAEL	No observed adverse effect level　無毒性量
OAT	Organic anion transporter　有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide　有機アニオントランスポーターポリペプチド
OCT	Organic cation transporter　有機カチオントランスポーター
O/SPE/LC/ESI/MS/MS	On-line/solid phase extraction/liquid chromatography/ electrospray ionization/tandem mass spectrometry　オンライン/固相抽出/液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析
P-gp	P-glycoprotein　P-糖タンパク質
QWBA	Quantitative whole body autoradiography　定量的全身オートラジオグラフィー
$t_{1/2}$	Elimination half-life　消失半減期
TK	Toxicokinetic(s)　トキシコキネティクス
t_{max}	Time of maximum concentration　最高濃度到達時間
TPGS	D-alpha-tocopheryl-polyethylene glycol 1000 succinate　D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩
Vd	Volume of distribution 分布容積
Vd/F	血管外投与時の分布容積
V_{max}	Maximum velocity　最大速度

名称（由来）	構造式
ボクロスポリン（JAN）の トランス異性体 Voclosporin（INN） trans-ISA247	
ボクロスポリン（JAN）のシス異性体 cis-ISA247	
IM9 水酸化体 （代謝物）	
IM4 水酸化体 （代謝物）	

名称（由来）	構造式
IM4n N-脱メチル体 （代謝物）	
IM1-Diol-1 ジヒドロジオール体 （代謝物）	
IM1-Diol-2，IM1-Diol-3 ジヒドロジオール体 （代謝物）	
IM1a カルボン酸 （代謝物）	

名称（由来）	構造式
IM1c (R) 閉環体 （代謝物）	
IM1c (S) 閉環体 （代謝物）	
IM1w 酸化体 （代謝物）	
IM1w-dk 酸化体 （代謝物）	

2.6.4　薬物動態試験の概要文

2.6.4.1　まとめ

ボクロスポリンの薬物動態試験は，薬効薬理及び安全性評価で使用された動物種（マウス，ラット，ウサギ，イヌ，及びサル）を用いて実施された。主要な投与経路は経口投与であり，特記なき限り，投与溶媒として標準製剤［ビタミンE TPGS /MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted], w/w/w/w）］を使用した。ボクロスポリンの薬物動態，代謝及び排泄プロファイルをヒトと動物とで比較するために，代表的な臨床薬物動態試験からのデータを含めた。

ボクロスポリンは，修飾された官能基の向きに応じた幾何異性体であるトランス異性体及びシス異性体により構成され，これまでに2種類の薬剤を開発している。1つは初期の試験で使用した2つの異性体の混合物（mix-ISA247；トランス異性体45%～50%，シス異性体50%～55%）であり，もう1つは，トランス異性体を（[redacted]%～[redacted]%）含有する薬剤である。

本書全体を通して，ボクロスポリンは，その剤形及び開発元に応じて複数の名称で記載している。以下の取り決めにしたがって表記する：

- ボクロスポリン：有効成分名（国際一般名）であり，現在大塚製薬株式会社/Aurinia Pharmaceuticals Inc.（Aurinia）により開発が進められている，トランス異性体を[redacted]～[redacted]%含有する薬剤の名称。
- ISA247，トランス型ISA247：過去に，固形臓器移植に対する拒絶反応の予防薬及び乾癬の治療薬としてIsotechnika Pharma Incにより開発された，トランス異性体を[redacted]%以上含有するボクロスポリンの薬剤。
- LX211：Lux Biosciences, Inc.により非感染性ぶどう膜炎の治療に使用されている，トランス異性体を[redacted]%以上含有するボクロスポリンの薬剤。
- Mix-ISA247（試験報告書には$ISA_{TX}247$とも記載している）：ボクロスポリンのトランス異性体45%～50%とシス異性体50%～55%を含有する薬剤。本書では確認しやすいよう，全文を通して「mix-ISA247」という用語を使用している。

大半の非臨床試験ではLC/MS及びLC/MS/MSを用いて，全血試料中のボクロスポリン濃度をシス異性体とトランス異性体とを区別せずに測定した。特定の試験では，LC/APCI/MS法を用いてボクロスポリンのシス異性体とトランス異性体とを分離して定量した。一部の非臨床試験では対照薬としてCsAを使用したため，全血試料中のCsA濃度を測定するLC/MS法を開発した。毒性試験の動物種における特定のボクロスポリン代謝物の全血中濃度を測定するためにLC/MS及びLC/MS/MS分析法を開発しバリデーションを実施した。ノンコンパートメント薬物動態パラメータは，[redacted]を使用して算出した。

ボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247の薬物動態を，種々の試験において評価した。

- 吸収試験として，ラット，ウサギ，及びサルを用いたバイオアベイラビリティ及び薬物動態試験を行った。
- 分布試験として，[^{14}C]-ボクロスポリン又は [^{3}H]-mix-ISA247を用いたラットの*in vivo*試験及び[^{14}C]-ボクロスポリンを用いたサルの*in vivo*試験を行った。ヒト全血におけるボクロス

ポリンの血球移行性を評価した。[^{14}C]-ボクロスポリンの血漿タンパク結合率（マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サル，及びヒト），及びその主要代謝物であるIM9の血漿タンパク結合率（ラット，イヌ，サル，及びヒト）を*in vitro*で評価した。ラットを用いて[^{14}C]-ボクロスポリンの胎盤通過試験を実施した。

- 代謝試験として，肝ミクロソーム（マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サル，及びヒト），又はヒト肝細胞を用いて代謝，CYP同定，及びGSHトラッピングの各*in vitro*試験を実施した。*in vivo*試料中の代謝物をマウス，ラット，ウサギ，及びサルで検討した。CYP酵素阻害（代謝物IM9を含む）及び誘導能を評価する*in vitro*試験を実施した。
- 排泄は，ラット及びサルを用いて，[^{14}C]-ボクロスポリン又は [^{3}H]-mix-ISA247の体内分布試験を実施した。ラットを用いて[^{14}C]-ボクロスポリンの胆汁排泄試験，及び乳汁排泄試験を実施した。
- 薬物相互作用試験として，ボクロスポリン又は[^{14}C]-ボクロスポリンの薬物トランスポーターに対する基質性及び阻害能を*in vitro*で評価した。
- その他の薬物動態試験として，シス異性体とトランス異性体の相互変換について*in vitro*（ヒト）及び*in vivo*（ラット，サル，及びヒト）で評価した。

2.6.4.1.1 吸収

ボクロスポリンの絶対的バイオアベイラビリティは，ラットで7.6%～7.8%と算出された。また，毒性試験で使用された標準製剤（ビタミンE TPGS配合）とは別にビタミンE非含有製剤についてもラットを用いて評価し，標準製剤と類似した曝露量及び薬物動態プロファイルを示す溶媒はTween 40/MCT油/ 95%エタノール（[redacted]，w/w/w）であった。ビタミンE非含有製剤のボクロスポリン及びCsAを，それぞれ25 mg/kg/日の用量で10日間反復経口投与したとき，CsAの曝露量はボクロスポリンの2.4～3.5倍高かった。

ラットにボクロスポリン2.5及び25 mg/kg/日を10日間反復経口投与したとき，ボクロスポリン及び測定した代謝物の全身曝露量は用量依存的であったが，用量比を上回って増加した。AUC_{24h}に基づくと，ボクロスポリンの全身曝露量は，測定した代謝物の曝露量より一貫して高く，また雌より雄で高かった。

Mix-ISA247（標準溶媒）とCsA（標準溶媒又は[redacted]）を比較する10日間の反復投与薬物動態試験において，ラットの全身曝露量は，溶媒によらずmix-ISA247よりもCsAが高かった。また，この試験から，投与容量が薬物動態パラメータに影響を及ぼさないことが示された。

ウサギを用いたmix-ISA247及びボクロスポリン（20 mg/kg/日）の10日間反復投与後の比較試験では，トランス異性体はシス異性体より高いバイオアベイラビリティを有することが示された。同様の結果は，ラットのTK試験及びサルの安全性薬理試験でも認められた。また，定常状態におけるボクロスポリンの曝露量は，mix-ISA247及びボクロスポリンのいずれの投与においても，測定した代謝物の曝露量より一貫して高かった。

サルにmix-ISA247を単回経口投与したところ，20，60，及び200 mg/kgの用量でmix-ISA247の全身曝露量は用量依存的に増加した。

2.6.4.1.2　分布

ラット（アルビノ）に[^{14}C]-ボクロスポリン（5 mg/kg）を経口投与したとき，薬物由来放射能は測定した主要な臓器及び組織すべてに急速に分布した。ラットにおける組織中濃度は，雌より雄で高い傾向だった。薬物由来放射能は，消化管，肝臓，及び腎臓で高濃度であり，膵臓，甲状腺，脾臓，副腎，及び腸間膜リンパ節の放射能濃度も，雌雄ともに比較的高かった。脳及び脊髄の放射能濃度は雌雄ともに低かった。生殖器官の放射能濃度は，雄より雌で高かった。有色ラットとアルビノラットの[^{14}C]-ボクロスポリン分布プロファイルに顕著な差は認められなかったため，ボクロスポリンはメラニンとほとんど結合しないことが示唆された。

ラットに[^{3}H]-mix-ISA247（25 mg/kg）を経口投与したとき，薬物由来放射能は消化管で最も高く，脳及び脊髄では低かった。投与4時間後において，薬物由来放射能の総量が最も多い消化管以外の組織は，肝臓，骨格筋，及び脂肪組織であった。吸収された[^{3}H]-mix-ISA247 由来の放射能は，投与72時間後までにほとんど組織から消失していることが示唆された。

サルに[^{14}C]-ボクロスポリン（40 mg/kg，260 μCi/kg）を経口投与後の放射能の組織分布は，ラットと同様であった。吸収された薬物由来放射能は，測定したすべての組織及び臓器に急速分布した。薬物由来放射能が高濃度に認められた組織は，消化管，胆汁（胆嚢内容物），肝臓，大動脈（雌のみ），リンパ節（腸間膜），及び腎臓であった。放射能濃度は中枢神経系の組織で低かったことから，ボクロスポリン及び代謝物は血液脳関門を通過しにくいことが示唆された。未変化体及び放射能の曝露量は雄よりも雌の組織においてわずかに高かった。多くの組織でt_{max}は投与後2時間であった。未変化体は循環血中の総放射能の約3分の1を占め，投与後168時間に測定した全血及びほとんどの組織に薬物由来放射能が検出可能であったことから，長時間組織中に残存することが示唆された。

Mix-ISA247及びボクロスポリンはヒト血中の赤血球へ分布していたことから，全血が薬物濃度の測定に最も適したマトリクスであることが示された。

[^{14}C]-ボクロスポリンの*in vitro*血漿タンパク結合率は，マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サル，及びヒトで96.97%～98.34%であり，濃度（20～2000 ng/mL）に依存しなかった。代謝物IM9の*in vitro*血漿タンパク結合率は0.1～10 μmol/Lの範囲で実施し，ラット，イヌ，サル，及びヒトで55.4%～81.2%であった。

ラットを用いた[^{14}C]-ボクロスポリンの胎盤通過試験では，胎盤を介した薬物由来放射能の胎児移行は緩慢で限定的であった。母動物に投与した量のうち胎児組織に認められた割合は，投与8時間後（t_{max}）で約0.019%であった。

2.6.4.1.3　代謝

マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サル，及びヒトの肝ミクロソームを用いた*in vitro*試験から，ボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247の代謝には，IM1残基（共役ジエン構造を有するアミノ酸残基）以外のアミノ酸残基の水酸化及び酸化的N-脱メチル化，並びにIM1残基の末端二重結合のエポキシ化及び加水分解が含まれることが示された。CYP3A4/5は，mix-ISA247及びボクロスポリンの主要な代謝酵素であった。ヒト肝ミクロソームは，GSHの有無にかかわらず同様の相対的レベルでボクロスポリンの代謝物を生成した。この時，GSH付加物は認められなかっ

た。

2系統のマウス（CByB6F1及びCD-1）を対象にボクロスポリンを25 mg/kg/日で投与し，*in vivo* 代謝プロファイルをLC/ESI/MS/MSにより評価した。両系統のマウスはボクロスポリンを同様に代謝し，主要代謝物はIM9であり，代謝プロファイルは雌雄間で差はなかった。

ボクロスポリン及び代謝物の薬物動態は，ラットにボクロスポリン（2.5及び25 mg/kg/日）を10日間反復経口投与，ウサギにmix-ISA247又はボクロスポリン（20 mg/kg/日）を10日間反復経口投与，及びサルにボクロスポリンを10日間反復経口投与（40及び150 mg/kg/日）して評価した。ボクロスポリン及びmix-ISA247の曝露量並びに測定した代謝物の曝露量は用量の増加に伴って増加した。また，ボクロスポリン及びmix-ISA247の曝露量は，測定した代謝物の曝露量より高かった。代謝物のうち，IM9は一貫して最も高い曝露量を示した。

ラットに[^{14}C]-ボクロスポリン（5 mg/kg）を単回経口投与したとき，未変化体が全血中に継続して認められ，未変化体は投与後24時間にわたり総放射能の50%超を占めた。IM9は全血中の主要代謝物（最大27.4%）であり，その他の代謝物は10%未満であった。IM9及び未同定の代謝物が尿中で認められた。胆汁では，IM9，IM4n，及びIM4nの水酸化代謝物，並びにボクロスポリンのジヒドロキシル化代謝物が検出された。ラットでは第2相代謝物は認められなかった。

サルに[^{14}C]-ボクロスポリン（40 mg/kg）を経口投与したとき，2種類の曝露が高い代謝物（IM9，IM1-Diol-1）を確認した。AUC_{24h}に基づくと，ボクロスポリンは全血中の総放射能の約30%～40%を占め，14種類の代謝物がサルの血液，胆汁，尿，又は糞から同定された。糞中の未変化体（雄及び雌でそれぞれ投与量の61.7%及び59.1%）は，吸収されなかった薬物を反映している可能性が高いと考えられた。サルにおけるボクロスポリンの代謝経路には，IM1残基の末端二重結合のエポキシ化及び加水分解によるジヒドロジオール及びその他のIM1残基以外のアミノ酸関連代謝物の生成が含まれる。さらに，他の1つ以上のアミノ酸残基の水酸化及び酸化的N-脱メチル化が起こる。

ヒト肝ミクロソームを用いてボクロスポリンの*in vitro* CYP阻害能を評価した結果， CYP3A4/5の競合的阻害剤であった（ミダゾラム1'-水酸化による評価でKi = 1.1 µmol/L，IC_{50} = 1.2 µmol/L）。この阻害に時間依存性及び代謝依存性は認められなかった。代謝物IM9の*in vitro* CYP阻害能をヒト肝ミクロソーム用いて評価した。3 µmol/Lまでの濃度において，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及びCYP3A4に対して，IM9は直接的及び時間依存的な阻害効果を示さないか，阻害率が50%未満であった。

ヒト肝細胞において，ボクロスポリンはCYP1A2及びCYP3A4の誘導剤ではなかった（酵素活性による評価）。ボクロスポリンはCYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，及びCYP3A4に関して，臨床血中濃度でmRNA誘導能を示さないことが示唆された。

2.6.4.1.4　　排泄

ラットに[^{3}H]-mix-ISA247又は[^{14}C]-ボクロスポリンを経口投与したときの主要な排泄経路は糞中であり（mix-ISA247で約89%～97%，ボクロスポリンで約95%～97%），薬物由来放射能の尿中排泄はわずかであった（mix-ISA247で約5%～6%，ボクロスポリンで約1.3%～1.8%）。排泄は速やかであり，大部分の放射能は48時間までに回収された。

同様の結果が[^{14}C]-ボクロスポリンをサルに経口投与後にも認められ，排泄は最初急速であ

り，尿中及び糞中の総放射能の約95%～97%が投与後48時間までに排泄された。主要な排泄経路は糞中であり（投与後168時間までに投与量の76.95%～79.18%），尿中排泄はわずかであった（投与後168時間までに投与量の0.76%～1.87%）。排泄は投与144～168時間の試料においても認められた（投与量の0.22%～0.59%）。

ラットを用いた[^{14}C]-ボクロスポリンの乳汁排泄試験では，薬物由来放射能の乳汁排泄は急速であったが，出生児の吸収は緩慢であり限定的であった。各出生児の薬物由来放射能の曝露量は，投与量の0.053%と算出された。雌雄の出生児間で差は認められなかった。

2.6.4.1.5　　薬物相互作用

Caco-2細胞単層膜を用いた*in vitro*試験の結果，ボクロスポリンは高濃度（4 µmol/L）でP-gpの阻害剤となる可能性があり，またP-gpの基質となる可能性が示唆された。一方で，ボクロスポリンはBCRP，OATP1B1，及びOATP1B3の基質ではないと考えられた。

*In vitro*において，ボクロスポリンはOATP1B1及びOATP1B3を阻害し，IC_{50}値はそれぞれ0.49 µmol/L及び0.24 µmol/Lであった。ボクロスポリンは，BCRPを介した小胞輸送阻害試験系において，BCRPと相互作用することが示されたが，算出されたIC_{50}値は検討した最高濃度（10 µmol/L）より高かった。

ボクロスポリンは，OAT1，OAT3，OCT2，MATE1，及びMATE2-Kを阻害しないことが示された。

2.6.4.1.6　　ボクロスポリン異性体の相互変換

シス異性体からトランス異性体への変換（又はその逆）は，*in vitro*においてヒト全血又は50°Cで1時間処理して変性させたヒト全血を用いて，37°Cで6時間までインキュベーションしても起こらなかった。ラットを用いた13週間のブリッジング毒性試験及び健康被験者を対象とした用量漸増反復投与試験の血液試料を用いて，ボクロスポリンを経口投与したときのトランス型ISA247からシス型ISA247への*in vivo*変換の可能性を評価した。ボクロスポリンのトランス異性体は*in vivo*でシス異性体に変換されないことが示された。また，ボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247の200 mg/kgを単回経口投与したときのサルの安全性薬理試験のデータから，シス異性体とトランス異性体間の相互変換が起こらないことが示された。

2.6.4.2　分析法

2.6.4.2.1　生物学的マトリクス中の薬物及び代謝物濃度の測定法

2.6.4.2.1.1　全血中薬物濃度の測定法

全血中のmix-ISA247及びボクロスポリンを分析するため，高感度かつ特異的な生体試料中分析法（LC/MS及びLC/MS/MS）を開発し，動物試料中ボクロスポリン濃度測定のためのバリデーション試験を実施した。mix-ISA247及びボクロスポリンが赤血球に分布しやすいことに基づき全血をマトリクスとして用いた。ボクロスポリンの開発において，初期の非臨床試験及び臨床試験で使用した原薬は，2種類の幾何異性体の混合物（mix-ISA247；トランス異性体45%～50%，シス異性体50%～55%）であったが，シス異性体とトランス異性体を分離して定量するための異性体特異的な方法が開発されていなかった。トランス異性体を多く含有する原薬（トランス異性体[redacted]%以上）への切り替え後，ボクロスポリンのシス異性体とトランス異性体を分離及び定量可能な異性体特異的な方法を開発した。異性体特異的な方法を用いて分析を実施したところ，ボクロスポリンのシス異性体及びトランス異性体は*in vivo*及び*in vitro*で相互変換しないことが確認された。そのため，特記しない限り，異性体特異的でない方法を使用してボクロスポリンの非臨床試験を実施した。

CsAを一部の非臨床試験で対照薬として用いるため，CsAの全血中濃度を測定するための生体試料分析法（LC/MS，LC/MS/MS）を開発してバリデーションした。1つの毒性試験においてプレドニゾンを併用したため，プレドニゾン及びその代謝物プレドニゾロンの血漿中濃度を測定するために，LC/MS/MS法をバリデーションした。

分析法の一覧，各分析法を裏付ける試験，定量法のバリデーションパラメータ，並びに各種保存及び処理条件下での分析対象物の安定性を概要表2.6.5.2に要約した。

2.6.4.2.1.2　全血中代謝物濃度の測定法

全血中のボクロスポリン代謝物を分析するため，高感度かつ特異的なLC/MS及びLC/MS/MS法を開発し，動物試料中濃度測定のためにバリデーション試験を実施した。mix-ISA247及びボクロスポリンが赤血球に分布しやすいことに基づき全血をマトリクスとして用いた。代謝物プロファイルが確立した後，IM1-Diol-1，IM1w，IM1c (R)，IM1c (S)，IM4，IM9，及びIM4nの各代謝物の定量法を開発後期に作成した。

分析法の一覧，各分析法を裏付ける試験，定量法のバリデーションパラメータ，並びに各種保存及び処理条件下での分析対象物の安定性を概要表2.6.5.2に要約した。

2.6.4.2.1.3　放射性標識体及び放射能測定法

非臨床ADMEプログラムでは，2種類の放射性標識体を用いた。プログラムの初期には，[^{3}H]-mix-ISA247（図 2.6.4.2-1）を用いて，ラットにおける組織分布及びマスバランスを評価した。その後，[^{14}C]-ボクロスポリン（図 2.6.4.2-2）を用いて，ラット及びサルにおけるADMEの評価，ラットにおける胎盤通過及び乳汁排泄の評価，及びヒトにおけるAMEの評価を実施した。

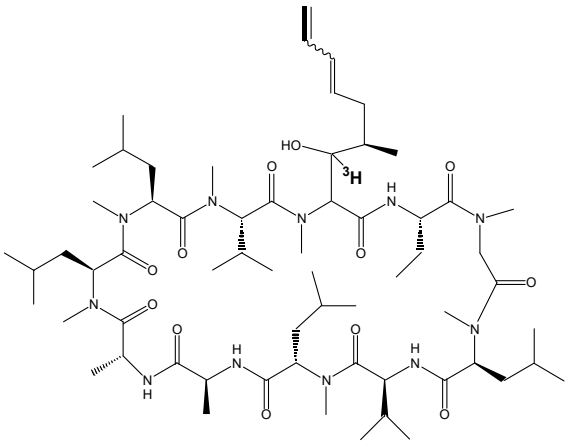


図 2.6.4.2-1　　[3H]-mix-ISA247の構造

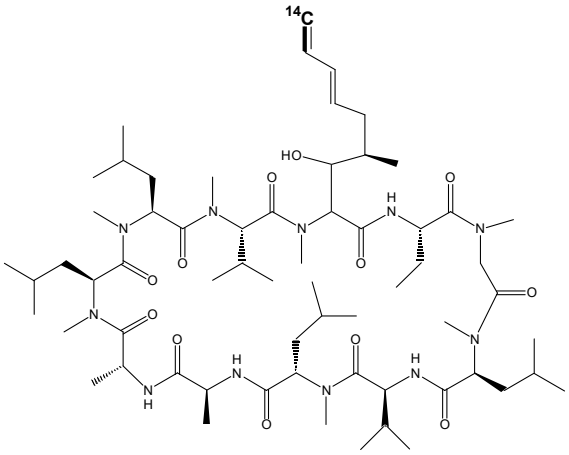


図 2.6.4.2-2　　[14C]-ボクロスポリンの構造

[3H]-mix-ISA247の比放射活性及び放射化学的純度は，それぞれ2.3 Ci/mmol，及び> 88%であった（資料番号4.2.2.2-03）。[14C]-ボクロスポリンの比放射活性は41.08～46.9 µCi/mgであり，各バッチの放射化学的純度は97.0%以上であった。[14C]-ボクロスポリンのトランス/シス比を検討したところ，82/18～10/1であった（資料番号4.2.2.2-02，4.2.2.2-04，4.2.2.3-02，4.2.2.3-04，5.3.3.1-03）。試験に使用する薬剤における化合物の濃度と放射性純度の放射化学的安定性は，投与に要する期間全体にわたり確認された。ADME試験から採取した生体試料（血液，血漿，胆汁，尿，及び糞）をLSCにより分析した。試料（血液，尿，胆汁，及び糞）の代謝物プロファイリングを，HPLCとフラクションコレクター，及びLSC，又は[redacted]マイクロプレートシンチレーション・ルミネッセンスカウンターを組み合わせて実施した。

2.6.4.2.2　　薬物動態解析

ノンコンパートメント薬物動態パラメータは，[redacted]を使用して算出した。ボクロスポリン，ボクロスポリン代謝物，及びCsAの薬物動態解析では，全血中濃度時間プロファイルを用いた。分析法の定量限界未満の値には濃度ゼロを割り当てた。通常，全血中濃度のデータに対してノンコンパートメント解析を実施し

た。C_{max}及びt_{max}の値は，濃度時間曲線から，内挿を行わず直接決定した。AUCは，投与間隔における，線形台形法による全血中濃度時間曲線下面積と定義した。$t_{1/2}$は，消失相での3濃度以上の測定時点を用いた線形回帰により算出した。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 単回投与後の血液中濃度

2.6.4.3.1.1 ラット

（概要表2.6.5.3，報告書番号ISA08-15，ISA05-18，ISA00-25）

ラット（雌雄各6例/群）を用いて，ボクロスポリンを5 mg/kgの用量で単回経口又は静脈内投与したときのボクロスポリンの経口バイオアベイラビリティを検討した。初回の血液試料は経口及び静脈内投与後15分に採取した。全血試料中のボクロスポリン濃度を，バリデーションしたO/SPE/LC/ESI/MS法により測定した。

AUC_{∞}に基づき，雌雄のラットにおけるボクロスポリンの経口バイオアベイラビリティは7.6%～7.8%であった（表 2.6.4.3.1.1-1，資料番号4.2.2.2-01参照）。

表 2.6.4.3.1.1-1 ボクロスポリンを雌雄ラットに単回経口投与及び静脈内投与したときの薬物動態パラメータ

パラメータ[a]	経口投与（5 mg/kg）		静脈内投与（5 mg/kg）	
	雄	雌	雄	雌
C_{max}（ng/mL）	307.1	271.8	5844	3923
t_{max}（h）	3	2	0.25	0.25
AUC_{24h}（ng·h/mL）	2273.5	1129.9	27731	14673
AUC_{∞}（ng·h/mL）	2440.9	1155.4	31251	15189
$t_{1/2}$（h）	6.2	4.8	8.3	4.8
CL，CL/F（mL/h/kg）	2048	4327	160	329
Vd，Vd/F（mL/kg）	18306	30016	1927	2284
F（%）	7.8	7.6	NA	NA

各時点 n = 3 でスパースサンプリングにより採血し薬物動態パラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出
[a]静脈内投与時はCL及びVd，経口投与時はCL/F及びVd/Fを採用
＜資料番号4.2.2.2-01，Appendex 5，Table 4.3-1及び4.3-3より作成＞

ラット（雌雄各9例/群）に[^{14}C]-ボクロスポリン（5 mg/kg）を単回経口投与したときの薬物動態を確認した。全血における薬物由来放射能の濃度時間プロファイルは，LSCで検討した。

ラットに単回経口投与したとき，[^{14}C]-ボクロスポリンは速やかに吸収された。雄の全身曝露量は雌より1.4倍程度高かった。全血中の薬物由来放射能は，最初の試料採取時間（投与後1時間）に測定可能であり，雄では投与後3時間，雌では投与後2時間で最高値に達した。その後，全血中の平均放射能濃度は低下し二相性を示した（終末相の$t_{1/2}$は雄で29時間，雌で41時間）。全血中の平均総放射能濃度は，最終の試料採取時間（投与後72時間）にも測定可能であり，その時の濃度はC_{max}の1.5%（雄）及び1.2%（雌）であった（表 2.6.4.3.1.1-2，資料番号4.2.2.2-02参照）。

表 2.6.4.3.1.1-2　[14C]-ボクロスポリンを雌雄ラットに単回経口投与したときの薬物動態パラメータ

パラメータ	雄	雌
C_{max}（ng eq./mL）	565	455
t_{max}（h）	3	2
AUC_t（ng eq.·h/mL）	4220 (t: 72h)	3030 (t: 72h)
AUC_∞（ng eq.·h/mL）	4530	3350
$t_{1/2}$（h）	28.7	41.1

薬物動態パラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出
＜資料番号4.2.2.2-02，Table 2より作成＞

ラット（時点ごとに雌雄各3例）に[^{3}H]-mix-ISA247（25 mg/kg）を単回経口投与したときの薬物動態を確認した。全血における薬物由来放射能の濃度時間プロファイルは，LSCを用いて検討した。

血中のAUC値は雌雄で同等であり，薬物由来放射能の同様の吸収が認められた（表 2.6.4.3.1.1-3，資料番号4.2.2.2-03参照）。

表 2.6.4.3.1.1-3　[3H]-mix-ISA247を雌雄ラットに単回経口投与したときの薬物動態パラメータ

パラメータ	雄	雌
C_{max}（ng eq./mL）	1110	830
t_{max}（h）	4	4
AUC_t（ng eq.·h/mL）	13000 (t: 48h)	10600 (t: 72h)
AUC_∞（ng eq.·h/mL）	13600	11000
$t_{1/2}$（h）	11.4	10.3

薬物動態パラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出
＜資料番号4.2.2.2-03，Table 9より作成＞

2.6.4.3.1.2　サル

（概要表2.6.5.3，報告書番号ISA03-02，ISA02-07，ISA08-01）

ボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247の単回投与時の薬物動態プロファイルを，雌雄サルを用いた心血管系安全性薬理試験において評価した。シス異性体及びトランス異性体の濃度についてはバリデーションしたLC/APCI/MS法により測定した。

ボクロスポリン，Mix-ISA247，及びシス型ISA247ボクロスポリンを200 mg/kgの用量で経口投与したとき，ボクロスポリンとシス型ISA247又はmix-ISA247内の曝露量を比較すると，トランス異性体の曝露量は，シス異性体の曝露量の約2倍であった。Mix-ISA247又はボクロスポリン投与後の曝露量（シス異性体及びトランス異性体の合計）は同等であった。mix-ISA247投与後のt_{max}は両異性体とも遅く、$t_{1/2}$は同程度であった（表 2.6.4.3.1.2-1，資料番号4.2.1.3-04参照）。

表 2.6.4.3.1.2-1　ボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247をサルに単回経口投与したときの全血中薬物動態パラメータ

被験物質	異性体	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
ボクロスポリン	トランス型	6.2 ± 0.5	2.0	538.4 ± 95.1	3534 ± 709.4
	シス型	9.0 ± 9.2	2.8	16.3 ± 4.4	80.4 ± 29.6
Mix-ISA247	トランス型	5.9 ± 1.0	3.3	305.2 ± 77.2	2206 ± 796.9
	シス型	3.5 ± 1.3	3.3	183.7 ± 43.9	1227 ± 434.8
シス型ISA247	トランス型	NC	2.3	6.1 ± 1.0	21.0 ± 10
	シス型	7.0 ± 2.5	1.8	285.5 ± 56.7	1701 ± 544.8

平均値 ± 標準偏差（n = 6），パラメータは雌雄の合算値，NC = 算出せず
＜資料番号4.2.1.3-04，Addendum5 Table 4.3-4-1~4より作成＞

Mix-ISA247の単回投与時の薬物動態プロファイルを，雌サルを用いた心血管系安全性薬理試験において評価した。Mix-ISA247濃度についてはバリデーションしたLC/APCI/MS法により測定した。

Mix-ISA247を20，60，及び200 mg/kgで投与したときのt_{max}は2～4時間であった。平均AUC_{24h}はそれぞれ368.0，2722.0，及び6701.7 ng·h/mLであり，平均C_{max}はそれぞれ32.3，274.8，及び604.8 ng/mLであった。曝露量は用量に依存して増加した（表 2.6.4.3.1.2-2，資料番号4.2.1.3-03参照）。

表 2.6.4.3.1.2-2　Mix-ISA247を雌サルに単回経口投与したときの薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg)	動物番号	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
20	2421	7.1	2	25.0	261.2
	2422	8.9	4	39.6	474.8
60	2423	3.8	4	237.6	1947.8
	2424	4.2	4	312.0	3496.2
200	2425	4.3	4	747.2	8284.6
	2426	4.8	2	462.4	5118.8

パラメータは個体別に算出
＜資料番号4.2.1.3-03：Addendum4 Table 4.3-1より作成＞

雌雄各2例のサルに[^{14}C]-ボクロスポリン（トランス異性体が90%以上，40 mg/kg）を単回経口投与したときの血液試料を，放射能についてはLSC（定量下限値（LLOQ） = 13.9 ng eq./mL），ボクロスポリン含量（24時間まで）についてはバリデーションしたLC/ESI/MS/MS法（LLOQ = 2 ng/mL）により測定した。

薬物動態パラメータCL/F，V_z/F，$t_{1/2}$，及びAUC_∞は4例中3例（雄2例，雌1例）で推定可能であった。4例目の動物（雌）では，終末相消失速度定数（k）が正確に決定できなかったため，これらのパラメータは参考値である。ボクロスポリンについて算出した$t_{1/2}$は，雄サルで約9時間，雌サルで6時間であった（表 2.6.4.3.1.2-3，資料番号4.2.2.2-04参照）。

表 2.6.4.3.1.2-3　[^{14}C]-ボクロスポリン（40 mg/kg，260 μCi/kg）を雌雄サルに単回経口投与したときの放射能及びボクロスポリン薬物動態パラメータ

動物番号 雄/雌	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	AUC_{24h}[a] (ng·h/mL)	AUC_t[a] (ng·h/mL)	AUC_∞[a] (ng·h/mL)	Vz/F (L/kg)	CL/F (L/h/kg)	k (1/h)	t1/2 (h)
総放射能									
123雄	611	3	4960	11000	21100[b]	NC	NC	0.0030[b]	232.7[b]
125雄	487	3	3550	7800	25900[b]	NC	NC	0.0012[b]	557.5[b]
124雌	467	2	3540	7740	12300[b]	NC	NC	0.0043[b]	161.9[b]
126雌	565	3	3980	8130	15200[b]	NC	NC	0.0030[b]	229.9[b]
ボクロスポリン									
123雄	235	3	2010[c]	2010	2380	189	14.7	0.0777	8.9
125雄	174	3	1150	1150	1320	328	26.3	0.0801	8.7
124雌	181	2	1220	1220	1410	303[b]	24.6[b]	0.0811[b]	8.5[b]
126雌	150	3	1150	1150	1210	224	28.4	0.1264	5.5

k＝ 終末相速度定数，　NC＝ 算出せず，
[a]放射能の単位はボクロスポリンのng当量とする。
[b]データが薬物動態の判定基準を満たさなかったため，参考値とする。
[c]未変化体のAUC_{24h}は，AUC_tと同じである。
＜資料番号4.2.2.2-04：Table 3より作成＞

2.6.4.3.2　反復投与後の血液中濃度

2.6.4.3.2.1　ラット

（概要表2.6.5.4，報告書番号ISA05-08，ISA05-10，ISA08-14，ISA01-17）

ビタミンE非含有製剤［Tween 40/Miglyol 812/95%エタノール（[redacted]，w/w/w）］を用いてボクロスポリンとCsAの薬物動態パラメータを比較した。

ラット（雌雄各12例/群）にボクロスポリン（25 mg/kg/日）又はCsA（25 mg/kg/日）を10日間経口投与したときの全血試料中のボクロスポリン又はCsAの濃度を，バリデーションしたLC/ESI/MS法により測定した。

薬物動態解析の結果，ボクロスポリンを経口投与したとき，雄は雌より3倍高いAUC_{24h}を示した。同様に，CsAを投与したとき，雄は雌より2倍高いAUC_{24h}を示した。CsA投与群は，このビタミンE非含有製剤を用いたボクロスポリン投与群より高いAUC_{24h}（2.4～3.5倍）を示した（表2.6.4.3.2.1-1，資料番号4.2.2.2-05参照）。

表 2.6.4.3.2.1-1　ビタミンE非含有製剤を用いてボクロスポリン及びCsAを雌雄ラットに10日間経口投与したときの全血中薬物動態パラメータ

被験物質	性別	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
ボクロスポリン (25 mg/kg/日)	雄	11.6	3	958.3	13482.5
	雌	6.6	2	638.4	4573.1

被験物質	性別	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
CsA[a] (25 mg/kg/日)	雄	21.3	4	1744.4	32668.4
	雌	8.2	4	1099.3	15821.6

薬物動態パラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出

[a]分析法の検量線の範囲（1000 ng/mL）を超える一部の濃度を含めて，薬物動態パラメータを算出した。

＜資料番号4.2.2.2-05，Table 4.1.3-1より作成＞

ラット（雌雄各9例/群）を用いた10日間反復経口投与TK試験において，投与媒体としてビタミンE非含有製剤［Tween 40/MCT油/95%エタノール（[redacted]，w/w/w）］又は標準製剤を使用したときの，ボクロスポリンのTKパラメータを比較した。ビタミンE非含有製剤は，2.5，10，及び25 mg/kg/日の用量で，標準製剤は25 mg/kg/日の用量で評価した。LC/ESI/MS法を用いて全血試料を分析した。

ビタミンE非含有製剤の用量を増加させたとき，C_{max}とAUC_{24h}はいずれも増加した。TK試験の結果から，ビタミンE非含有製剤及び標準製剤を用いた場合のボクロスポリン25 mg/kg/日の曝露量は，雄は1日目と10日目で同等であった。雌の標準製剤の曝露量は，1日目及び10日目にそれぞれビタミンE非含有製剤の57%及び68%であった。いずれの製剤を用いた場合も，1日目，6日目，及び10日目に，雄は雌より高いボクロスポリンの曝露量を示した（表 2.6.4.3.2.1-2及び表 2.6.4.3.2.1-3，資料番号4.2.2.2-06参照）。

表 2.6.4.3.2.1-2　ビタミンE非含有製剤及び標準製剤を用いてボクロスポリンを雌雄ラットに10日間経口投与したときの全血中薬物動態パラメータ

用量（mg/kg/日）／製剤	Day	性別	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
2.5／ビタミンE非含有	1	雄	5.5	2	413	3383
	1	雌	5.4	2	411	1738
	10	雄	5.6	4	236	2546
	10	雌	3.9	2	124	731
10／ビタミンE非含有	1	雄	6.7	4	1183	12632
	1	雌	4.8	2	1141	6950
	10	雄	7.2	4	1236	13863
	10	雌	4.4	1	1393	7882
25／ビタミンE非含有	1	雄	11.3	2	2280	21636
	1	雌	5.5	2	2255	17918
	10	雄	10.2	2	2872	30883
	10	雌	5.8	1	2029	15873
25／標準	1	雄	6.7	2	2036	23924
	1	雌	4.5	1	1169	10209
	10	雄	7.3	4	2375	31710
	10	雌	4.6	2	1672	10821

薬物動態パラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出

ビタミンE非含有= Tween 40/MCT油/95%エタノール（[redacted]，w/w/w），標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）

＜資料番号4.2.2.2-06，Appendex F Table4.3.2-1より作成＞

表 2.6.4.3.2.1-3　ビタミンE非含有製剤及び標準製剤を用いてボクロスポリンを雌雄ラットに10日間経口投与したときのトラフ濃度（Day 6）

製剤	ビタミンE非含有			標準
用量（mg/kg/日）	2.5	10	25	25
トラフ濃度（雄）（ng/mL）	79.9	456.2	1046	923.4
トラフ濃度（雌）（ng/mL）	10.7	125.2	413.4	138.3

薬物動態パラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出
ビタミンE非含有= Tween 40/MCT油/95%エタノール（[redacted]，w/w/w），標準= ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）
＜資料番号4.2.2.2-06，Appendex F Table4.3.2-2より作成＞

ラットにボクロスポリンを2.5及び25 mg/kg/日の用量で1日（雌雄各6例/群）又は10日間（雌雄各9例/群）経口投与した。血液試料を1日目及び10日目に採取し，全血中のボクロスポリン及び代謝物（IM9，IM4，IM4n，IM1-Diol-1，IM1w，及びIM1c (R)）の濃度を，ボクロスポリンについてはバリデーションしたLC/ESI/MS法，代謝物についてはLC/ESI/MS/MS法により測定した（代謝物については2.6.4.5.2.3参照）。

ボクロスポリンの全身曝露量は用量依存的であったが，用量比例性を上回った。用量を10倍に増加させると，ボクロスポリンの10日目AUCは雄及び雌でそれぞれ39倍及び28倍に増加した。ボクロスポリンのAUC_{24h}は，雄が雌より高かった（表 2.6.4.3.2.1-4，資料番号4.2.2.2-07）。

表 2.6.4.3.2.1-4　ボクロスポリンを雌雄ラットに10日間反復経口投与したときの全血中薬物動態パラメータ

用量（mg/kg/日）	Day	性別	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
2.5	1	雄	6.8	2	84.8	488.6
	1	雌	3.5	2	90.4	334.5
	10	雄	10.7	2	93.3	641.8
	10	雌	4.6	2	71.1	291.4
25	1	雄	7.1	2	2472.6	21704.0
	1	雌	5.4	2	1920.2	10475.5
	10	雄	7.9	2	2596.3	25343.5
	10	雌	4.3	2	1471.8	8253.4

薬物動態パラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出
＜資料番号4.2.2.2-07，Appendex 5 Table4.3-3より作成＞

ラットに10日間反復経口投与したときのmix-ISA247（標準溶媒）とCsA（標準溶媒又は[redacted]）の薬物動態パラメータと比較評価するために実施した。LC/ESI/MS法を用いて試料を分析した。

その結果，mix-ISA247を投与したラットではCsAを投与したラットより全身曝露量が低かった。投与容量は薬物動態パラメータに影響を及ぼさなかった（表 2.6.4.3.2.1-5，資料番号4.2.2.2-08参照）。

表 2.6.4.3.2.1-5　Mix-ISA247及びCsAを雌雄ラットに10日間反復経口投与したときの全血中薬物動態パラメータ

用量（mg/kg/日）／投与容量	性別	t_{max}（h）		C_{max}（ng/mL）		$t_{1/2}$（h）		AUC_{∞}（ng·h/mL）	
		Mix	CsA	Mix	CsA	Mix	CsA	Mix	CsA
2.5／1 mL/kg	雄	4	4	72.51	89.27	4.52	4.33	611.46	872.32
2.5／1 mL/kg	雌	1	4	42.17	57.38	NC	NC	216.47	404.67
5.0／1 mL/kg	雄	4	4	91.58	196.38	8.51	6.43	1074.34	2435.20
5.0／1 mL/kg	雌	1	1	72.76	176.08	2.22	1.99	535.63	1011.57
10／1 mL/kg	雄	1	4	466.55	429.41	8.68	9.11	4959.39	7174.54
10／1 mL/kg	雌	1	1	259.20	267.24	3.19	3.39	1567.66	2253.81
25／1 mL/kg	雄	4	1	885.77	1607.76	9.99	15.10	17986.26	50793.72
25／1 mL/kg	雌	1	1	837.65	1029.56	7.06	8.11	6909.35	16300.45
40／0.4 mL/kg[a]	雄	4	12	1719.83	6593.19	10.45	51.05	23648.46	472706.71
40／0.4 mL/kg[a]	雌	1	4	1369.39	2173.04	7.47	9.06	8714.51	54591.98
40／0.8 mL/kg	雄	1	NA	2120.46	NA	12.20	NA	36684.46	NA
40／0.8 mL/kg	雌	1	NA	1441.08	NA	7.36	NA	9936.11	NA
80／0.8 mL/kg[a]	雄	4	12	2156.41	8785.95	12.40	50.81	34221.22	726291.99
80／0.8 mL/kg[a]	雌	1	12	1385.25	5144.23	8.96	14.80	11870.30	176840.62
80／1.6 mL/kg	雄	4	NA	2430.07	NA	10.88	NA	34183.41	NA
80／1.6 mL/kg	雌	1	NA	1874.47	NA	7.02	NA	15703.66	NA

薬物動態パラメータは各時点5例の平均濃度推移より算出，NA＝CsA群ではこの投与容量を投与しなかった，
NC＝ 算出せず
[a] CsAの投与溶媒は[redacted]
＜資料番号4.2.2.2-08：Appenxex III，Table 4.3-3, Table 4.3-4より作成＞

2.6.4.3.2.2　ウサギ

（概要表2.6.5.4，報告書番号ISA08-26）

雌ウサギ（4例/群）にボクロスポリン又はmix ISA247を20 mg/kg/日の用量で10日間反復経口投与したときの，ボクロスポリン，mix-ISA247，及び代謝物の薬物動態プロファイルを評価した。全血試料中のシス異性体及びトランス異性体並びに選択した代謝物（IM9，IM4，IM4n，IM1-Diol-1，IM1w，及びIM1c (R)）の濃度を，シス異性体及びトランス異性体についてはバリデーションしたLC/APCI/MS法，代謝物についてはバリデーションしたLC/ESI/MS/MS法により測定した（代謝物については2.6.4.5.2.4参照）。

Mix-ISA247又はボクロスポリンを20 mg/kg/日の用量で10日間反復経口投与したとき，投与されたウサギ全例にトランス異性体及びシス異性体の全身曝露が認められた。トランス異性体の曝露量は，mix-ISA247（トランス型45%～50%，シス型50%～55%）を投与したウサギではAUC_{24h}の68%，ボクロスポリン（トランス型90%以上）を投与したウサギではAUC_{24h}の96%を占めたことから，トランス異性体はシス異性体より高いバイオアベイラビリティを有することが示された。ボクロスポリンの$t_{1/2}$は，消失相に十分な測定時点がないため算出できなかった（表 2.6.4.3.2.2-1，資料番号4.2.2.2-09参照）。

表 2.6.4.3.2.2-1　雌ウサギにボクロスポリンまたはmix-ISA247（20 mg/kg/日）を経口投与したときの薬物動態パラメータ

被験物質	Day	異性体	t_{max}（h）	C_{max}（ng/mL）	AUC_{24h}（ng·h/mL）	総AUC_{24h}（ng·h/mL）	総AUCの異性体率（%）
Mix-ISA247	1	シス型	1	39.0	215.5	570.7	38
		トランス型	1	53.3	355.2		62
	10	シス型	4	25.6	264.9	837.5	32
		トランス型	4	55.4	572.6		68
ボクロスポリン	1	シス型	4	4.6	34.5	757.0	5
		トランス型	4	81.4	722.5		95
	10	シス型	4	4.4	36.3	938.2	4
		トランス型	4	90.2	901.9		96

薬物動態パラメータは各時点4例の平均濃度推移より算出

＜資料番号4.2.2.2.09：Appendix 5 Table 4.3.1-1より作成＞

2.6.4.3.2.3　サル

（概要表2.6.5.4，報告書番号ISA08-13）

サル8例（雌雄各2例/群）にボクロスポリンを40又は150 mg/kg/日の用量で10日間経口投与した。血液試料を1日目及び10日目に採取し，全血試料中のボクロスポリン及び代謝物（IM9，IM4，IM4n，IM1-Diol-1，IM1w，及びIM1c (R)）の濃度を，ボクロスポリンについてはバリデーションしたO/SPE/LC/ESI/MS/MS法，代謝物についてはバリデーションしたLC/ESI/MS/MS法により分析した（代謝物については2.6.4.5.2.5参照）。

サルにボクロスポリンを40及び150 mg/kg/日で経口投与したとき，ボクロスポリンの全身曝露量は用量依存的であった。ボクロスポリンは，雌雄ともに，10日目より1日目で高い曝露量を示した。ボクロスポリンのAUC_{24h}は，雌が雄より高かった（表 2.6.4.3.2.3-1，資料番号4.2.2.2-10参照）。

表 2.6.4.3.2.3-1　ボクロスポリンを雌雄サルに10日間反復経口投与したときの全血中薬物動態パラメータ

用量（mg/kg/日）	Day	性別	$t_{1/2}$（h）	t_{max}（h）	C_{max}（ng/mL）	AUC_{24h}（ng·h/mL）
40	1	雄	7.8	4.0	127.4	1726.0
	1	雌	5.9	4.0	97.5	1266.3
	10	雄	8.4	3.5	97.5	1017.6
	10	雌	6.2	5.5	105.6	1225.4
150	1	雄	5.8	2.5	561.9	4736.1
	1	雌	13.5	5.5	653.7	9657.0
	10	雄	6.9	2.5	334.0	2445.3
	10	雌	5.4	3.0	528.3	4464.4

平均値（n = 2）

＜資料番号4.2.2.2-10：Appendex 5 Table 4.3-1より作成＞

2.6.4.4　分布

2.6.4.4.1　単回投与後の放射能の組織内分布

2.6.4.4.1.1　[^{14}C]-ボクロスポリンを雌雄ラットに単回経口投与したときの分布

（概要表2.6.5.5，報告書番号ISA05-18）

ラットに[^{14}C]-ボクロスポリン（5 mg/kg）を単回経口投与したときの分布試験を実施した。ラット（アルビノ，雌雄各14例）を用いて，組織における薬物由来放射能の濃度時間プロファイルをQWBA法で検討した。Lister Hooded（有色）ラット（雄9例）の眼，腎臓，肝臓，及び皮膚（有色及び非有色）を対象に，組織分布をLSCで検討した。

吸収された薬物由来放射能は，測定した主要な臓器及び組織すべてに急速に分布した。C_{max}は，雄では投与後12時間以内，雌では投与後8時間以内にすべての組織で認められた。薬物由来放射能の組織中濃度は，雌より雄で高かった。組織中の放射能は雄より雌で速く減少した。薬物由来放射能は，消化管，肝臓，及び腎臓で高濃度であった。膵臓，甲状腺，脾臓，副腎，及び腸間膜リンパ節の濃度は，雌雄ともに比較的高かった。脳及び脊髄は雌雄ともに低かった。生殖器官の濃度は，雄より雌で高かった。

有色ラットとアルビノラットの同一時点の採取組織における薬物由来放射能の濃度は，同程度であったことから，メラニンとほとんど結合しないことが示唆された。（資料番号4.2.2.2-02参照）。

2.6.4.4.1.2　[^{3}H]-mix-ISA247を雌雄ラットに単回経口投与したときの分布

（概要表2.6.5.5，報告書番号ISA00-25）

雌雄ラット（時点ごとに雌雄各3例）に[^{3}H]-mix-ISA247（25 mg/kg）を単回経口投与したときの組織分布を定量的に確認した。全血及び組織における薬物由来放射能の濃度時間プロファイルは，LSCを用いて検討した。

各組織のt_{max}は，雌雄で概ね同じであり，主に投与後4又は8時間であった。組織中放射能の$t_{1/2}$は，消化管の約10時間を始め，大部分の組織での約10～20時間であった。

薬物由来放射能は，消化管で最も高く，脳及び脊髄で最も低かった。投与 72 時間後では，すべての試料を合わせても投与した放射能の 1%以下であり，吸収された[^{3}H]-mix-ISA247 由来の放射能はほとんど組織から消失していることが示唆された（資料番号4.2.2.2-03参照）。

2.6.4.4.1.3　[^{14}C]-ボクロスポリンを雌雄サルに単回経口投与したときの分布

（概要表2.6.5.5，報告書番号ISA08-01）

サル（雌雄各2例）を用いて，[^{14}C]-ボクロスポリンを40 mg/kg（260 μCi/kg）の用量で単回経口投与したときの分布試験を実施した。定量的組織分布は，投与後2時間（雄1例，雌1例），24時間（雄1例），及び168時間（雌1例）で，LSCで検討した。

[^{14}C]-ボクロスポリンを経口投与したところ，放射能は急速に，測定した組織すべてに分布した。投与後2時間に，薬物由来放射能の濃度は，雄よりも雌の組織においてわずかに高かった。雄では，薬物由来放射能の最高濃度は，投与後24時間で最高濃度が計測された胆汁（胆嚢内容

物），涙腺，及び胸腺を除き，基本的にすべての組織で投与後2時間に検出された。雌では，投与後168時間で最高濃度が計測された乳腺並びに色素性及び非色素性皮膚を除き，投与後2時間に他のすべての組織で放射能の最高濃度が検出された。

薬物由来放射能は，消化管，胆汁（胆嚢内容物），肝臓，大動脈（雌のみ），リンパ節（腸間膜），及び腎臓で高濃度であった。次いで，肺，脾臓，膵臓，下垂体，唾液腺，及び副腎であった。薬物由来放射能濃度は，投与後168時間でも雌動物の全血を含むすべての組織で測定可能であった。この結果は，[^{14}C]-ボクロスポリンの半減期が長く，排泄が持続性であることと合致する。薬物由来放射能濃度は中枢神経系の組織で低かったことから，ボクロスポリン及び代謝物は血液脳関門を通過しにくいことが示唆された（資料番号4.2.2.2-04参照）。

2.6.4.4.2　　ボクロスポリンのヒト血球移行

（概要表2.6.5.5，報告書番号ISA09-26）

臨床試験で採取される試料中のボクロスポリン濃度の測定に最も適したマトリクス（全血又は血漿）を特定するために，新鮮ヒト全血試料にボクロスポリンを臨床試験で観察された濃度範囲を含むように3濃度（最終濃度：10，300，及び600 ng/mL）で添加し，4°C又は22°Cで4時間平衡化した。平衡化後，全血試料は直ちに，又は37°Cで30分間あるいは60分間インキュベーションして赤血球と血漿を遠心分離して測定した。

全血及び血漿試料中のボクロスポリン濃度を測定した結果，赤血球への分布が認められた。血漿中のボクロスポリン濃度は温度に依存性が認められた。全血がボクロスポリンを測定するのに適したマトリクスであることが確認された（表 2.6.4.4.2-1，資料番号4.2.2.3-01参照）。

表 2.6.4.4.2-1　　ヒト全血及び血漿におけるボクロスポリンの分布

血中ボクロスポリンの最終添加濃度（ng/mL）	37°Cでのインキュベーション時間（分）	4°C平衡化（4時間）			22°C平衡化（4時間）		
		全血（ng/mL）	血漿（ng/mL）	全血/血漿比	全血（ng/mL）	血漿（ng/mL）	全血/血漿比
10	0	8.4	9.8	0.9	9.1	1.4	6.3
	30	4.9	5.5	0.9	8.7	4.7	1.9
	60	7.2	5.4	1.3	9.7	4.8	2.0
300	0	223.3	210.4	1.1	279.1	45.3	6.2
	30	150.1	168.0	0.9	233.9	149.5	1.6
	60	242.4	170.4	1.4	275.2	157.4	1.7
600	0	500.0	368.6	1.4	547.1	107.9	5.1
	30	439.5	377.0	1.2	514.7	323.3	1.6
	60	507.5	359.6	1.4	493.4	333.1	1.5

＜資料番号4.2.2.3-01：Table5.3-1より作成＞

2.6.4.4.3　　タンパク結合

2.6.4.4.3.1　マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サル，及びヒトにおける[^{14}C]-ボクロスポリンの*in vitro*血漿タンパク結合

（概要表2.6.5.6，報告書番号ISA08-29）

マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サル，及びヒトの血漿タンパクへの[^{14}C]-ボクロスポリンの結合能を検討した。血漿試料（雌雄混合，n > 3 per sex）を用いて，37°C，6時間の平衡透析により，血漿タンパク結合率を決定した。透析は，以下の最終濃度で3回行った：ラット及びイヌ（50，75，500，及び2000 ng/mL），マウス及びサル（50，75，500，及び1000 ng/mL），ウサギ（20，50，75，100，及び200 ng/mL），及びヒト（50，75，300，及び800 ng/mL）。評価濃度は*in vivo*試験で観察された濃度を基に設定した。

[^{14}C]-ボクロスポリンは，すべての動物種間で同程度の血漿タンパク結合率を示した。血漿タンパク結合率は濃度に依存しなかった。平均結合率はそれぞれ，マウスで98.31%，ラットで98.34%，ウサギで97.35%，イヌで97.77%，サルで97.60%，ヒトで96.97%だった（資料番号4.2.2.3-02参照）。

2.6.4.4.3.2　ラット，イヌ，サル，ヒト血漿，及びヒト血漿サブフラクションにおけるIM9の*in vitro*タンパク結合

（概要表2.6.5.6，報告書番号AUR-VCS-20[redacted]-02）

ラット，イヌ，サル，及びヒト血漿におけるボクロスポリン代謝物IM9の血漿タンパク結合率，並びにヒトAAG及びHSAへのIM9の結合を確認した。IM9の血漿タンパク結合は，0.1，1，及び10 µmol/Lの濃度で，HTDialysis装置を用いて実施した。インキュベーションは37°Cで2時間行い，濃度測定にはLC/MS/MSを使用した。

IM9の血漿タンパク結合率は，ラット，イヌ，サル，及びヒトで55.4%～81.2%であった。IM9

はヒトAAGとHSAの両方に結合し，HSA（23.7%～34.4%）よりヒトAAG（50.7%～64.3%）への結合が高かった（資料番号4.2.2.3-03参照）。

2.6.4.4.4　胎盤通過性

（概要表2.6.5.7，報告書番号CRL420696）

ラットを用いて[^{14}C]-ボクロスポリンの胎盤通過試験を実施した。妊娠ラット15例に対し妊娠19日に[^{14}C]-ボクロスポリン（2.5 mg/kg）を単回経口投与した。妊娠ラット1例は，投与を行わずコントロールとした。薬物由来放射能の濃度は，母動物の血液，血漿，及び組織，並びに胎児の血液及び組織をLSCにより測定した。全血，血漿，及び組織中の総放射能濃度推移のノンコンパートメント解析を行った。

子宮及び胎盤で放射能は検出されたが，羊水では投与後のいずれの時点でも認められなかった。胎児血中では認められなかったものの，胎児の組織及び屍体で低レベルの放射能が認められた。これは，一部の薬物由来放射能が胎盤を通過したことを示す。胎児組織については，母動物の血液に対する胎児組織中濃度の比から，薬物由来放射能の胎児組織への取込みは遅いが，これらの組織からの消失は母動物の血液からの消失より遅いことが示唆された。胎児組織のt_{max}（8時間）は母動物の組織より遅かったことから，母動物から胎児への放射性標識物質の分布の経時変化が示唆された。AUC_tにより評価した放射能の曝露量は，胎児肝臓でのみ算出可能であり，得られた値は母動物の血漿及び母動物の血液について算出した値よりはるかに低かった。したがって，これらの動物における胎盤を介した薬物由来放射能の移行は緩慢で限定的であった。母動物に投与した量のうち胎児組織に認められた割合は，投与8時間後（t_{max}）に0.019%であった（資料番号4.2.2.3-04参照）。

2.6.4.5　代謝

ボクロスポリンを構成する環状ペプチドを区別するため番号を付与した。CsAを修飾した部位（共役ジエン構造）を含むアミノ酸残基を1として，時計回りにアミノ酸残基に番号を付けた（図 2.6.4.5-1）。代謝物のIMに続く数字は，ボクロスポリンを構成するアミノ酸に付けた番号を指す。

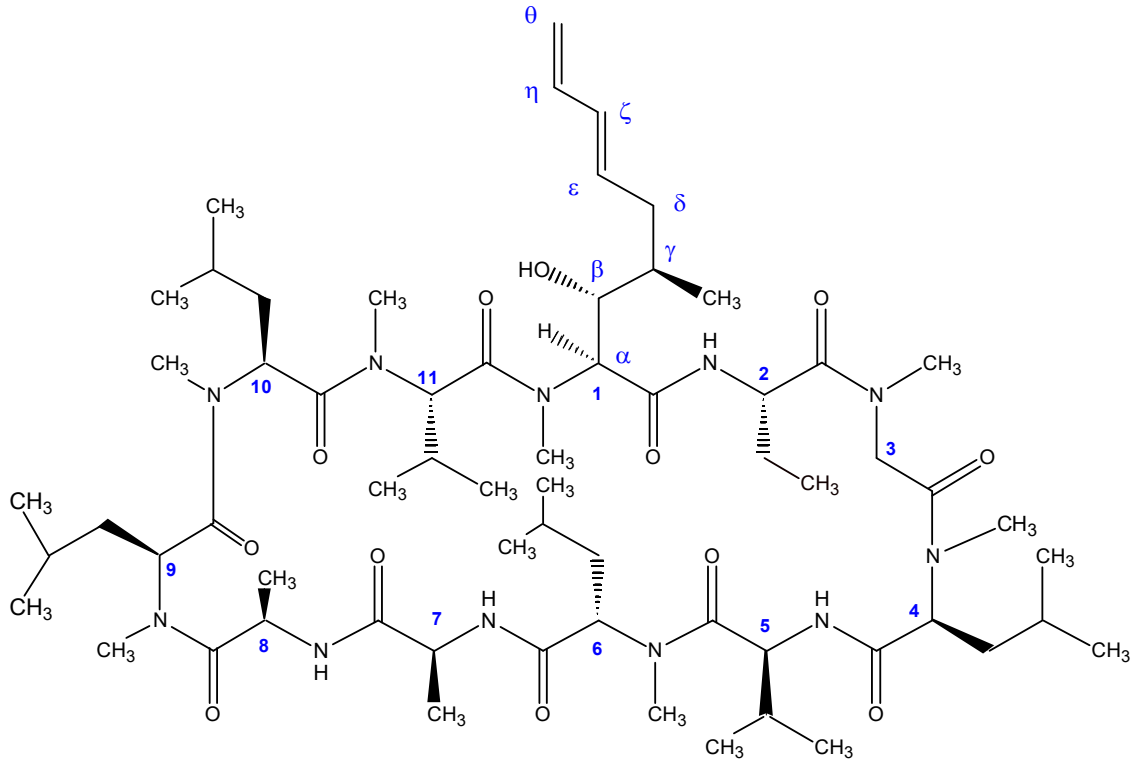


図 2.6.4.5-1　　ボクロスポリンの構造及び構成する各アミノ酸に付与した番号

2.6.4.5.1　*In vitro*代謝

2.6.4.5.1.1　ヒト及び動物肝ミクロソームを用いたボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247の代謝

（概要表2.6.5.9，報告書番号ISA09-25，ISA09-12，ISA09-23，ISA09-24，ISA09-22，ISA08-34）

ボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247（濃度はいずれも9.9 µmol/L）をヒトの肝ミクロソーム（蛋白濃度：0.4 mg/mL）と20分間インキュベーションして代謝を検討した。

結果として，ボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247からは主に2種類の酸化代謝物IM4n及びIM9に代謝され，それらは他の定量可能代謝物の2倍以上の濃度で生成した。残りの代謝物として，IM1-Diol-1，IM1c (R)，IM1c (S)，IM4，IM1-Diol-3，及びIM1-Diol-2が認められた。これらの代謝物は，マウス，ラット，ウサギ，イヌ，及びサルの肝ミクロソームによる*in vitro*代謝においても認められた（資料番号4.2.2.4-01，4.2.2.4-02，4.2.2.4-03，4.2.2.4-04，4.2.2.4-05，4.2.2.4-06参照）。

2.6.4.5.1.2　ヒト肝ミクロソーム及びヒト肝細胞を用いたトランス型ISA247，mix-ISA247，及びシス型ISA247の代謝

（概要表2.6.5.9，試験番号ISA03-06）

トランス型ISA247，mix-ISA247，及びシス型ISA24（濃度：1000～12000 ng/mL）をヒト肝ミクロソームと20分間インキュベーションして，LC/ESI/MSを用いて反応試料中の代謝物を測定した。

Mix-ISA247は，ヒト肝ミクロソームとの反応により，9種類の酸化代謝物に代謝された。ミクロソーム及びヒト肝細胞をmix-ISA247とインキュベーションすると，シス異性体又はトランス異性体のそれぞれを代謝させた際に認められた代謝物のすべてが認められた。トランス型ISA247及びシス型ISA247の代謝はIM1残基において異なった。具体的には，トランス型ISA247の代謝物としてIM1-Diol-1のみが認められたのに対し，シス型ISA247の代謝物としてはIM1-Diol-2及びIM1-Diol-3が認められた。一方，mix-ISA247では，3種類のIM1残基の代謝物IM1-Diol-1，IM1-Diol-2，及びIM1-Diol-3が認められた（資料番号4.2.2.4-07参照）。

2.6.4.5.1.3　ヒト肝ミクロソームを用いたmix-ISA247のCYP代謝酵素の同定

（概要表2.6.5.9，報告書番号ISA01-06）

Mix-ISA247（1000 ng/mL），16個体のヒト肝ミクロソーム（0.2 mg protein/mL），NADPH産生系を混合し，37°Cで15分インキュベーションした後，LC/MSを用いて代謝物を測定した。また。代謝酵素特異的阻害剤を添加したときの代謝物濃度を測定した。

相関分析により，CYP3A4/5の活性とmix-ISA247の代謝との間で高度に有意な相関関係が認められた。次に強い相関はCYP2B6，CYP2C8で認められた。Mix-ISA247の代謝とCYP2C19及びCYP2D6の活性との間に相関は認められなかった。CYP3A4阻害薬であるケトコナゾールを0.5 µmol/L添加したとき，代謝物濃度が平均85%減少したことから，mix-ISA247の代謝にCYP3A4/5が関与することがこれらの結果からも裏付けられた（資料番号4.2.2.4-08）。

2.6.4.5.1.4　グルタチオントラッピング試験

（概要表2.6.5.9，報告書番号ISA08-21）

ボクロスポリン（9.9 µmol/L）をNADPHの存在下及び非存在下，並びに還元型GSHの存在下及び非存在下でヒト肝ミクロソーム（ヒトミクロソームタンパク濃度0.8 mg/mL）と30又は120分間インキュベーションしたときに，GSH付加体を形成する可能性を検討した。

ボクロスポリン，NADPH，ヒト肝ミクロソーム，及び還元型GSHの存在下又は非存在下でインキュベーションしたとき，IM4n，IM9，IM4，及びIM1-Diol-1を産生した。ボクロスポリン又はNADPHが非存在下でインキュベーションしたときに，これらのピークが現れなかったことから，これらの代謝物は被験物質に関連しており，その生成にNADPH産生系が必要であることが示された。ヒト肝ミクロソームは，GSHの有無にかかわらず同様の相対的レベルでボクロスポリンの代謝物を生成した。LC/MS/MS分析により，GSH付加物は認められなかった（資料番号4.2.2.4.09）。

2.6.4.5.2 *In vivo*代謝

2.6.4.5.2.1 mix-ISA247をラット，イヌ，サル，及びヒトに反復経口投与したときの代謝プロファイル

（概要表2.6.5.10，報告書番号ISA01-19）

ラット，イヌ，サル，及びヒトの全血を用いて，反復経口投与後のmix-ISA247の主要代謝物を評価した。検討したすべての動物種で，認められた主要なmix-ISA247代謝物はIM9であった。ヒトで認められた一連の代謝物は，動物種にも存在しており，ヒト特異的な第1相代謝物は認められなかった。サルで得られた代謝プロファイルはヒトの代謝プロファイルと類似していた（資料番号4.2.2.4-10参照）。

2.6.4.5.2.2 ボクロスポリンをマウスに反復経口投与したときの代謝プロファイル

（概要表2.6.5.10，報告書番号ISA05-09）

CD-1マウス（雄20例，雌4例）及びCByB6F1マウス（雄20例，雌4例）にボクロスポリン（25 mg/kg/日）を5日間経口投与したときのボクロスポリンの代謝プロファイルを検討した。ボクロスポリン及び代謝物の血中濃度は，LC/ESI/MS/MSにより測定した。

いずれの系統のマウスでもボクロスポリンは同様に代謝され，主要代謝物はIM9であった。代謝プロファイルは雌雄間で同様であった。CD-1マウスにおける未変化体及び代謝物のAUCは，CByB6F1マウスより高かった。CD-1マウスにおけるボクロスポリン及びIM9のAUC_{24h}はそれぞれ3529及び2494 ng·h/mLであり，CByB6F1マウスにおけるボクロスポリン及びIM9のAUC_{24h}はそれぞれ2083及び900.1 ng·h/mLであった。両系統のマウスにおいて，検出された他の代謝物は，IM4n，IM4，IM1w，IM1-Diol-1，IMXn，IMXnX，及びIMXであった（図 2.6.4.5.2.2-1及び図 2.6.4.5.2.2-2，資料番号4.2.2.4-11参照）。

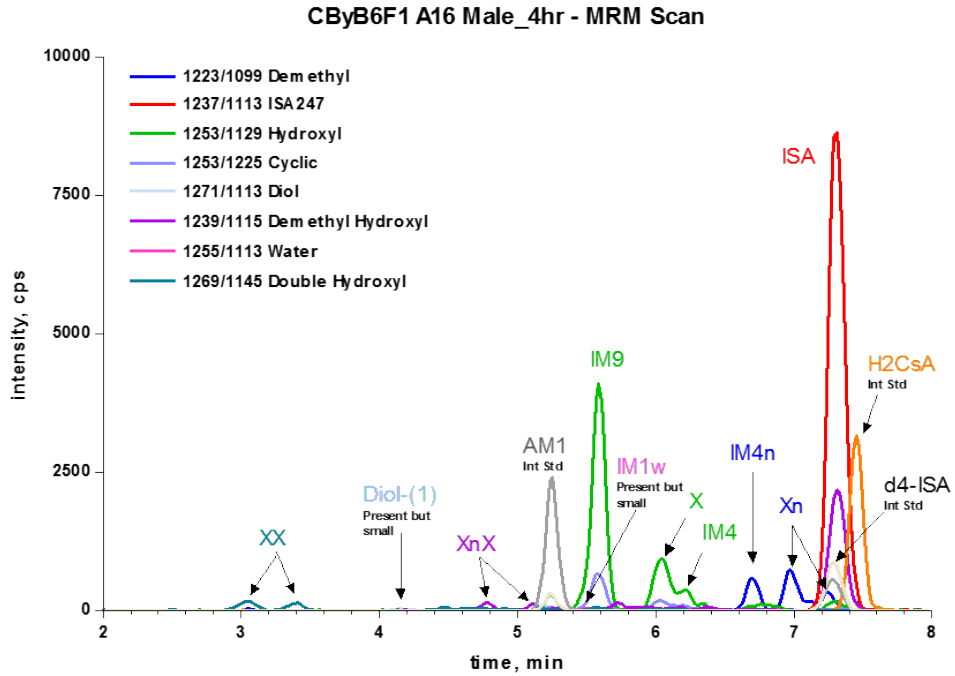


図 2.6.4.5.2.2-1　　CByB6F1マウスに25 mg/kg/日で反復経口投与した5日目の投与4時間後の全血におけるボクロスポリンの代謝プロファイル

注：XX＝ 未同定の二水酸化代謝物，Xn＝ 未同定の脱メチル代謝物，X＝ 未同定の一水酸化代謝物

＜資料番号4.2.2.4-11：Figure 4.2-2＞

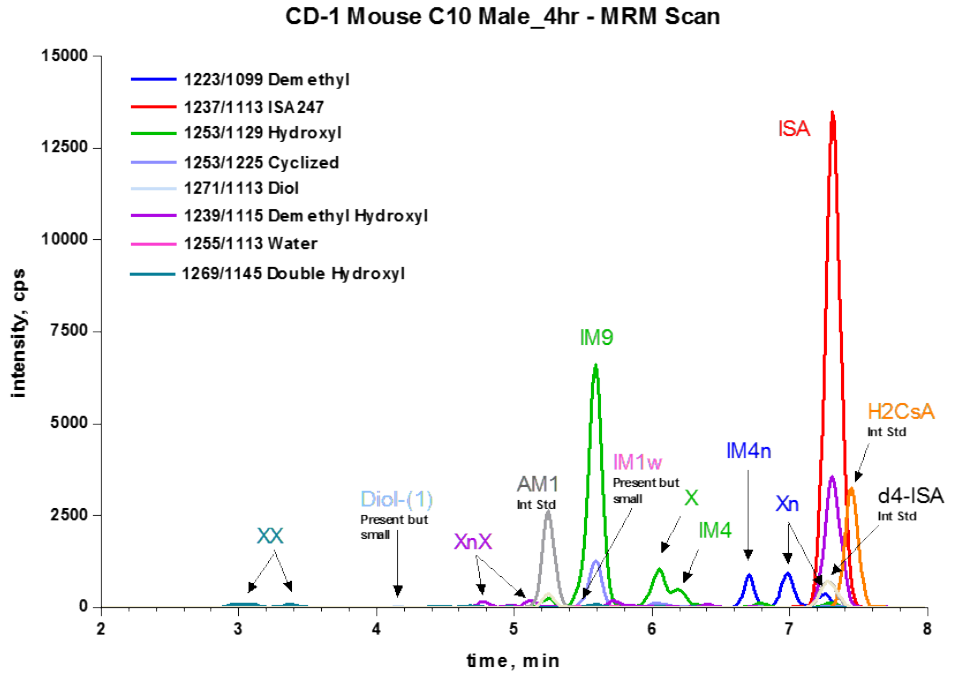


図 2.6.4.5.2.2-2　　CD-1マウスに25 mg/kg/日で反復経口投与した5日目の投与4時間後の全血におけるボクロスポリンの代謝プロファイル

＜資料番号4.2.2.4-11：Figure 4.2-3＞

2.6.4.5.2.3　ボクロスポリンをラットに単回及び10日間反復経口投与したときの代謝プロファイル

（概要表2.6.5.10，報告書番号ISA08-14）

ラットを用いて，ボクロスポリンを2.5及び25 mg/kg/日の用量で単回経口投与（雌雄各6例/群）又は10日間1日1回投与（雌雄各9例/群）したときのボクロスポリンの代謝物プロファイルを検討した。血液試料は1日目及び10日目に採取した。全血試料中のボクロスポリン及び選択した代謝物（IM9，IM4，IM4n，IM1-Diol-1，IM1w，及びIM1c (R)）の濃度を測定した。

ラットにボクロスポリンを2.5及び25 mg/kg/日で経口投与したとき，ボクロスポリン及び代謝物の全身曝露量は用量依存的であった。AUC_{24h}のデータに基づくと，ボクロスポリンの曝露量が測定したボクロスポリン代謝物の曝露量より高かった。25 mg/kg/日投与時の代謝物のAUC_{24h}は，1日目及び10日目においてIM9が最も高く，次いでIM4 > IM4n > IM1-Diol-1 ≈ IM1w > IM1c (R)であった。代謝物のAUC_{24h}の比較から，雌は未変化体に対する代謝物の割合が雄より高かった（資料番号4.2.2.2-07参照）。

2.6.4.5.2.4　ボクロスポリン又はmix-ISA247をウサギに単回及び10日間反復経口投与したときの代謝プロファイル

（概要表2.6.5.10，報告書番号ISA08-26）

雌ウサギ（4例/群）にボクロスポリン又はmix-ISA247を20 mg/kg/日で10日間経口投与したときの，ボクロスポリン，mix-ISA247及び代謝物の薬物動態プロファイルを評価した。1日目及び10日目に血液試料試料を採取した。全血試料中のシス異性体及びトランス異性体並びに選択した代謝物（IM9，IM4，IM4n，IM1-Diol-1，IM1w，及びIM1c (R)）の濃度を測定した。

Mix-ISA247及びボクロスポリンのいずれの投与でも，トランス異性体の曝露量が測定した代謝物の曝露量より高かった。代謝物のAUC_{24h}は，Mix-ISA247を投与したウサギでは，1日目にIM9 > IM1-Diol-1 > IM4，10日目ではIM9 > IM1-Diol-1 > IM1c (R)の順であった。ボクロスポリンを投与したウサギでは，1日目に IM9 > IM1-Diol-1 > IM4 > IM1w > IM1c (R)> IM4n，10日目ではIM9 > IM1-Diol-1 > IM1c (R)> IM1w > IM4nであった。投与期間を通じてIM9の曝露量が最も高かった（資料番号4.2.2.2-09参照）。

2.6.4.5.2.5　ボクロスポリンをサルに単回及び10日間反復経口投与したときの代謝プロファイル

（概要表2.6.5.10，報告書番号ISA08-13）

サルを用いて，ボクロスポリンを150 mg/kg/日の用量（雌雄各2例/群）で経口投与したときのボクロスポリンの薬物動態及び代謝物プロファイルを検討した。1日目及び10日目に全血試料を採取した。全血試料中のボクロスポリン及び選択した代謝物（IM9，IM4，IM4n，IM1-Diol-1，IM1w，及びIM1c (R)）の濃度を測定した。

サルにボクロスポリン40又は150 mg/kg/日を経口投与したとき，ボクロスポリン及びボクロスポリン代謝物の全身曝露量は用量依存的であった。AUC_{24h}のデータに基づくと，ボクロスポリンの曝露量が主要な代謝物の曝露量より高かった。1日目の代謝物曝露量（AUC_{24h}）は，いずれの

用量でも，IM9で最も高く，次いでIM1-Diol-1 > IM4n > IM1w > IM4 > IM1c (R)であった。10日目におけるAUC_{24h}はIM9及びIM1-Diol-1が最も高く，これらは同程度の曝露量を示した。次いで，両用量ともにIM1w > IM4n ≈ IM4 > IM1c (R)であった（資料番号4.2.2.2-10参照）。

2.6.4.5.2.6 [^{14}C]-ボクロスポリンを雌雄ラットに単回経口投与したときの代謝プロファイル

（概要表2.6.5.10，報告書番号ISA05-18）

ADME試験の一環として，ラットに[^{14}C]-ボクロスポリン（5 mg/kg）を単回経口投与してボクロスポリンの代謝プロファイルを検討した。

尿及び胆汁試料のラジオクロマトグラフィーで最大13種類の薬物由来放射性物質が確認されたことから，ラットにおいて吸収されたボクロスポリンは排泄前に多くの*in vivo*生体内変換を受けることが示唆された。未変化体（[^{14}C]-ボクロスポリン）は全血中に継続して認められ，投与後24時間にわたり総放射能の50%超を占めた。血中では主要成分であるIM9（試料中放射能の最大27.4%），IM4n及び1つの未同定代謝物（いずれも試料中放射能の10%未満）が認められた。胆汁では未変化体はわずかであり，IM9（及びその異性体）に加えて，IM4nの水酸化代謝物が検出された。ボクロスポリンのジヒドロキシ化代謝物及びIM4nの異性体も検出された。尿中でも未変化体はわずかであり，IM9が同定された一方，質量分析により抱合体は検出されなかった（資料番号4.2.2.2.02参照）。

2.6.4.5.2.7 [^{14}C]-ボクロスポリンをサルに単回経口投与したときの代謝プロファイル

（概要表2.6.5.10，報告書番号ISA08-01）

サル（雌雄各2例）に[^{14}C]-ボクロスポリン 40 mg/kgを単回経口投与したときの，全血中の総放射能及び未変化体（ボクロスポリン）濃度を測定した。本試験のデータから，投与後1時間における全血中未変化体の平均濃度は，薬物由来の^{14}C-放射能で示される，総放射能の約38%を占めることが示された。このことから，投与後1時間の循環血中放射能の約2/3は代謝物と関連していることが示された。AUC_{24h}に基づくと，ボクロスポリンは全血中の総放射能の約30%～40%を占めた。

雄及び雌サルの2～24時間の全血試料において，未変化体ボクロスポリンは循環血中の主要な放射性成分であり，薬物由来総放射能の，雄サルでは32%，雌サルでは25%を占めた。サル血中から11種類の代謝物，M1（IM1-Diol-1），M2（IM4n9），M3（IM1w），M4（IM9），M5a（IM4），M5b，M6（IM4n），M7（IM4n9n），M11，M15a，及びM18（IM1a）が認められた（図 2.6.4.5.2.7-1）。また，M1～M7，M11～M13，M15a，M16，及びM18が胆汁，尿，又は糞中に認められた。未変化体ボクロスポリンが糞中に多量に存在したこと（雄及び雌でそれぞれ投与量の61.7%及び59.1%）は，吸収されなかった物質を反映している可能性が高いと考えられた。サルにおけるボクロスポリンの代謝経路には，IM1残基の末端二重結合のエポキシ化，加水分解によるジヒドロジオール体の生成，及びIM1残基以外のアミノ酸に関連する代謝物の生成が含まれる。さらに，その他の1つ以上のアミノ酸残基の水酸化，酸化的*N*-脱メチル化，及びそれらの組み合わせにより生成した代謝物も認められた（資料番号4.2.2.2-04参照）。

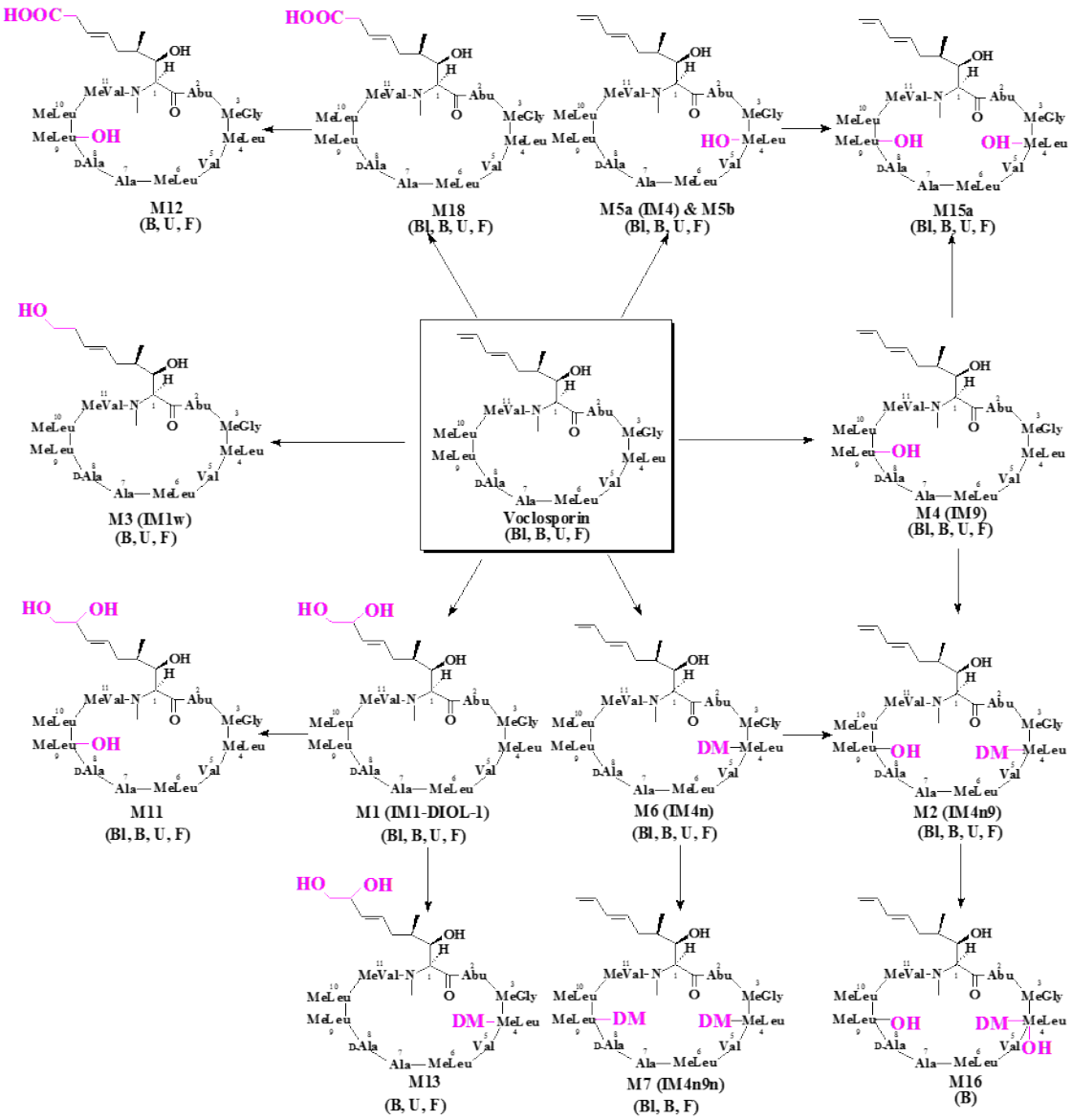


図 2.6.4.5.2.7-1　　サルにおけるボクロスポリンの推定主要代謝経路

注：Bl＝ 血液，B＝ 胆汁，U＝ 尿，F＝ 糞，DM＝ 脱メチル。ボクロスポリン及び代謝物の構造は以下の省略形で表す（アミノ酸残基2～11の略名を示す）：Abu＝L-2-アミノブタン酸，MeGly＝N-メチル-グリシン，MeLeu＝N-メチル-L-ロイシン，Val＝L-バリン，Ala＝L-アラニン，D-Ala＝D-アラニン，MeVal＝N-メチル-L-バリン

＜資料番号4.2.2.2-04：Annex 3 Figure S-1より作成＞

2.6.4.5.3　　推定代謝経路

（概要表2.6.5.11，報告書番号ISA09-10）

ボクロスポリンの推定代謝経路は主に2つの経路がある。第1の経路は，IM1残基以外のアミノ酸残基のCYP酸化であり，定量可能な代謝物IM9，IM4，及びIM4nが生成される（IM9は，9番目のアミノ酸残基における水酸基の付加を指し，IM4は，4番目のアミノ酸残基における水酸基の付加，IM4nは，4番目のアミノ酸残基におけるN-メチル基の脱離を指す，図 2.6.4.5.3-1）。第2の経路は，IM1残基のCYP酸化であり，定量可能な代謝物IM1-Diol-1，IM1c (R)，及びIM1wが生成さ

れる（図 2.6.4.5.3-2）。その他の代謝物（IM1-Diol-2，IM1-Diol-3，IM1c (S)，IM1a，及びIM1w-dk）も*in vivo*で認められているが，量が少なく，定量できない。IM1-Diol-2及びIM1-Diol-3は，シス異性体からのみ生成され，IM1-Diol-1はトランス異性体から選択的に生成される（資料番号4.2.2.4-12参照）。

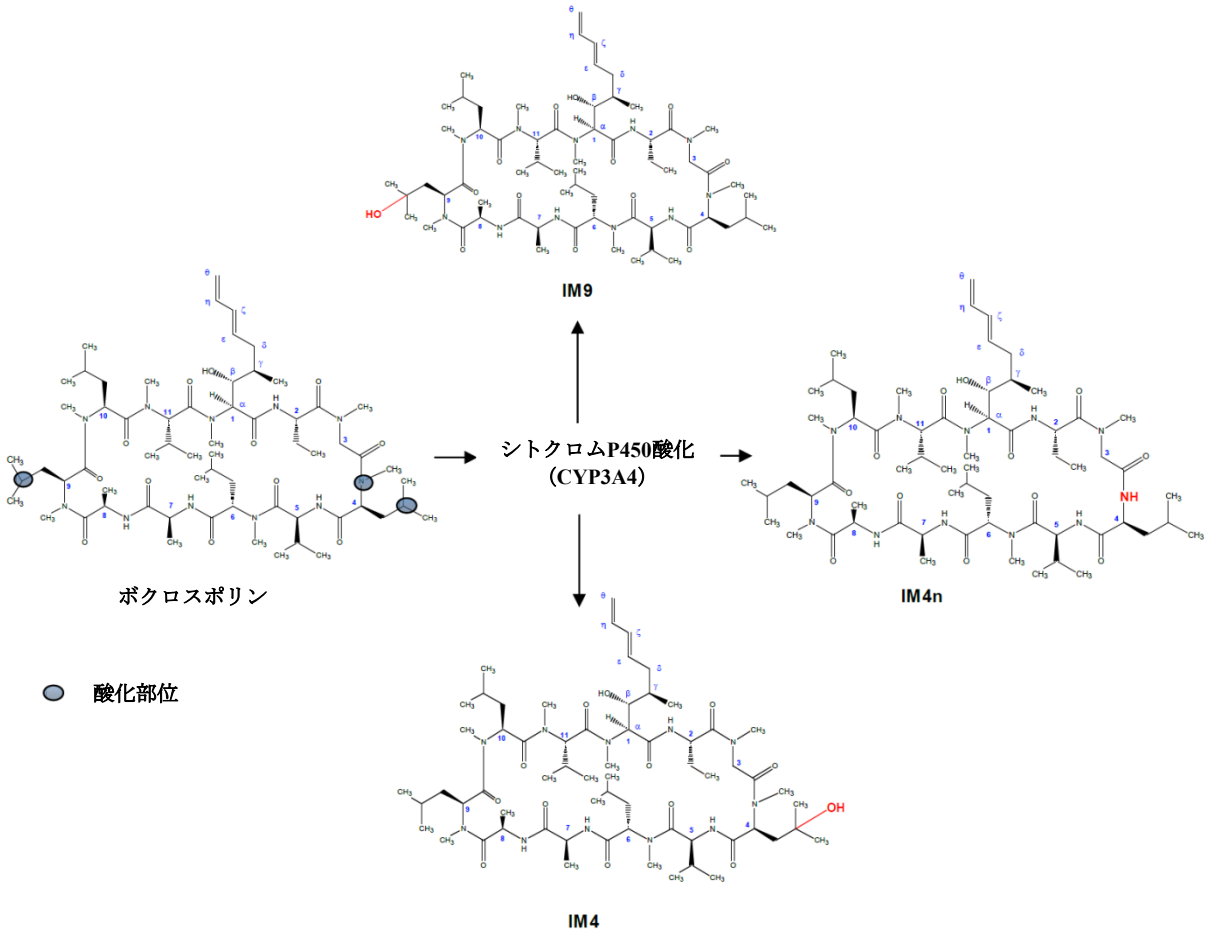


図 2.6.4.5.3-1.　　IM1残基以外の代謝

＜資料番号4.2.2.4-12：Section 2.3.1より作成＞

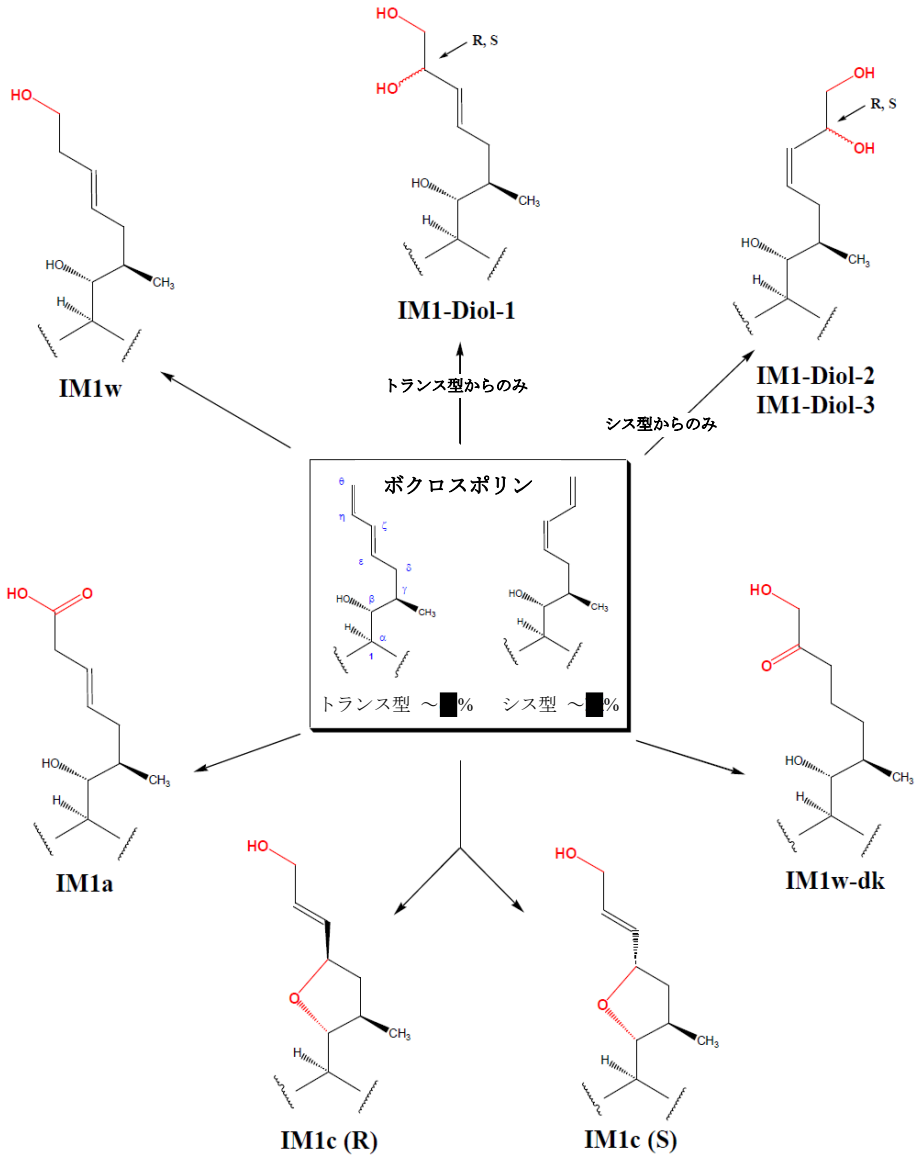


図 2.6.4.5.3-2.　　IM1残基の代謝（IM1残基のみ表示）

注：IM1a＝IM1残基の酸化，IM1c＝IM1残基の環化，IM1-Diol＝IM1残基のエポキシ化後ジオールへの変換，
IM1w＝ 水分子（＋18 amu）のIM1残基への付加，IM1w-dk＝ 水分子が付加しジヒドロケト基へ変換
＜資料番号4.2.2.4-12：Section 2.3.2より作成＞

2.6.4.5.4　　代謝酵素阻害及び代謝酵素誘導

2.6.4.5.4.1　　トランス型ISA247，mix-ISA247，及びシス型ISA247による*in vitro* CYP2C9，CYP2D6，及びCYP3A4阻害評価

（概要表2.6.5.12，報告書番号ISA03-06）

アッセイは，[redacted]社のキットの説明書に従い，96ウェルマイクロタイタープレートを用いて実施した。被験物質をマイクロタイタープレートで連続希釈後にIC_{50}値を算出した。キット付属のCYP450基質から蛍光代謝物への変換を測定し被験物質の阻害能を測定した。

トランス型ISA247，mix-ISA247，及びシス型ISA247はCYP3A4活性を阻害し，CYP2C9及び

CYP2D6の活性を阻害しないことを確認した（資料番号4.2.2.4-07参照）。

2.6.4.5.4.2　ボクロスポリンのin vitro CYP酵素阻害

（概要表2.6.5.12，報告書番号ISA08-20）

ボクロスポリンがヒト肝ミクロソーム中のCYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及びCYP3A4/5を阻害する能力を評価した。IC_{50}値を算出するために用いたボクロスポリン濃度は0～9.9 µmol/L（最大溶解濃度）であった。CYP酵素の既知の直接阻害薬及び代謝依存的阻害薬を陽性対照とした。

ボクロスポリンの存在下又は非存在下でヒト肝ミクロソームとマーカー基質をインキュベーションした時，ボクロスポリンのCYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及びCYP3A4/5（テストステロン6β-水酸化活性により評価）に対するIC_{50}は ＞9.9 µmol/Lであった。9.9 µmol/Lにおける阻害率は，それぞれ4.8%，24%，12%，14%，22%，39%，及び27%であり直接阻害薬ではなかった。一方，ボクロスポリンのCYP3A4/5（ミダゾラム1'-水酸化活性により評価）に対するIC_{50}値は，1.2 µmol/Lであり直接阻害薬であった。ボクロスポリンによる直接阻害の機序はCYP3A4/5に対する競合阻害であり，K_i値は1.1 µmol/Lであった。

ボクロスポリンはCYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及びCYP3A4/5（ミダゾラム1'-水酸化活性による評価）に対する時間依存的阻害薬ではなかった。テストステロン6β-水酸化活性により評価した結果，ボクロスポリンはNADPH産生系の有無にかかわらず，30分間のプレインキュベーション後にマーカー基質とインキュベーションしても阻害率の増加は認められなかったことから，ボクロスポリンはCYP3A4/5の代謝依存的阻害薬ではなかった（資料番号4.2.2.4-13参照）。

2.6.4.5.4.3　IM9のin vitro CYP酵素阻害

（概要表2.6.5.12，報告書番号AUR-VCS-20[redacted]-01）

ヒト肝ミクロソームを用いてボクロスポリンの主要代謝物IM9のCYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及びCYP3A4/5に対する直接的及び時間依存的酵素活性阻害を評価した。CYP酵素の直接阻害は，ヒト肝ミクロソームに酵素特異的マーカー基質とIM9（0.003～3 µmol/L）又は溶媒を加えてインキュベーションし，マーカー基質の代謝産物を測定した。時間依存性阻害は，マーカー基質の添加前にNADPH産生系の存在下でIM9及びヒト肝ミクロソームを30分間プレインキュベーションした。

IM9は最高濃度3 µmol/Lまで，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，及びCYP3A4/5に対して阻害率はいずれも50%未満であり，直接的及び時間依存的な阻害作用を示さなかった（資料番号4.2.2.4-14参照）。

2.6.4.5.4.4　ヒト肝細胞におけるボクロスポリンのCYP酵素活性誘導能

（概要表2.6.5.12，報告書番号ISA08-03）

ヒト肝細胞を用いて，ボクロスポリンがCYP1A2及びCYP3A4の発現に及ぼす影響を検討した。ヒト肝細胞を溶媒（0.1% DMSO），陽性対照（CYP1A2誘導薬オメプラゾール，CYP3A4誘導薬リファンピシン），又はボクロスポリン（0.04，0.4，4 µmol/L）で3日間毎日処理した後，ミ

クロソーム試料を調製し，フェナセチンO-デアルキラーゼ（CYP1A2）及びテストステロン6β-ヒドロキシラーゼ（CYP3A4）の活性を測定した。

ボクロスポリン（4 µmol/L）の存在下，CYP1A2及びCYP3A4の活性はそれぞれ平均25.5%及び65.9%低下した。ボクロスポリンはヒト肝細胞においてCYP1A2及びCYP3A4の酵素活性の誘導剤ではないことが示唆された（資料番号4.2.2.4-15参照）。

2.6.4.5.4.5　ヒト肝細胞におけるボクロスポリンのCYP2B6 mRNA誘導評価

（概要表2.6.5.12，報告書番号XT193071）

ヒト肝細胞（3ドナー由来）を用いて，ボクロスポリンがCYP2B6の発現に及ぼす影響を検討した。CYP2B6誘導能は，mRNA発現量の変動により評価した。ヒト肝細胞を，溶媒（0.1% DMSO），ボクロスポリン（0.01，0.03，0.1，0.3，1，3，及び10 µmol/L），陽性対照（1000 µmol/Lフェノバルビタール），及び陰性対照（25 µmol/L フルマゼニル）で1日1回，3日間処理した。細胞毒性は，乳酸脱水素酵素の放出の測定及びヒト肝細胞の形態に基づく顕微鏡観察により評価した。

ヒト肝細胞を10 µmol/Lまでのボクロスポリンで連続3日間処理したとき，最高濃度（10 µmol/L）で処理した細胞のみで形態の変化が認められたが，乳酸脱水素酵素放出の有意な増加は認められず，明らかな毒性は確認されなかった。

ヒト肝細胞を3 µmol/Lまでのボクロスポリンで処理したとき，CYP2B6 mRNAの発現は誘導されなかった（陽性対照反応の20%未満）。10 µmol/Lのボクロスポリンで処理したとき，CYP2B6 mRNAの発現の増加は，3.25倍（陽性対照の26%），3.10倍（陽性対照の20%未満），及び2倍未満（陽性対照の20%未満）であった。これらの結果から，ボクロスポリンは3 µmol/L（期待される血中治療濃度の10倍超）未満の濃度において*in vitro*でのCYP2B6誘導作用を示さないと考えられる（資料番号4.2.2.4-16）。

2.6.4.5.4.6　ヒト肝細胞におけるボクロスポリンのCYP酵素誘導能評価（mRNA又は酵素活性）

（概要表2.6.5.12，試験番号AUR-VCS-20[redacted]-05）

ボクロスポリンがCYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，及びCYP3A4を誘導する可能性を，3ドナーのヒト肝細胞を使用して評価した。CYP酵素の誘導は，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，及びCYP 3A4のmRNAの発現レベルと，CYP2C19の酵素活性を測定することで評価した。生存率と溶解度アッセイの結果に基づいて，ボクロスポリンのCYP誘導能は最高7 µmol/Lで評価した。

CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，及びCYP3A4に対して0.03，0.1，0.3，1，3，及び7 µmol/Lでのボクロスポリンの誘導能評価を実施した。7 µmol/Lで処理したとき，ヒト肝細胞（3ロット）の生存率は75%未満であり，7 µmol/Lでのヒト肝細胞に対するボクロスポリンのCYP誘導効果は適切に評価されない可能性があった。3 µmol/Lで処理したとき，3ロットのヒト肝細胞でCYP1A2 mRNA発現の増加は0.52～1.68倍であり誘導能を示さなかった。7 µmol/Lの濃度で処理したとき，1ロットで2.27倍，残り2ロットは1.77倍及び1.35倍であった。7 µmol/Lまでのボクロスポリンで処理したとき，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，及びCYP3A4の各mRNA発現誘導倍

率は最大1.42倍で誘導能は認められなかった。3ロットのヒト肝細胞を7 µmol/Lまでのボクロスポリンで処理したとき，CYP2C19酵素活性の誘導は認められなかった（0.08～1.30倍）。

結論として，ボクロスポリンは最高 7 µmol/Lまで，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，及びCYP3A4の誘導能を示さなかった。CYP1A2 の誘導能は3 µmol/Lまで認められなかったが，7 µmol/Lにおいて3ロット中1ロットで2倍以上の誘導を示した（資料番号4.2.2.4-17参照）。

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 尿糞排泄

2.6.4.6.1.1 [^{3}H]-mix-ISA247を雌雄ラットに単回経口投与したときの尿糞排泄

（概要表2.6.5.13，報告書番号ISA00-25）

ラット（雌雄各3例）に[^{3}H]-mix-ISA247 25 mg/kgを単回経口投与したとき，主要な排泄経路は糞中排泄であり，糞中総回収率（平均値）は雄及び雌でそれぞれ97.02%及び88.92%であった。尿中総回収率（平均値）は雄及び雌でそれぞれ4.98%及び6.32%であった。排泄は速やかであり，大部分の薬物由来放射能は48時間までに排泄された。投与後168時間における屍体への残存率は雌雄ともに0.5%未満であった。全試料中の薬物由来放射能の総回収率（平均値）は雄及び雌でそれぞれ約104%及び約101%であった（資料番号4.2.2.2-03参照）。

2.6.4.6.1.2 [^{14}C]-ボクロスポリンをラットに単回経口投与したときの尿糞排泄

（概要表2.6.5.13，報告書番号ISA05-18）

ラットを用いた[^{14}C]-ボクロスポリンの排泄/マスバランスを検討した。雌雄ラット各3例に5 mg/kgを単回経口投与したとき，排泄は速やかであり，大部分の放射能は24時間以内に尿糞に排泄され（投与量の約85%～91%），48時間までにほとんど排泄される（投与量の約94%～98%）と考えられた。投与後168時間の排泄物試料に存在する放射能は雌雄とも投与放射能の0.1%未満であった。主要な排泄経路は糞中排泄であり，累積排泄率（平均値）は糞中で雄及び雌でそれぞれ94.56%及び97.08%，尿中でそれぞれ1.75%及び1.25%であった。屍体への残存率（平均値）は雄及び雌でそれぞれ0.22%及び0.12%，全試料中の薬物由来放射能の総回収率（平均値）は雄及び雌でそれぞれ97.28%及び98.59%であった（資料番号4.2.2.2-02参照）。

2.6.4.6.1.3 [^{14}C]-ボクロスポリンをサルに単回経口投与したときの尿糞排泄

（概要表2.6.5.13，報告書番号ISA08-01）

雌雄サル各2例に[^{14}C]-ボクロスポリンを40 mg/kgの用量で単回経口投与したときの排泄を検討した。雌雄のサルに[^{14}C]-ボクロスポリンを経口投与したとき，投与後168時間までに合計で投与放射能の91.86%（雄）及び94.54%（雌）が排泄された。糞中には，合計で投与量の79.18%（雄）及び76.95%（雌）が排泄され，尿中には投与量の0.76%（雄）及び1.87%（雌）が排泄された。さらに，少量の薬物由来放射能がケージ残渣（雄6.86%，雌8.86%），ケージの洗浄液（雄5.04%，雌6.69%），及びケージ網の洗浄液（雄0.03%，雌0.18%）から回収された。排泄は最初急速であり，尿中及び糞中の総放射能の約95%（雄）及び約97%（雌）が投与後48時間までに排泄された。しかし，雌雄ともに，168時間にも排泄は持続しており，投与後168時間に採取した最終の1

日分の排泄物試料に投与量の0.22%（雄）及び0.59%（雌）が回収された（資料番号4.2.2.2-04参照）。

2.6.4.6.2　乳汁排泄

（概要表2.6.5.13，報告書番号CRL420696）

ラットを用いて[^{14}C]-ボクロスポリンの乳汁中排泄試験を実施した。授乳ラット15例に対し分娩後10日又は11日に[^{14}C]-ボクロスポリン（2.5 mg/kg）を単回投与した。母動物の血液，血漿及び乳汁，並びに出生児の血液及び組織中放射能の濃度はLSCにより測定した。

授乳ラットでは，薬物由来放射能は投与後1時間までに乳汁中に認められ，投与後4時間で最高値に達した（全身循環と同じt_{max}）ことから，薬物由来放射能は経口投与から吸収後に授乳ラットの乳汁に迅速に排泄されることが示された。t_{max}において，乳汁/血液濃度比は約1であったことから，循環血中放射能のかなりの割合が乳汁中に排泄されたことが示唆された。出生児では，胃内容物中の放射能から，乳汁を介して母動物から出生児に薬物由来放射能が移行したことが示された。後半の時点に出生児の屍体で低レベルの薬物由来放射能が認められたことから，胃内容物中の薬物由来放射能が吸収されたことが示された。薬物由来放射能の乳汁排泄は急速であったが，出生児の吸収は緩慢であり限定的であった。雌雄の出生児間で差は認められなかった。母動物に投与した量のうち同腹の出生児全体に移行した割合は，投与後23時間に0.70%と推定され，各出生児の薬物由来放射能の曝露量は，投与量の0.053%と算出された（資料番号4.2.2.3-04参照）。

2.6.4.6.3　胆汁排泄

（概要表2.6.5.14，報告書番号ISA05-18）

雌雄ラット各3例に[^{14}C]-ボクロスポリンを5 mg/kgを単回経口投与した。胆管カニューレを挿入したラットのデータから，吸収された物質の大部分は胆汁から排泄し，尿中排泄量はわずかであった（資料番号4.2.2.2-02参照）。

2.6.4.7　薬物相互作用

2.6.4.7.1　ボクロスポリンのP-gpに対する基質性及び阻害

（概要表2.6.5.15，報告書番号ISA08-02）

Caco-2細胞単層膜を用いて[^{14}C]-ボクロスポリンがP-gpトランスポーターの基質及び阻害剤として相互作用する可能性を検討した。P-gpの基質性を評価するために，[^{14}C]-ボクロスポリン（0.4，1.2，又は4 µmol/L）を細胞単層膜の頂端膜側又は基底膜側のいずれかに添加した。インキュベーションは37°C，5% CO_2で行った。レシーバーウェルから60，120，180，及び240分に，ドナーウェルから0及び240分に一定分量を採取した。[^{3}H]-ジゴキシン（10 µmol/L）を陽性対照とし，[^{14}C]-ボクロスポリンと同様に実施した。P-gpの阻害を評価するために，ボクロスポリン（0.04，0.12，0.4，1.2，又は4 µmol/L）の存在下で，[^{3}H]-ジゴキシンを細胞単層膜の頂端膜側又は基底膜側のいずれかに添加した。CsA（4 µmol/L）及びケトコナゾール（10 µmol/L）を陽性対照とし，ボクロスポリンと同様に実施した。

Caco-2実験に使用したプレートへの[^{14}C]-ボクロスポリンの高い非特異的結合がすべての濃度で認められた。そのため，[^{14}C]-ボクロスポリンのすべての濃度は設定値として報告した。この非特異的結合と，[^{14}C]-ボクロスポリン 0.4及び1.2 µmol/Lの設定濃度で得られた結果の変動が大きいことにより，これらのデータから結論を導き出すことはできなかった。設定濃度4 µmol/Lにおいて4回中3回で算出された能動的排出比が2を超えたことから，能動的排出が生じたことが示唆された。阻害剤の試験では，ボクロスポリン（4 µmol/L）は細胞単層膜に対して[^{3}H]-ジゴキシンの能動的排出を91%阻害した。ボクロスポリンの非特異的結合のため，阻害が生じた実際の濃度は，記載より低いと考えられる（資料番号4.2.2.6-01参照）。

2.6.4.7.2　ボクロスポリンのBCRP，OATP1B1，及びOATP1B3に対する基質性

（概要表2.6.5.15，報告書番号XT198070）

ヒトBCRP発現MDCKII細胞単層膜に対するボクロスポリンの*in vitro*双方向輸送速度を，0.3，1，3，及び10 µmol/Lの濃度（364～12146 ng/mL），pH 7.4で，頂端膜側（A）及び基底膜側（B）添加することで検討した。試料は15，30，及び120分後に各3回採取した。ボクロスポリンの輸送へのBCRPの関与を，ヒトBCRP発現MDCKII細胞における1 µmol/Lでの排出比とMDCKIIコントロール細胞における排出比を比較することにより，また，Ko143（1 µmol/L）及びロピナビル（30 µmol/L）でBCRP活性を阻害することにより評価した。BCRPのプローブ基質であるプラゾシン（1 µmol/L）を単層膜上でのBCRPの機能発現の陽性対照とした。

低濃度（0.3，1 µmol/L）かつ頂端膜側から基底膜側の短いタイムポイントでは，ボクロスポリンピークは検出されないか，定量限界程度の濃度であった。1，3，10 µmol/Lでは，高濃度かつ長いタイムポイントでシグナルが検出された。BCRP発現細胞では1及び3 µmol/Lで排出比が2以上となったが，コントロール細胞では1 µmol/Lで同様の排出比が観察され，補正排出比は0.914であった。10 µmol/Lでの排出比は2以下であった。以上の結果から，ボクロスポリンはBCRP基質にならないことが示された。

OATP1B1及びOATP1B3を発現させたHEK293細胞，並びにHEK293コントロール細胞へのボクロスポリンの取込みを0.03，0.1，0.3，及び1 µmol/Lの濃度（36.4～1215 ng/mL）で評価した。阻害剤の存在下でHEK293-OATP1B1/3細胞へのボクロスポリン（1 µmol/L）の取込みを評価した。細胞溶解試料は，1，3，及び10分間のインキュベーション後に採取した（n = 3）。リファンピシン（10 µmol/L）及びCsA（1 µmol/L）をOATP1B1/3阻害剤として用いた。OATP1B1/3のプローブ基質である[^{3}H]-エストラジオール-17β-グルクロニド（50 nM）を陽性対照として用いた。

検討した濃度範囲において，OATP1B1及びOATP1B3発現細胞への対照細胞に対するボクロスポリンの取込み量の比は，2未満であった（0.03 µmol/Lの濃度で10分の測定時点において，OATP1B1取込み量の比は2を超えた（2.92）が，他のデータと比較し，基質性を示唆するものではないと考えた）。1 µmol/Lにおいて，OATP1B1及びOATP1B3阻害剤であるリファンピシン及びCsAの有無にかかわらず，取込み率は同様であった。[^{3}H]-エストラジオール-17β-グルクロニドは，予想されたトランスポーター活性を示した。以上の結果から，ボクロスポリンがOATP1B1及びOATP1B3の基質となる可能性はないと考えられた（資料番号4.2.2.6-02参照）。

2.6.4.7.3　ボクロスポリンのOATP1B1に対する阻害

［概要表2.6.5.15，報告書番号XT-194-Lux-02-[redacted]20[redacted]］

ボクロスポリン及びCsA（対照物質）がヒトOATP1B1取込みトランスポーターと相互作用する可能性を評価した。

コントロールのCHO細胞及びOATP1B1を安定的に発現させたCHO細胞を用いて，ボクロスポリン又はCsA（いずれも0，0.014，0.041，0.12，0.37，1.11，3.33，及び10 μmol/L）のE3Sの取込み阻害活性を評価した。セリバスタチン（100 μmol/L）を陽性対照として用いた。[^{3}H]-E3Sの輸送は，各ウェルごとに液体シンチレーション計数法により評価した。

ボクロスポリン及びCsAは，OATP1B1高発現細胞へのトランスポーターを介したE3S取込みを用量依存的に阻害した。各化合物の最高阻害率は，検討した最高濃度で100%であった。IC_{50}値は，ボクロスポリンで0.49 μmol/L，CsAで0.60 μmol/Lであった。これらのIC_{50}値は同等と判断した。本試験から，ボクロスポリン及びCsAはいずれもOATP1B1のE3S輸送を阻害することが示された（資料番号4.2.2.6-03参照）。

2.6.4.7.4　ボクロスポリンのBCRP及びOATP1B3に対する阻害

（概要表2.6.5.15，報告書番号XT-400-Lux-03-[redacted]20[redacted]）

ボクロスポリン及びCsA（対照物質）がヒトBCRP（小胞輸送アッセイ）及びヒトOATP1B3（取込みトランスポーター阻害アッセイ）と相互作用する可能性を評価した。

BCRPによる小胞輸送阻害アッセイは，低透過性プローブ基質E3Sの，ATP結合カセットトランスポーター高発現細胞から調製した反転膜小胞への取り込みに基づくものであった。ボクロスポリン及びCsA（いずれも，0，0.014，0.041，0.12，0.37，1.11，3.33，及び10 μmol/L）を，調製した膜小胞（総タンパク：25 μg/ウェル）及びE3Sとインキュベーションした。小胞へのトランスポーターを介した取込みと受動的拡散を区別するために，4 mmol/L ATPの非存在下又は存在下でインキュベーションを行った。Ko143（1 μmol/L）を阻害の陽性対照として用いた。濾過した小胞内の基質量は，液体シンチレーション計数法により測定した。

OATP1B3を介した取込み阻害試験は，ヒトOATP1B3を安定発現させたCHO細胞への低透過性のプローブ基質Fluo-3の取り込みを評価することにより実施した。ボクロスポリン又はCsA（いずれも，0，0.014，0.041，0.12，0.37，1.11，3.33，及び10 μmol/L）を，遺伝子導入細胞又はコントロール細胞（陰性対照として）とインキュベーションした。フラバスタチン（30 μmol/L）を阻害の陽性対照として用いた。蛍光を測定することによりFluo-3の輸送を評価した。

BCRPを介した小胞輸送阻害アッセイにおいて，最大阻害率はボクロスポリンで45%，CsAで56%であった。算出したIC_{50}値は，ボクロスポリンで10 μmol/Lを越え，CsAで8.3 μmol/Lであった。OATP1B3を介した取込みトランスポーター阻害アッセイにおいて，最大阻害率はボクロスポリンで95%，CsAで100%であり，両化合物とも用量依存的に輸送を阻害した。算出したIC_{50}値は，それぞれ0.24 μmol/L及び0.4 μmol/Lであった。このことから，小胞輸送阻害アッセイにおいてボクロスポリンはCsAより阻害作用が弱く，取込みトランスポーター阻害アッセイにおける*in vitro*阻害作用は同様であることが示唆された（資料番号4.2.2.6-04参照）。

2.6.4.7.5　ボクロスポリンのOAT1，OAT3，OCT2，MATE1，及びMATE2-Kに対する阻害

（概要表2.6.5.15，報告書番号XT198070）

ボクロスポリンのヒトOAT1，OAT3，OCT2，MATE1，及びMATE2-K阻害活性を評価した。HEK293細胞単層膜を用いて，ボクロスポリンの存在下0.2，2.0 µmol/L（243，2.429 ng/mL）又は，非存在下で，pH 7.4（OAT及びOCT）又はpH 8.5（MATE）の条件下でのプローブ基質の細胞内集積を測定することにより評価した。空ベクターを導入したHEK293細胞を陰性対照とした。OAT1，OAT3，及びOCT2/MATE1/MATE2-Kのプローブ基質は，それぞれ[^{3}H]-p-アミノ馬尿酸（1 µmol/L），[^{3}H]-E3S（50 nmol/L），及び[^{14}C]-メトホルミン（10 µmol/L）を用いた。また，トランスポーター阻害剤を陽性対照として，トランスポーター発現細胞とともに用いた（100 µmol/Lプロベネシド：OAT1/2，300 µmol/Lキニジン又は1000 µmol/Lシメチジン：OCT2，20 µmol/Lシメチジン：MATE1，300 µmol/Lシメチジン：MATE2-K）。トランスポーター遺伝子発現を誘導させるため，MATE1，MATE2-K，及びそれぞれの対照細胞を酪酸（10 mmol/L）と24時間インキュベーションした。被験物質，陽性対照の阻害剤又は溶媒対照を含む培養液を入れたプレートを15分間プレインキュベーションした。プレインキュベーション後，培養液を被験物質，陽性対照の阻害剤，又は溶媒対照とプローブ基質を含む培養液に交換した。実験はn = 3で実施し，インキュベーションは37°Cで1分間（OAT1），2分間（OAT2及びOCT2），又は5分間（MATE1/2-K）行った。

ボクロスポリン（0.2及び2 µmol/L）の存在下で，OAT1細胞における[^{3}H]-p-アミノ馬尿酸（1 µmol/L）のバックグラウンド補正した取込み速度は低下しなかったことから，ボクロスポリンは評価した濃度においてOAT1の阻害剤ではないことが示唆された。また，OAT3細胞における[^{3}H]-E3S（50 nmol/L）のバックグラウンド補正した取込み速度は，いずれのボクロスポリン濃度でも低下しなかったことから，ボクロスポリンはOAT3の阻害剤でないことが示唆された。同様に，ボクロスポリン（0.2及び2 µmol/L）の存在下で，OCT2細胞における[^{14}C]-メトホルミン（10 µmol/L），MATE1細胞における[^{14}C]-メトホルミン（10 µmol/L）（ボクロスポリン 2 µmol/Lで2%阻害），及びMATE2-K細胞における[^{14}C]-メトホルミン（10 µmol/L）のバックグラウンド補正した取込み速度は低下しなかったことから，ボクロスポリンはOCT2，MATE1，及びMATE2-Kの阻害剤ではないことが示唆された。以上の結果から，ボクロスポリンがOAT1，OAT3，OCT2，MATE1，及びMATE2-Kの阻害剤となる可能性は低いことが示唆された（資料番号4.2.2.6-02参照）。

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

2.6.4.8.1　異性体の相互変換

2.6.4.8.1.1　ヒト全血中におけるISA247のシス異性体とトランス異性体の*in vitro*異性体間相互変換

（概要表2.6.5.16，報告書番号ISA03-08）

本試験では，ヒト全血及び50°Cで1時間変性させたヒト全血におけるシス型ISA247とトランス

型ISA247の相互変換の可能性を検討した。全血を健康成人4名から採取し，一定分量にシス型ISA247又はトランス型ISA247のいずれかを25又は500 ng/mLの濃度で添加した。37°Cで0，0.5，1，2，4，及び6時間インキュベーション後に分析した。

シス型ISA247からトランス型ISA247への変換（又はその逆）は，*in vitro*でヒト全血及び50°Cで1時間変性させたヒト全血で37°C，6時間までインキュベーションしても起こらなかった（資料番号4.2.2.7-01参照）。

2.6.4.8.1.2　ラット及びヒトにおけるボクロスポリンの*in vivo*相互変換

（概要表2.6.5.16，報告書番号ISA09-11）

ラット試験（資料番号4.2.3.2-09）及びヒト試験（単回及び反復漸増投与試験，ISA03-12試験）の薬物動態結果の解析を行い，ボクロスポリンを経口投与したときのトランス型ISA247からシス型ISA247への変換が認められるかを検討した。ラットの試験は，ラットにトランス型ISA247を10，又は25 mg/kg/日の用量で経口投与する13週間のブリッジング毒性試験，ヒトの試験は，健康被験者を対象とする用量漸増反復投与試験（0.25，0.5，1.0，及び1.5 mg/kg BID，13日間）の試料を用いた。データ解析の結果，ラット及びヒトにおいて，トランス異性体からシス異性体への変換されないことが示唆された。

結論として，*in vivo*でボクロスポリンのトランス異性体がシス異性体に変換されないことを示された（資料番号4.2.2.7-02参照）。

2.6.4.8.1.3　サルにおけるボクロスポリンの*in vivo*相互変換

（概要表2.6.5.16，報告書番号ISA03-02）

サルの安全性薬理試験で採取した血液試料を用いてボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247を経口投与したときのボクロスポリンのシス異性体とトランス異性体の*in vivo*相互変換の可能性を評価した。その結果，ボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247を200 mg/kgで単回経口投与したとき，シス異性体とトランス異性体間の相互変換は認められなかった（資料番号4.2.1.3-04参照）。

2.6.4.9　考察及び結論

ボクロスポリンの開発において，初期の非臨床試験及び臨床試験で使用した原薬は，2種類の幾何異性体の混合物（mix-ISA247；トランス異性体45%～50%，シス異性体50%～55%）であった。この開発段階において，mix-ISA247の各異性体を分離及び定量するための異性体特異的な方法は利用できなかった。現在のトランス体を多く含有する原薬（トランス異性体[redacted]%以上）に切り替えた際，ボクロスポリンのシス異性体とトランス異性体を分離及び定量可能な異性体特異的な方法を開発してバリデーションした。異性体特異的な方法を用いて，ボクロスポリンのシス異性体及びトランス異性体は*in vivo*及び*in vitro*で相互変換しないことが確認された。したがって，特記しない限り，異性体特異的でない方法を使用してボクロスポリンの非臨床試験を実施した。

ラットにおけるボクロスポリンの絶対的経口バイオアベイラビリティは7.6%であった。ラットにボクロスポリンを単回及び反復経口投与したとき，ボクロスポリン及び代謝物の全身曝露量は用量の増加に伴って増加したが，用量比例性を上回った。ボクロスポリンの全身曝露量は，測定

したボクロスポリン代謝物の曝露量より高く，雌より雄でボクロスポリンの曝露量が高かった。

ラットを用いた薬物動態試験では，CsAの曝露量は，使用した製剤によらず，同様の用量でボクロスポリン又はmix-ISA247の曝露量より高かった。また，反復投与によるボクロスポリン，mix-ISA247及びCsAの蓄積は認められなかった。標準製剤とは別にビタミンE TPGSを含まない製剤を評価する試験を実施したが，25 mg/kg/日群において2種類の薬剤でのボクロスポリンの曝露量に大きな違いは認められなかった。

ラット，ウサギ及びサルを用いた薬物動態試験では，mix-ISA247を経口投与したとき，トランス異性体の血中濃度がシス異性体の約2倍となり，トランス異性体のバイオアベイラビリティはシス異性体より高いことが示唆された。

[^{14}C]-ボクロスポリンの血漿タンパク結合率は，ヒト及び動物（マウス，ラット，ウサギ，イヌ，及びサル）において，96.97%～98.34%であり，濃度（20～2000 ng/mL）に依存しなかった。代謝物IM9の血漿タンパク結合率は，ヒト及び動物（ラット，イヌ，及びサル）で55.4%～81.2%であった。IM9は，ヒトAAGとHSAの両方への結合を示し，ヒトAAGへの結合が高かった。*In vitro*血球移行試験から，ボクロスポリンはヒト赤血球中へ移行することが示され，全血がmix-ISA247及びボクロスポリンの定量に最も適したマトリクスであることが示された。

ラット及びサルにおける[^{14}C]-ボクロスポリンの組織分布は，消化管，肝臓，及び腎臓で高値を示した。 [^{3}H]-mix-ISA247（ラット）又は[^{14}C]-ボクロスポリン（ラット及びサル）由来放射能の脳及び脊髄への分布は，無視できる程度であったことから，ボクロスポリン及び代謝物は血液脳関門を容易に通過しないことが示された。また，有色ラットとアルビノラットを用いた[^{14}C]-ボクロスポリン試験のデータから皮膚及び眼の薬物由来放射能濃度は同程度であったことから，メラニンへの結合の可能性は低いことが示された。

ラットを用いて[^{14}C]-ボクロスポリンの胎盤通過試験及び乳汁排泄試験を実施したところ，胎盤を介した薬物由来放射能の移行は緩慢で限定的であった。薬物由来放射能の乳汁排泄は急速であったが，出生児の吸収は緩慢であり限定的であった。これらのデータから，生殖毒性試験の実施中に胎児及び出生児がボクロスポリン及び代謝物の曝露を受けることが示唆された。

ボクロスポリン及びmix-ISA247は，共役ジエン構造を有するアミノ酸残基の側鎖の末端二重結合のエポキシ化及び加水分解反応（ジヒドロジオールの生成），水酸化反応及び酸化的N-脱メチル化反応により代謝された。ボクロスポリンの代謝は動物種間で同様であり，主要代謝物はヒト及びすべての動物種においてIM9であった。ヒトマスバランス試験（LX211-05試験）試験において循環血中に確認された代謝物（IM1-Diol-1，IM4n9，IM1w，IM9，IM4n，IM4，及びIM4n9n）はサルにおいても確認されており，*in vitro*代謝においてもヒトに固有の代謝物は認められなかった。CYP3A4/5は，ボクロスポリンの第1相代謝に関与する主要なCYP酵素であった。

ラットに[^{3}H]-mix-ISA247，ラット及びサルに[^{14}C]-ボクロスポリンを経口投与したときの排泄は速やかであり，薬物由来放射能の大部分は24時間（ラット）又は48時間（サル）以内に排泄された。主要な排泄経路は糞中であり，薬物由来放射能の尿中排泄はわずかであった。ヒトにおける[^{14}C]-ボクロスポリンの排泄の主要な排泄経路も糞中排泄であった（LX211-05試験）。

ボクロスポリンを用い，*in vitro*酵素阻害/誘導試験を実施した。ヒト肝ミクロソームでは，ボクロスポリンはCYP3A4/5の競合阻害剤であった（解離定数 = 1.1 μmol/L，IC_{50} = 1.2 μmol/L）が，

時間依存性及び代謝依存性は認められなかった。ヒト肝細胞において，ボクロスポリンはCYP1A2及びCYP3A4の誘導剤ではなかった（酵素活性）。ボクロスポリンはCYP2B6，2C8，2C9，2C19，及び3A4の誘導能を示さなかった（mRNA）。ボクロスポリンは 3 µmol/Lにおいて CYP1A2の誘導能を示さなかったが，7 µmol/Lでは3ロット中，1ロットで2倍以上のCYP1A2 mRNA誘導能が認められた。ボクロスポリンは，高濃度（4 µmol/L）でP-gpの阻害剤となる可能性があり，また基質となる可能性がある。高い非特異的結合率のため，*in vitro*試験の結果は決定的なものではなかったが，ボクロスポリンは*in vitro*においてCsAと同程度にOATP1B1の活性を阻害することが示された。ボクロスポリン及びCsAのIC_{50}値はそれぞれ0.49及び0.60 µmol/Lと算出された。ボクロスポリンはOATP1B3取込みトランスポーターの阻害剤としてもCsAと同等であることが示された。ボクロスポリン及びCsAのIC_{50}値はそれぞれ0.24及び0.4 µmol/Lと算出された。ボクロスポリンは，BCRPを介した小胞輸送阻害アッセイにおいて，BCRPと相互作用することが示されたが，算出されたIC_{50}値は検討した最高濃度10 µmol/Lより高かった。

毒性試験に用いられた動物にボクロスポリン又はmix-ISA247を1日1回投与したときの定常状態におけるボクロスポリンの曝露量のデータ（平均AUC）及び健康被験者にボクロスポリン 0.4 mg/kg BIDを投与したときの定常状態における曝露量データ（平均AUC_{12h}）を用いて，ヒト曝露量に対する動物曝露量の倍率を検討した。

動物で認められた定常状態における平均AUC値は用量依存的であったが，用量比例性を上回った。試験全体のNOAEL用量における動物曝露量に対するヒト曝露量の倍率は，妊娠ウサギの0.02（ボクロスポリンを1 mg/kg/日投与）から妊娠ラットの14.1（mix-ISA247を10 mg/kg/日投与）であった。AUCは，種間比較を容易にするため用量補正を行った。用量補正後のAUCに基づく曝露量は，動物と比較してヒトでは1.6～139倍高値を示した。動物種の中で，曝露量はラットで最も高く，次いでイヌ，マウス，サル，及びウサギであった。幼若ラットにおけるボクロスポリンの曝露量は，成体ラットにおける結果と同等であった（表 2.6.4.9-1及び表 2.6.4.9-2）。

表 2.6.4.9-1　　ボクロスポリン又はmix-ISA247を経口投与したときの定常状態におけるボクロスポリン曝露量の比較（1）

被験物質	用量（mg/kg/日）	性別	AUC[a,b]（ng·h/mL）	用量補正後のAUC[c]（ng·h/mL）	曝露マージン[d]（動物/ヒト）
マウス（資料番号4.2.3.4.1-03）					
ボクロスポリン	3	雄	108	36	0.24
		雌	141	47	0.32
	10[e]	雄	406	41	0.91
		雌	612	61	1.4
	30	雄	3876	129	8.7
		雌	5417	181	12.2
ラット（資料番号4.2.3.2-09）					
ボクロスポリン	2.5[f,g]	雄	934	374	2.1
		雌	499	200	1.1
	10	雄	5205	521	11.7
		雌	3320	332	7.5
	25	雄	15479	619	34.9
		雌	17662	706	39.8
幼若ラット（資料番号4.2.3.5.4-01）					
ボクロスポリン	1.25[f]	雄	302	242	0.68
	2.50[f]	雌	379	152	0.85
	2.50	雄	812	325	1.8
	5.00	雌	792	158	1.8
	5.00	雄	1687	337	3.8
	10.0	雌	2880	288	6.5
妊娠ラット（資料番号4.2.3.5.2-03）					
Mix-ISA247	2.5	雌	590	236	1.3
	10[f]	雌	6240	624	14.1
	25	雌	12853	514	28.9
ヒト（資料番号 5.3.3.4-03，5.3.3.4-04）					
ボクロスポリン	0.4[h]	男性 女性	444[i]	1110	該当せず

[a]定常状態の投与間隔に基づくAUCで小数第1位を四捨五入した値

[b] AUC_{12h}（マウス，ヒト），AUC_{24h}（ラット，幼若ラット），　AUC_{∞}（妊娠ラット）

[c]AUC値を用量で除して算出した用量補正後のAUC値

[d]ヒト曝露量に対する動物曝露量の倍数は，動物のAUCを，ヒトAUC（444 ng·h/mL）で除して算出した。

[e]がん原性の無毒性量

[f]試験全体の無毒性量

[g]腎臓所見の無毒性量

[h]1日2回投与

[i]臨床薬物相互作用試験であるLX211-06試験（n = 24）及びLX211-07試験（n = 20）から得られたボクロスポリンのデータを結合した。

＜資料番号4.2.3.4.1-03：Appendex K-Appendex D Table D-1，資料番号4.2.3.2-09：Table4.2-6，資料番号 4.2.3.5.4-01：Toxicokinetic Report Table 2，資料番号 4.2.3.5.2-03：Appendex G Table 4.2-1，資料番号 5.3.3.4-03：Table 7，資料番号 5.3.3.4-04：Table 7より作成＞

表 2.6.4.9-2　　ボクロスポリン又はmix-ISA247を経口投与したときの定常状態におけるボクロスポリン曝露量の比較（2）

被験物質	用量（mg/kg/日）	性別	AUC[a,b]（ng·h/mL）	用量補正後のAUC[c]（ng·h/mL）	曝露マージン[d]（動物/ヒト）
妊娠ウサギ（資料番号4.2.3.5.2-06）					
ボクロスポリン	1[e]	雌	8	8	0.02
	5	雌	105	21	0.24
	20	雌	517	26	1.2
イヌ（資料番号4.2.3.2-13）					
Mix-ISA247	2.5[e]	雄	135	54	0.30
		雌	92	37	0.21
	10	雄	3072	307	6.9
		雌	2195	220	4.9
	35	雄	11162	319	25.1
		雌	7284	208	16.4
サル（資料番号4.2.3.2-15）					
Mix-ISA247	25[e]	雄	781	31	1.8
		雌	783	31	1.8
	75	雄	3232	43	7.3
		雌	3316	44	7.5
	150[f]	雄	3858	26	8.7
		雌	6548	44	14.7
ヒト（資料番号 5.3.3.4-03，5.3.3.4-04）					
ボクロスポリン	0.4[g]	男性 女性	444[h]	1110	該当せず

[a]定常状態の投与間隔に基づくAUCで小数第1位を四捨五入した値

[b] AUC_{12h}（ヒト），AUC_{24h}（サル），AUC_{all}（妊娠ウサギ），AUC_{∞}（イヌ）

[c]AUC値を用量で除して算出した用量補正後のAUC値

[d]ヒト曝露量に対する動物曝露量の倍数は，動物のAUCを，ヒトAUC（444 ng·h/mL）で除して算出した。

[e]試験全体の無毒性量

[f]腎臓所見の無毒性量

[g]1日2回投与

[h]臨床薬物相互作用試験であるLX211-06試験（n = 24）及びLX211-07試験（n = 20）から得られたボクロスポリンのデータを結合した。

＜資料番号 4.2.3.5.2-06：Appendex F Table 4.2.1，資料番号 4.2.3.2-13：Appendex IV Day Table 4.3-1，資料番号 4.2.3.2-15：Appendix VII Table 4.2.1.1，資料番号 5.3.3.4-03：Table 7，資料番号 5.3.3.4-04：Table 7より作成＞

マウス，ラット，ウサギ，及びサルにボクロスポリンを投与したときの，ボクロスポリン及び主要代謝物IM9の定常状態における曝露量データ（AUC_{24h}）ついて，ヒトにおけるボクロスポリン代謝物の曝露量データ（単回及び反復漸増投与試験，ISA03-12試験）と比較した（表 2.6.4.9-3）。ヒト曝露データは，0.5 mg/kg BIDの用量で示されており，これは臨床用量0.4 mg/kg BIDに最も近い。

表 2.6.4.9-3　　ボクロスポリン及び代謝物の曝露マージン

化合物	動物種	用量（mg/kg/日）	動物曝露量[a,d] AUC_{24h} 平均（ng·h/mL）	ヒト曝露量[b] AUC_{12h} 平均（ng·h/mL）	曝露マージン（動物／ヒト）	資料番号
ボクロスポリン	マウス	25	3529	821.5	4.3	4.2.2.4-11
	ラット	2.5[c]	467	821.5	0.6	4.2.2.2-07
	ウサギ	20	938	821.5	1.1	4.2.2.2-09
	サル	150	3455	821.5	4.2	4.2.2.2-10
IM9	マウス	25	2494	273.3	9.1	4.2.2.4-11
	ラット	2.5[c]	188	273.3	0.7	4.2.2.2-07
	ウサギ	20	230	273.3	0.8	4.2.2.2-09
	サル	150	1073	273.3	3.9	4.2.2.2-10

[a]10日目（マウスは6日目）の曝露量
[b]0.5 mg/kgを1日2回反復投与したときの曝露量（ISA03-12試験，Day 13）
[c]試験全体の無毒性量
[d]AUCは小数第1位を四捨五入した値
＜資料番号4.2.2.4-11：Figure4.2-6，資料番号4.2.2.2-07：Appendex 5 Table4.3-1及びTable4.3-2，資料番号4.2.2.2-09：Appendex 5 Table 4.3.1-1及び4.3.2-1，資料番号4.2.2.2-10：Appendex 5 Table 4.3-1及び4.3-2，資料番号5.3.3.1-02：Appendix 16.1.13 Table 3.2.1-1 及びTable 3.3.1-1より作成＞

全体として，動物種におけるボクロスポリンの薬物動態，並びに薬物代謝酵素及びトランスポーターとの相互作用の可能性は，十分に明らかにされた。これらの試験の結果と，毒性試験及びTK試験のデータを併せると，ボクロスポリンのヒトへの使用は可能と考えられる。

2.6.4.10　図表

本文中に記載した。

ルプキネスカプセル7.9 mg

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.6.5 薬物動態試験概要表

大塚製薬株式会社

目次

目次 2

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 3

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 8

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 22

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 28

2.6.5.5 薬物動態試験：分布 35

2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合 46

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 48

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 49

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In vitro* 50

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In vivo* 54

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 61

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 64

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 72

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 76

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 77

2.6.5.16 薬物動態試験：その他 86

2.6.5.1　薬物動態試験：一覧表

2.6.5.1.1　薬物動態試験　一覧表（1）　被験物質：ボクロスポリン

試験の種類 （被験物質/対照物質）	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	CTDの記載場所 （資料番号）
＜吸収：単回投与＞					
単回投与，バイオアベイラビリティ （ボクロスポリン）	ラット	経口，静脈内	[redacted]	ISA08-15	4.2.2.2-01
単回投与時の全血中PK （[^{14}C]-ボクロスポリン）	ラット	経口	[redacted]	ISA05-18	4.2.2.2-02
単回投与時の全血中PK （[^{3}H]-mix-ISA247）	ラット	経口	[redacted]	ISA00-25	4.2.2.2-03
PK（単回投与） （ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247）	サル	経口	[redacted]	ISA03-02	4.2.1.3-04
PK（単回投与）（mix-ISA247）	サル	経口	[redacted]	ISA02-07	4.2.1.3-03
単回投与時の全血中PK （[^{14}C]-ボクロスポリン）	サル	経口	[redacted]	ISA08-01	4.2.2.2-04
＜吸収：反復投与＞					
PK（10日間） （ビタミンE非配合製剤中のボクロスポリン，CsA）	ラット	経口	Isotechnika	ISA05-08	4.2.2.2-05
PK（10日間） （ビタミンE非配合製剤中のボクロスポリン）	ラット	経口	[redacted]	ISA05-10	4.2.2.2-06
PK（10日間） （ボクロスポリン）	ラット	経口	[redacted]	ISA08-14	4.2.2.2-07
PK（10日間） （mix-ISA247，CsA）	ラット	経口	[redacted]	ISA01-17	4.2.2.2-08
PK（10日間） （ボクロスポリン，mix-ISA247）	ウサギ	経口	[redacted]	ISA08-26	4.2.2.2-09
PK（10日間） （ボクロスポリン）	サル	経口	[redacted]	ISA08-13	4.2.2.2-10

2.6.5.1.2　　薬物動態試験　　一覧表（2）　　被験物質：ボクロスポリン

試験の種類 （被験物質/対照物質）	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	CTDの記載場所 （資料番号）
＜分布＞					
単回投与時の組織分布 （[^{14}C]-ボクロスポリン）	ラット	経口	[redacted]	ISA05-18	4.2.2.2-02
単回投与時の組織分布 （[^{3}H]-mix-ISA247）	ラット	経口	[redacted]	ISA00-25	4.2.2.2-03
単回投与時の組織分布 （[^{14}C]-ボクロスポリン）	サル	経口	[redacted]	ISA08-01	4.2.2.2-04
血球への分布 （ボクロスポリン）	ヒト血液	*In vitro*	Isotechnika	ISA09-26	4.2.2.3-01
＜タンパク結合＞					
血漿タンパク結合 （[^{14}C]-ボクロスポリン）	マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サル，ヒト血漿	*In vitro*	[redacted]	ISA08-29	4.2.2.3-02
血漿タンパク結合 （IM9）	ラット，イヌ，サル，ヒト血漿，HSA，ヒトAAG	*In vitro*	[redacted]	AUR-VCS-20[redacted]-02	4.2.2.3-03
＜妊娠又は授乳動物における試験＞					
胎盤通過性 （[^{14}C]-ボクロスポリン）	ラット	経口	[redacted]	CRL420696	4.2.2.3-04
＜代謝：*In vitro*＞					
代謝 （ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247）	マウス肝ミクロソーム	*In vitro*	Isotechnika	ISA09-25	4.2.2.4-01
代謝 （ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247）	ラット肝ミクロソーム	*In vitro*	Isotechnika	ISA09-12	4.2.2.4-02
代謝 （ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247）	ウサギ肝ミクロソーム	*In vitro*	Isotechnika	ISA09-23	4.2.2.4-03
代謝 （ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247）	イヌ肝ミクロソーム	*In vitro*	Isotechnika	ISA09-24	4.2.2.4-04

2.6.5.1.3　　薬物動態試験　　一覧表（3）　　被験物質：ボクロスポリン

試験の種類 （被験物質/対照物質）	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	CTDの記載場所 （資料番号）
＜代謝：*In vitro*＞					
代謝 （ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247）	サル肝ミクロソーム	*In vitro*	Isotechnika	ISA09-22	4.2.2.4-05
代謝 （ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247）	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	Isotechnika	ISA08-34	4.2.2.4-06
代謝 （ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247）	ヒト肝ミクロソーム及びヒト肝細胞	*In vitro*	Isotechnika	ISA03-06	4.2.2.4-07
代謝 （mix-ISA247）	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	Isotechnika	ISA01-06	4.2.2.4-08
代謝（グルタチオントラッピング） （ボクロスポリン）	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	Isotechnika	ISA08-21	4.2.2.4-09
＜代謝：*In vivo*＞					
反復投与時の代謝 （mix-ISA247）	ラット，イヌ，サル，ヒト	経口	Isotechnika	ISA01-19	4.2.2.4-10
代謝物プロファイル （ボクロスポリン）	マウス	経口	Isotechnika	ISA05-09	4.2.2.4-11
単回投与時の代謝 （[^{14}C]-ボクロスポリン）	ラット	経口	[redacted]	ISA05-18	4.2.2.2-02
PK（10日間） （ボクロスポリン）	ラット	経口	[redacted]	ISA08-14	4.2.2.2-07
PK（10日間） （ボクロスポリン，mix-ISA247）	ウサギ	経口	[redacted]	ISA08-26	4.2.2.2-09
単回投与時の代謝 （[^{14}C]-ボクロスポリン）	サル	経口	[redacted]	ISA08-01	4.2.2.2-04
PK（10日間） （ボクロスポリン）	サル	経口	[redacted]	ISA08-13	4.2.2.2-10

2.6.5.1.4　　薬物動態試験　　一覧表（4）　　被験物質：ボクロスポリン

試験の種類 （被験物質/対照物質）	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	CTDの記載場所 （資料番号）
＜代謝：推定代謝経路＞					
代謝物同定	NA	NA	Isotechnika	ISA09-10	4.2.2.4-12
＜代謝：薬物代謝酵素の誘導／阻害＞					
CYP阻害 （ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247）	ヒト肝ミクロソーム及びヒト肝細胞	*In vitro*	Isotechnika	ISA03-06	4.2.2.4-07
CYP阻害（ボクロスポリン）	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	[redacted]	ISA08-20	4.2.2.4-13
CYP阻害（IM9）	ヒト肝ミクロソーム	*In vitro*	[redacted]	AUR-VCS-20[redacted]-01	4.2.2.4-14
CYP誘導（酵素活性）（ボクロスポリン）	ヒト肝細胞	*In vitro*	[redacted]	ISA08-03	4.2.2.4-15
CYP誘導（mRNA）（ボクロスポリン）	ヒト肝細胞	*In vitro*	[redacted]	XT193071	4.2.2.4-16
CYP誘導（mRNA，酵素活性）（ボクロスポリン）	ヒト肝細胞	*In vitro*	[redacted]	AUR-VCS-20[redacted]-05	4.2.2.4-17
＜排泄＞					
単回投与時の尿糞中排泄 （[^{3}H]-mix-ISA247）	ラット	経口	[redacted]	ISA00-25	4.2.2.2-03
単回投与時の尿糞中排泄，胆汁排泄 （[^{14}C]-ボクロスポリン）	ラット	経口	[redacted]	ISA05-18	4.2.2.2-02
単回投与時の尿糞中排泄 （[^{14}C]-ボクロスポリン）	サル	経口	[redacted]	ISA08-01	4.2.2.2-04
乳汁排泄 （[^{14}C]-ボクロスポリン）	ラット	経口	[redacted]	CRL420696	4.2.2.3-04

2.6.5.1.5　　薬物動態試験　　一覧表（5）　　被験物質：ボクロスポリン

試験の種類 （被験物質/対照物質）	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	CTDの記載場所 （資料番号）
＜薬物相互作用＞					
P-糖タンパク質トランスポーター阻害及び基質アッセイ （ボクロスポリン）	Caco-2細胞	*In vitro*	[redacted]	ISA08-02	4.2.2.6-01
BCRP，OATP1B1，OATP1B3トランスポーター基質アッセイ （ボクロスポリン）	MDCKII細胞（BCRP）及びHEK293細胞（OATP1B1，OATP1B3）	*In vitro*	[redacted]	XT198070	4.2.2.6-02
OATP1B1トランスポーター阻害アッセイ （ボクロスポリン，CsA）	CHO細胞	*In vitro*	[redacted]	XT-194-Lux-02-[redacted]20[redacted]	4.2.2.6-03
BCRP小胞輸送阻害アッセイ，及びOATP1B3取込みトランスポーター阻害アッセイ （ボクロスポリン，CsA）	膜小胞（BCRP）及びCHO細胞（OATP1B3）	*In vitro*	[redacted]	XT-400-Lux-03-[redacted]20[redacted]	4.2.2.6-04
OAT1，OAT3，OCT2，MATE1，及びMATE2-K阻害アッセイ （ボクロスポリン）	HEK293細胞（OAT，OCT，MATE）	*In vitro*	[redacted]	XT198070	4.2.2.6-02
＜その他＞					
異性体相互変換試験 （ボクロスポリン，シス型ISA247）	ヒト全血	*In vitro*	Isotechnika	ISA03-08	4.2.2.7-01
異性体相互変換試験 （ボクロスポリン）	ラット，ヒト全血	経口	Isotechnika	ISA09-11	4.2.2.7-02
PK（単回投与） （ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247）	サル	経口	[redacted]	ISA03-02	4.2.1.3-04

[redacted]，CsA＝ シクロスポリンA，[redacted]，Isotechnika = Isotechnika Pharma Inc.，[redacted]，[redacted]，NA＝ 該当せず，PK＝ 薬物動態，[redacted]

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2.1　分析方法及びバリデーション試験（1）　被験物質：ボクロスポリン

動物種/ 試料マトリクス	分析対象物	検量線範囲 (ng/mL)	定量法の種類	抽出方法	バリデーション 報告書番号	SOP番号	資料番号
マウス全血	ボクロスポリン[a]	1-800	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	$ZnSO_4$沈殿			4.2.2.1-01
		10-2000	O/SPE/LC/ESI/MS	$ZnSO_4$沈殿			4.2.2.1-02
	IM1-Diol-1，IM1c，IM9， IM4，IM4n	5-500	LC/ESI/MS	1-クロロブタン 抽出			4.2.2.1-03
ラット全血	mix-ISA247[a]	2-1000	LC/ESI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-04
		10-2000	LC/ESI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-05
		2-1000	LC/ESI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-06
		0.3-400	LC/ESI/MS/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-07
	シス異性体 トランス異性体	0.4-100 100-2600	LC/APCI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-08
	ボクロスポリン[a]	0.1-5	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	$ZnSO_4$沈殿			4.2.2.1-09
		1-100	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	$ZnSO_4$沈殿			4.2.2.1-10
		2-2000	O/SPE/LC/ESI/MS	$ZnSO_4$沈殿			4.2.2.1-11
	IM1-Diol-1，IM1c (R)， IM1w，IM4，IM4n，IM9	2-200	LC/ESI/MS/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-12
	CsA	0.3-400	LC/ESI/MS/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-13

（続く）

2.6.5.2.2　　分析方法及びバリデーション試験（2）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種/ 試料マトリクス	分析対象物	検量線範囲 （ng/mL）	定量法の種類	抽出方法	バリデーション 報告書番号	SOP番号	資料番号
ラット全血	CsA	0.4-100 100-2600	LC/APCI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出	[redacted]		4.2.2.1-14
		2-1000	LC/ESI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-15
ラット血漿	プレドニゾン及びプレド ニゾロン	0.250-250	LC/MS/MS	溶媒抽出			4.2.2.1-16
ウサギ全血	mix-ISA247[a]	25-1000	LC/ESI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-17
	シス異性体 トランス異性体	1-800	LC/APCI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-18
	IM1-Diol-1，IM1c (R), IM1w，IM4，IM4n，IM9	2-200	LC/ESI/MS/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-19
イヌ全血	mix-ISA247[a]	10-2000	LC/ESI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-20
サル全血	mix-ISA247[a]	2-1000	LC/ESI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-21
	シス異性体 トランス異性体	4-1000	LC/APCI/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-22
	ボクロスポリン	2-800	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	$ZnSO_4$沈殿			4.2.2.1-23
	IM1-Diol-1，IM1c (R), IM1w，IM4，IM4n，IM9	2-200	LC/ESI/MS/MS	tert-ブチルメチル エーテル抽出			4.2.2.1-24

CsA＝ シクロスポリンA，LC/APCI/MS＝ 液体クロマトグラフィー/大気圧化学イオン化/質量分析，LC/ESI/MS＝ 液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/質量分析，LC/ESI/MS/MS＝ 液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析，LC /MS/MS＝ 液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析，O/SPE/LC/ESI/MS =オンライン/固相抽出/液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/質量分析，O/SPE/LC/ESI/MS/MS＝ オンライン/固相抽出/液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析

[a]異性体を区別せずにシス型ISA247とトランス型ISA247の合計を測定する方法

[b]方法番号

2.6.5.2.3　　非臨床試験を裏付けるために使用した分析方法（1）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種/試料マトリクス	使用方法	分析対象物	実施施設	裏付けた試験	バリデーション報告書番号	SOP番号	資料番号
マウス全血	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	ボクロスポリン[a]	Isotechnika	ISA06-01	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1-01
	O/SPE/LC/ESI/MS		Isotechnika	ISA05-17			4.2.2.1-02
	LC/ESI/MS	IM1-Diol-1，IM1c，IM9，IM4，IM4n	Isotechnika	ISA05-17			4.2.2.1-03
ラット全血	LC/ESI/MS	mix-ISA247[a]	Isotechnika	ISA05-11，ISA05-08，ISA05-10			4.2.2.1-04
	LC/ESI/MS		Isotechnika	ISA00-08			4.2.2.1-05
	LC/ESI/MS		Isotechnika	ISA00-17，ISA01-12，ISA01-17，ISA02-02，ISA02-03			4.2.2.1-06
	LC/ESI/MS/MS		Isotechnika	ISA01-18			4.2.2.1-07
	LC/APCI/MS	シス異性体 トランス異性体	Isotechnika	ISA03-03			4.2.2.1-08
	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	ボクロスポリン[a]	Isotechnika	ISA04-08			4.2.2.1-09
	O/SPE/LC/ESI/MS/MS		Isotechnika	ISA04-08			4.2.2.1-10
	O/SPE/LC/ESI/MS		Isotechnika	ISA07-04，ISA08-14，ISA08-15，70881 (ISA09-09)，ISA09-21，HVV00003			4.2.2.1-11
	LC/ESI/MS/MS	IM1-Diol-1，IM1c (R)，IM1w，IM4，IM4n，IM9	Isotechnika	ISA08-14			4.2.2.1-12

（続く）

2.6.5.2.4　　非臨床試験を裏付けるために使用した分析方法（2）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種/試料マトリクス	使用方法	分析対象物	実施施設	裏付けた試験	バリデーション報告書番号	SOP番号	資料番号
ラット全血	LC/ESI/MS/MS	CsA	Isotechnika	ISA01-18	[redacted]		4.2.2.1-13
	LC/APCI/MS		Isotechnika	ISA03-03			4.2.2.1-14
	LC/ESI/MS		Isotechnika	ISA01-17			4.2.2.1-15
ラット血漿	LC/MS/MS	プレドニゾン及びプレドニゾロン	[redacted]	70881 (ISA09-09)			4.2.2.1-16
ウサギ全血	LC/ESI/MS	mix-ISA247[a]	Isotechnika	ISA01-13			4.2.2.1-17
	LC/APCI/MS	シス異性体 トランス異性体	Isotechnika	ISA04-05，ISA08-26			4.2.2.1-18
	LC/ESI/MS/MS	IM1-Diol-1，IM1c (R)，IM1w，IM4，IM4n，IM9	Isotechnika	ISA08-26			4.2.2.1-19
イヌ全血	LC/ESI/MS	mix-ISA247[a]	Isotechnika	ISA00-09，ISA01-01			4.2.2.1-20
サル全血	LC/ESI/MS	mix-ISA247[a]	Isotechnika	ISA01-05，ISA02-01，ISA02-07			4.2.2.1-21
	LC/APCI/MS	シス異性体 トランス異性体	Isotechnika	ISA03-02			4.2.2.1-22
	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	ボクロスポリン[a]	Isotechnika	ISA08-13			4.2.2.1-23
	LC/ESI/MS/MS	IM1-Diol-1，IM1c (R)，IM1w，IM4，IM4n，IM9	Isotechnika	ISA08-13			4.2.2.1-24

CsA＝ シクロスポリンA，GLP＝ 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，LC/APCI/MS＝ 液体クロマトグラフィー/大気圧化学イオン化/質量分析
LC/ESI/MS＝ 液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/質量分析，LC/ESI/MS/MS＝ 液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析，
O/SPE/LC/ESI/MS＝ オンライン/固相抽出/液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/質量分析，O/SPE/LC/ESI/MS/MS＝ オンライン/固相抽出/液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析
[a]異性体を区別せずにシス型ISA247とトランス型ISA247の合計を測定する方法
[b]方法番号

2.6.5.2.5　　全血中濃度測定のための品質管理試料の分析法バリデーションパラメータ（1）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種	分析方法	分析対象物	検量線範囲（ng/mL）	定量下限（ng/mL）	QC試料濃度（ng/mL）	精度[a]（%）	真度[a]（%）	バリデーション報告書番号	SOP番号	資料番号
マウス	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	ボクロスポリン[b]	1-800	1	3	3.3	108.9	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1-01
					400	4.6	101.3			
					650	4.0	99.3			
	O/SPE/LC/ESI/MS		10-2000	10	30	4.7	100.4			4.2.2.1-02
					750	3.8	108.9			
					1750	4.4	109.0			
	LC/ESI/MS	IM1-Diol-1	5-500	5	15	4.3	102.3			4.2.2.1-03
					150	3.0	102.4			
					425	3.4	104.2			
		IM1c	5-500	5	15	5.2	105.0			
					150	3.0	104.6			
					425	3.2	103.9			
		IM9	5-500	5	15	4.5	103.5			
					150	3.2	104.1			
					425	3.1	103.7			
		IM4	5-500	5	15	4.2	102.4			
					150	3.2	104.2			
					425	2.8	104.7			
		IM4n	5-500	5	15	3.3	105.3			
					150	3.1	106.1			
					425	2.9	104.5			
ラット	LC/ESI/MS	mix-ISA247[b]	2-1000	2	6	6.6	92.4			4.2.2.1-04
					200	4.1	103.6			
					800	4.0	93.3			

（続く）

2.6.5.2.6　　全血中濃度測定のための品質管理試料の分析法バリデーションパラメータ（2）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種	分析方法	分析対象物	検量線範囲（ng/mL）	定量下限（ng/mL）	QC試料濃度（ng/mL）	精度[a]（%）	真度[a]（%）	バリデーション報告書番号	SOP番号	資料番号
ラット	LC/ESI/MS	mix-ISA247[b]	10-2000	10	75	6.3	99.7	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1-05
					1500	4.3	97.5			
			2-1000	2	6	4.5	108.8			4.2.2.1-06
					200	8.5	97.1			
					800	6.2	104.4			
	LC/ESI/MS/MS	mix-ISA247[b]	0.3-400	0.3	0.8	9.3	107.2			4.2.2.1-07
					75	3.6	100.1			
					300	5.4	103.0			
	LC/APCI/MS	シス異性体	0.4-100	0.4	1	8.6	99.1			4.2.2.1-08
					40	7.5	99.6			
					90	5.0	94.1			
			100-2600	100	175	6.7	102.0			4.2.2.1-08
					1100	10.3	100.9			
					2400	7.1	103.5			
	LC/APCI/MS	トランス異性体	0.4-100	0.4	1	7.9	103.5			4.2.2.1-08
					40	8.6	101.6			
					90	7.4	95.1			
			100-2600	100	175	3.9	110.5			4.2.2.1-08
					1100	5.3	100.0			
					2400	6.5	103.7			
	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	ボクロスポリン[b]	0.1-5	0.1	0.3	8.2	104.4			4.2.2.1-09
					1.5	2.4	93.1			
					4.0	5.1	102.2			

（続く）

2.6.5.2.7　　全血中濃度測定のための品質管理試料の分析法バリデーションパラメータ（3）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種	分析方法	分析対象物	検量線範囲（ng/mL）	定量下限（ng/mL）	QC試料濃度（ng/mL）	精度[a]（%）	真度[a]（%）	バリデーション報告書番号	SOP番号	資料番号
ラット	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	ボクロスポリン[b]	1-100	1	3	8.0	100.5	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1-10
					40	5.2	102.1			
					85	5.6	103.0			
	O/SPE/LC/ESI/MS	ボクロスポリン[b]	2-2000	2	6	3.2	96.3			4.2.2.1-11
					700	2.1	102.1			
					1750	2.5	97.2			
	LC/ESI/MS/MS	IM1-Diol-1	2-200	2	6	6.1	106.5			4.2.2.1-12
					75	4.2	101.2			
					175	8.5	100.3			
		IM1c (R)	2-200	2	6	3.6	106.8			
					75	3.6	103.6			
					175	2.8	104.1			
		IM1w	2-200	2	6	3.4	105.8			
					75	3.4	104.6			
					175	2.5	104.4			
		IM4	2-200	2	6	3.7	107.6			
					75	4.2	102.8			
					175	3.9	105.7			
		IM4n	2-200	2	6	2.6	107.8			
					75	4.9	103.8			
					175	4.1	104.9			
		IM9	2-200	2	6	5.9	106.6			
					75	3.1	104.9			
					175	2.4	104.1			

（続く）

2.6.5.2.8　　全血中濃度測定のための品質管理試料の分析法バリデーションパラメータ（4）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種	分析方法	分析対象物	検量線範囲（ng/mL）	定量下限（ng/mL）	QC試料濃度（ng/mL）	精度[a]（%）	真度[a]（%）	バリデーション報告書番号	SOP番号	資料番号
ラット	LC/ESI/MS/MS	CsA	0.3-400	0.3	0.8	16.0	104.2	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1-13
					75	6.7	104.7			
					300	10.5	101.3			
	LC/APCI/MS	CsA	0.4-100	0.4	1	8.1	107.6			4.2.2.1-14
					40	6.9	107.5			
					90	7.8	107.3			
			100-2600	100	175	10.4	99.1			4.2.2.1-14
					1100	8.9	94.4			
					2400	8.5	99.9			
	LC/ESI/MS	CsA	2-1000	2	6	8.8	106.8			4.2.2.1-15
					200	4.9	106.0			
					800	5.7	101.7			
	LC/MS/MS	プレドニゾン	0.250-250	0.250	0.250	8.96	104.7			4.2.2.1-16
					0.750	8.60	102.3			
					2.00	5.31	101.1			
					8.00	4.66	100.5			
					32.0	5.51	99.2			
					190	4.19	99.8			
	LC/MS/MS	プレドニゾロン	0.250-250	0.250	0.250	8.50	97.6			4.2.2.1-16
					0.750	6.30	99.6			
					2.00	4.22	103.6			
					8.00	4.37	100.9			
					32.0	4.63	99.9			
					190	4.89	100.8			

（続く）

2.6.5.2.9　　全血中濃度測定のための品質管理試料の分析法バリデーションパラメータ（5）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種	分析方法	分析対象物	検量線範囲（ng/mL）	定量下限（ng/mL）	QC試料濃度（ng/mL）	精度[a]（%）	真度[a]（%）	バリデーション報告書番号	SOP番号	資料番号
ウサギ	LC/ESI/MS	mix-ISA247[b]	25-1000	25	40	6.0	101.3	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1-17
					400	4.7	102.3			
					850	4.4	107.2			
	LC/APCI/MS	シス異性体	1-800	1	3	4.4	99.6			4.2.2.1-18
					200	5.8	99.8			
					600	3.4	106.1			
	LC/APCI/MS	トランス異性体	1-800	1	3	6.1	104.2			4.2.2.1-18
					200	4.5	102.7			
					600	4.2	107.9			
	LC/ESI/MS/MS	IM1-Diol-1	2-200	2	6	3.1	100.1			4.2.2.1-19
					75	2.8	104.5			
					175	2.4	102.4			
		IM1c (R)	2-200	2	6	3.1	98.5			
					75	2.4	105.1			
					175	2.2	103.1			
		IM1w	2-200	2	6	3.0	99.8			
					75	3.2	106.2			
					175	2.1	102.0			
		IM4	2-200	2	6	3.2	100.9			
					75	2.6	105.0			
					175	2.0	102.2			

（続く）

2.6.5.2.10　　全血中濃度測定のための品質管理試料の分析法バリデーションパラメータ（6）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種	分析方法	分析対象物	検量線範囲（ng/mL）	定量下限（ng/mL）	QC試料濃度（ng/mL）	精度[a]（%）	真度[a]（%）	バリデーション報告書番号	SOP番号	資料番号
ウサギ	LC/ESI/MS/MS	IM4n	2-200	2	6	3.3	98.3	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1-19
					75	2.2	105.5			
					175	2.8	101.6			
		IM9	2-200	2	6	2.3	100.7			
					75	3.1	106.0			
					175	2.4	102.0			
イヌ	LC/ESI/MS	mix-ISA247[b]	10-2000	10	20	4.5	98.4			4.2.2.1-20
					450	5.4	102.7			
					1500	7.8	100.1			
サル	LC/ESI/MS	mix-ISA247[b]	2-1000	2	6	4.6	94.5			4.2.2.1-21
					200	3.6	98.2			
					800	4.3	93.2			
	LC/APCI/MS	シス異性体	4-1000	4	6	5.8	101.3			4.2.2.1-22
					75	5.0	93.2			
					800	4.2	97.2			
		トランス異性体	4-1000	4	6	5.1	102.7			
					75	5.3	95.3			
					800	2.3	101.0			
	O/SPE/LC/ESI/MS/MS	ボクロスポリン[b]	2-800	2	6	8.4	101.9			4.2.2.1-23
					400	5.7	100.7			
					650	5.2	103.2			

（続く）

2.6.5.2.11　　全血中濃度測定のための品質管理試料の分析法バリデーションパラメータ（7）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種	分析方法	分析対象物	検量線範囲（ng/mL）	定量下限（ng/mL）	QC試料濃度（ng/mL）	精度[a]（%）	真度[a]（%）	バリデーション報告書番号	SOP番号	資料番号
サル	LC/ESI/MS/MS	IM1-Diol-1	2-200	2	6	5.8	106.0	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1-24
					75	3.4	107.4			
					175	5.3	104.9			
		IM1c (R)	2-200	2	6	6.1	106.8			
					75	3.1	108.7			
					175	4.9	106.1			
		IM1w	2-200	2	6	6.3	106.7			
					75	3.3	109.7			
					175	4.5	104.8			
		IM4	2-200	2	6	5.9	106.5			
					75	2.6	108.9			
					175	4.3	106.5			
		IM4n	2-200	2	6	5.8	106.4			
					75	3.4	109.7			
					175	5.1	105.5			
		IM9	2-200	2	6	5.6	105.7			
					75	3.2	110.1			
					175	4.5	105.1			

CsA = シクロスポリンA，LC/APCI/MS = 液体クロマトグラフィー/大気圧化学イオン化/質量分析，LC/ESI/MS = 液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/質量分析，LC/ESI/MS/MS = 液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析，LC/MS/MS = 液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析，O/SPE/LC/ESI/MS =オンライン/固相抽出/液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/質量分析，O/SPE/LC/ESI/MS/MS =オンライン/固相抽出/液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析，QC = 品質管理

[a]測定日間の精度（相対標準偏差）及び真度（理論値に対する割合）のデータを示した。

[b]異性体を区別せずにシス型ISA247とトランス型ISA247の合計を測定する方法

[c]方法番号

2.6.5.2.12　　各種保存及び処理条件下での全血中化合物の安定性（1）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種	化合物	マトリクス中保存安定性[a]			抽出後保存室温[a] (h)	凍結融解[a]	最大稀釈	バリデーション報告書番号	安定性報告書番号	安定性報告書の資料番号
		室温 (h)	−20°C (日)	−80°C (日)						
マウス	ボクロスポリン	25.5	70	583	101.5	3	1:2	[redacted]		4.2.2.1-25 4.2.2.1-26
	IM1-Diol-1，IM1c IM9，IM4，IM4n	24	1	62	177	3	1:4			4.2.2.1-27 4.2.2.1-28
ラット	CsA	5	752	nd	72	3	1:10			4.2.2.1-29
	プレドニゾン（血漿）	25	NE	76 (−70°C)	106.75 (2-8°C)	4	1:4			4.2.2.1-16
	プレドニゾロン（血漿）	25	NE	76 (−70°C)	106.75 (2-8°C)	4	1:4			4.2.2.1-16
	シス異性体	4	637	NE	88	3	NE			4.2.2.1-30
	トランス異性体	4	752	NE	86	3	NE			4.2.2.1-29
	mix-ISA247	5	369	NE	69	3	1:2			4.2.2.1-31
	ボクロスポリン	24	362	364	64.5	5	1:5			4.2.2.1-32 4.2.2.1-33 4.2.2.1-34 4.2.2.1-35 4.2.2.1-36
	IM1-Diol-1，IM1w，IM1c (R)，IM4，IM4n，IM9	6 (4°C では24 h)	NE	314	111	5	1:4			4.2.2.1-37

（続く）

2.6.5.2.13　　各種保存及び処理条件下での全血中化合物の安定性（2）　　被験物質：ボクロスポリン

動物種	化合物	マトリクス中保存安定性[a]			抽出後保存室温[a] (h)	凍結融解[a]	最大稀釈	バリデーション報告書番号	安定性報告書番号	安定性報告書の資料番号
		室温 (h)	−20°C （日）	−80°C （日）						
ウサギ	mix-ISA247	5	182	NE	72	3	NE	[redacted]		4.2.2.1-38
	トランス異性体	4	757	NE	48	3	NE			4.2.2.1-39
	シス異性体	4	798	NE	48	3	NE			4.2.2.1-39
	IM1-Diol-1，IM1w，IM1c (R)，IM4，IM4n，IM9	25.5	NE	276	144	5	1:4			4.2.2.1-40
イヌ	mix-ISA247	5	NE	NE	60	NE	NE			NA
サル	mix-ISA247	5	1108	NE	72	3	NE			4.2.2.1-41
	シス異性体	6	119	NE	24	3	NE			4.2.2.1-42
	トランス異性体	6	128	NE	24	3	NE			4.2.2.1-42
	ボクロスポリン	24	NE	379	168	5	1:4			4.2.2.1-43
	IM1-Diol-1，IM1w，IM1c (R)，IM4，IM4n，IM9	22.5	NE	274	120	5	1:4			4.2.2.1-44

抽出保管はオートサンプラー安定性に等しい。

CsA＝ シクロスポリンA，NA＝ 該当せず，NE＝ 実施せず

[a]検討した最長時点

2.6.5.2.14 Stock Solution又は溶液中の安定性

化合物	溶媒	濃度	温度及び期間	安定性報告書番号	安定性報告書の資料番号
AM1	メタノール	1 mg/mL	−80°C：376日，室温：6.25時間		4.2.2.1-45
ボクロスポリン	メタノール	1 mg/mL	−20°C：365日，室温：6.25時間		4.2.2.1-46
CsA	エタノール	1 mg/mL	−20°C：366日，室温：24時間		4.2.2.1-47
重水素化ボクロスポリン	メタノール	1 mg/mL	−20°C，−80°C：377日，室温：6.5時間		4.2.2.1-48
CsA	Tween	20 mg/mL	−20°C：366日，室温：6時間		4.2.2.1-49
CsA	メタノール	1 mg/mL	−20°C：367日，室温：6.5時間		4.2.2.1-50
IM1-Diol-1，IM1-Diol-2，IM1-Diol-3，IM1c (R)，IM9，IM4，IM4n，IM1w	メタノール	0.1 mg/mL 混合液	室温：6時間		4.2.2.1-51
IM1-Diol-1，IM1-Diol-2，IM1-Diol-3，IM1c (R)，IM9，IM4，IM4n，IM1w	メタノール	1 mg/mL	−80°C：3.4年（IM1c (R)は367日）		4.2.2.1-52
ボクロスポリン	DMSO	1 mg/mL	4°C：48時間		4.2.2.1-53
Acetyl- CsA	メタノール	1 mg/mL	−20°C：610日，室温：6時間		4.2.2.1-54
Mix-ISA247	メタノール	1 mg/mL	−20°C：372日，室温：9時間		4.2.2.1-55
IMl-Diol-1，IMlc(R)，IMlc (S)，IM4，IM4n，IM9，IM9n	メタノール	0.1 mg/mL 混合液	−80°C：33月，室温：8時間		4.2.2.1-56
IM1c (R)，IM1c (S)，IM9n	メタノール	1 mg/mL	IM1c (S)，IM9n； −80°C：33月，室温：8時間 IM1c (R) ；−80°C：36月		
ボクロスポリン，Cis-ISA247	メタノール エタノール	1 mg/mL	−20°C：735日，室温：9.5時間		4.2.2.1-57
AM1，AM1c，AM19，AM9，AM1c9，AM4n，AM4n9，	メタノール	1 mg/mL	−80°C：5年		4.2.2.1-58

CsA＝ シクロスポリンA

IM1-Diol-1，IM1-Diol-2，IM1-Diol-3，IM1c (R)，IM1c (S)，IM9，IM9n，IM4，IM4n，IM1wはボクロスポリンの代謝物

AM1，AM1c，AM19，AM9，AM1c9，AM4n，AM4n9はCsAの代謝物

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3.1　薬物動態試験：吸収：単回投与（1）　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-15，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-01

動物種／系統	ラット／SD			
性別／動物数	雄／6[a]	雌／6[a]	雄／6[a]	雌／6[a]
給餌	絶食	絶食	絶食	絶食
溶媒[b]	標準	標準	PEG200/エタノール（98:2，v/v）	PEG200/エタノール（98:2，v/v）
投与方法	経口	経口	静脈内	静脈内
投与量（mg/kg）	5	5	5	5
試料	全血			
定量法	O/SPE/LC/ESI/MS			
分析対象物	ボクロスポリン[c]			
PKパラメータ				
t_{max}（h）	3	2	0.25[d]	0.25[d]
C_{max}（ng/mL）	307.1	271.8	5844	3923
AUC_{24h}（ng·h/mL）	2273.5	1129.9	27731	14673
AUC_{∞}（ng·h/mL）	2440.9	1155.4	31251	15189
$t_{1/2}$（h）	6.2	4.8	8.3	4.8
CL（静脈内），CL/F（経口）（mL/h/kg）	2048	4327	160	329
Vd（静脈内），Vd/F（経口）（mL/kg）	18306	30016	1927	2284
F（%）	7.8	7.6	NA	NA

PKパラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出，F＝ 絶対的バイオアベイラビリティ，NA＝ 該当なし，PEG＝ ポロエチレングリコール，SD＝Sprague-Dawley

[a]各時点 n＝3 でスパースサンプリングにより採血した。

[b]標準 ＝ ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT＝ 中鎖トリグリセリド，TPGS＝D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[c]方法は異性体特異的ではなかった。

[d]最初の計測時点

2.6.5.3.2　　薬物動態試験：吸収：単回投与（2）　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA05-18，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-02

動物種／系統	ラット／SD	
性別／動物数	雄／9[a]	雌／9[a]
給餌	絶食	絶食
溶媒[b]	標準	標準
投与方法	経口	経口
投与量（mg/kg）	5	5
試料	全血	
定量法	LSC	
分析対象物	[^{14}C]	
PKパラメータ		
t_{max}（h）	3	2
C_{max}（ng eq./mL）	565	455
AUC_t（ng eq.·h/mL）	4220 (t: 72 h)	3030 (t: 72 h)
AUC_∞（ng eq.·h/mL）	4530	3350
$t_{1/2}$（h）	28.7	41.1

PKパラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出，LSC＝ 液体シンチレーション計数法，SD＝Sprague-Dawley

[a]各時点 n＝3 でスパースサンプリングにより採血した。

[b]標準 ＝ ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT＝ 中鎖トリグリセリド，TPGS＝D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

2.6.5.3.3　　薬物動態試験：吸収：単回投与（3）　　被験物質：[^{3}H]-mix-ISA247

報告書番号：ISA00-25，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-03

動物種／系統	ラット／SD	
性別／動物数	雄／27[a]	雌／27[a]
給餌	絶食	絶食
溶媒[b]	標準	標準
投与方法	経口	経口
投与量（mg/kg）	25	25
試料	全血	
定量法	LSC	
分析対象物	[^{3}H]	
PKパラメータ		
t_{max}（h）	4	4
C_{max}（ng eq./mL）	1110	830
AUC_t（ng eq.·h/mL）	13000 (t: 48h)	10600 (t: 72h)
AUC_∞（ng eq.·h/mL）	13600	11000
$t_{1/2}$（h）	11.4	10.3

PKパラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出 LSC＝ 液体シンチレーション計数法，SD＝Sprague-Dawley

[a]各時点 n＝3 で採血した。

[b]標準 ＝ ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT＝ 中鎖トリグリセリド，TPGS＝D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

2.6.5.3.4　　薬物動態試験：吸収：単回投与（4）　　被験物質：ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247

報告書番号：ISA03-02，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.1.3-04

動物種	カニクイザル					
被験物質	ボクロスポリン		mix-ISA247		シス型ISA247	
性別／動物数	雌雄／各3		雌雄／各3		雌雄／各3	
給餌	絶食		絶食		絶食	
溶媒[a]	標準		標準		標準	
投与方法	経口		経口		経口	
投与量（mg/kg）	200		200		200	
試料	全血					
定量法	LC/APCI/MS					
分析対象物	シス異性体	トランス異性体	シス異性体	トランス異性体	シス異性体	トランス異性体
PKパラメータ（雄）[b]						
t_{max}（h）	3.7 ± 3.8	2.0 ± 0.0	3.3 ± 1.2	3.3 ± 1.2	2.0 ± 0.0	2.7 ± 1.2
C_{max}（ng/mL）	19.0 ± 4.5	495.4 ± 76.2	184.1 ± 47.3	291.4 ± 76.3	296.4 ± 18.4	5.9 ± 0.2
AUC_{24h}（ng·h/mL）	89.3 ± 41.8	3162.9 ± 350.8	1192.9 ± 415.1	2028.6 ± 684.3	1823.4 ± 571.6	20.3 ± 6.5
$t_{1/2}$（h）	NC	6.1 ± 0.4	2.9 ± 0.9	5.8 ± 1.0	6.2 ± 2.2	NC
PKパラメータ（雌）[b]						
t_{max}（h）	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	3.3 ± 1.2	3.3 ± 1.2	1.7 ± 0.6	2.0 ± 0.0
C_{max}（ng/mL）	13.6± 2.7	581.4 ± 106.0	183.2 ± 50.7	319.0 ± 92.1	274.5 ± 85.7	6.4 ± 1.5
AUC_{24h}（ng·h/mL）	71.5 ± 14.0	3906.1 ± 849.1	1260.9 ± 544.8	2383.3 ± 1012.4	1578.9 ± 608.5	21.6 ± 14.3
$t_{1/2}$（h）	NC	6.2 ± 0.8	4.1 ± 1.4	6.1 ± 1.2	7.8 ± 3.0	NC

平均値 ± 標準偏差（n = 3），NC = 算出せず

[a]標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[b]ISA03-02試験，Addendum 5のTable 4.3-1～3の個体別値より平均値と標準偏差を算出

2.6.5.3.5　　薬物動態試験：吸収：単回投与（5）　　被験物質：mix-ISA247

報告書番号：ISA02-07，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.1.3-03

動物種	カニクイザル		
性別／動物数	雌／2	雌／2	雌／2
給餌	食後	食後	食後
溶媒[a]	標準	標準	標準
投与方法	経口	経口	経口
投与量（mg/kg）	20	60	200
試料	全血		
定量法	LC/ESI/MS		
分析対象物	mix-ISA247	mix-ISA247	mix-ISA247
PKパラメータ（雌）[b]			
t_{max}（h）	3	4	3
C_{max}（ng/mL）	32.3	274.8	604.8
AUC_{24h}（ng·h/mL）	368.0	2722.0	6701.7
$t_{1/2}$（h）	8.0	4.0	4.6

平均値（n = 2）

[a]標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[b]ISA02-07試験，Addendum 4のTable 4.3-1の個体別値より平均値を算出

2.6.5.3.6　　薬物動態試験：吸収：単回投与（6）　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-01，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-04

動物種	カニクイザル			
性別／動物数	雄／2		雌／2	
給餌	絶食		絶食	
溶媒[a]	標準		標準	
投与方法	経口		経口	
投与量（mg/kg）	40		40	
試料	全血			
定量法	LSC（[^{14}C]），LC/MS/MS（ボクロスポリン）			
分析対象物	[^{14}C]	ボクロスポリン[b]	[^{14}C]	ボクロスポリン[b]
PKパラメータ[c]				
C_{max}（ng/mL又はng eq./mL）	549	205	516	166
t_{max}（h）	3	3	2.5	2.5
AUC_t（ng·h/mL又はng eq.·h/mL）	4255 (0-24), 9400	1580	3760 (0-24), 7935	1185
AUC_∞（ng·h/mL又はng eq.·h/mL）	23500[d]	1850	13750[d]	1310[d]
V_z/F（mL/kg）	NC	258500	NC	224000[d]
CL/F（mL/h/kg）	NC	20500	NC	28400[d]
k（1/h）	0.0021[d]	0.0789	0.0037[d]	0.1038[d]
$t_{1/2}$（h）	395.1[d]	8.8	195.9[d]	7.0[d]

平均値（n = 2），CL/F = 見かけのクリアランス，k = 終末相速度定数，LSC = 液体シンチレーション計数法，NC = 算出せず，Vz/F = 見かけの分布容積

[a]標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[b]方法は異性体特異的ではなかった。

[c]ISA08-01試験のTable 3の個体別値より算出

[d]データが判定基準を満たさなかったため，値は参考値として扱う。

2.6.5.4　薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.5.4.1　薬物動態試験：吸収：反復投与（1）　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：ISA05-08，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-05

動物種／系統	ラット／SD	ラット／SD
性別／動物数	雄／12[a]	雌／12[a]
給餌	絶食	絶食
溶媒[b]	nVE	nVE
投与方法	経口	経口
投与量（mg/kg）	25	25
試料	全血	
定量法	LC/ESI/MS	
分析対象物	ボクロスポリン[c]	
PKパラメータ（Day 10）		
t_{max}（h）	3	2
C_{max}（ng/mL）	958.3	638.4
AUC_{24h}（ng·h/mL）	13482.5	4573.1
$t_{1/2}$（h）	11.6	6.6

PKパラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出，SD = Sprague-Dawley

[a]各時点 n = 3 でスパースサンプリングにより採血した。

[b] nVE = ビタミンE非配合製剤 = Tween 40:Miglyol 812:95%エタノール ([redacted]，w/w/w)

[c]方法は異性体特異的ではなかった。

2.6.5.4.2　　薬物動態試験：吸収：反復投与（2）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：ISA05-10，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-06

動物種／系統	ラット／SD		ラット／SD		ラット／SD		ラット／SD	
性別／動物数	雌雄／各9[a]		雌雄／各9[a]		雌雄／各9[a]		雌雄／各9[a]	
給餌	絶食		絶食		絶食		絶食	
溶媒[b]	nVE		nVE		nVE		標準	
投与方法	経口		経口		経口		経口	
投与量（mg/kg）	2.5		10		25		25	
試料	全血							
定量法	LC/ESI/MS							
分析対象物	ボクロスポリン[c]							
Day	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10
PKパラメータ（雄）								
t_{max}（h）	2	4	4	4	2	2	2	4
C_{max}（ng/mL）	413	236	1183	1236	2280	2872	2036	2375
AUC_{24h}（ng·h/mL）	3383	2546	12632	13863	21636	30883	23924	31710
$t_{1/2}$（h）	5.5	5.6	6.7	7.2	11.3	10.2	6.7	7.3
PKパラメータ（雌）								
t_{max}（h）	2	2	2	1	2	1	1	2
C_{max}（ng/mL）	411	124	1141	1393	2255	2029	1169	1672
AUC_{24h}（ng·h/mL）	1738	731	6950	7882	17918	15873	10209	10821
$t_{1/2}$（h）	5.4	3.9	4.8	4.4	5.5	5.8	4.5	4.6

PKパラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出，SD = Sprague-Dawley

[a]各時点 n = 3 でスパースサンプリングにより採血した。

[b]標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)，nVE = ビタミンE非配合製剤 = Tween 40/MCT油/95%エタノール（[redacted]，w/w/w）溶媒

MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[c]方法は異性体特異的ではなかった。

2.6.5.4.3　　薬物動態試験：吸収：反復投与（3）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-14，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-07

動物種／系統	ラット／SD				ラット／SD			
性別／動物数	雄／6（Day 1），9（Day 10）[a]				雌／6（Day 1），9（Day 10）[a]			
給餌	絶食				絶食			
溶媒[b]	標準				標準			
投与方法	経口				経口			
投与量（mg/kg）	2.5		25		2.5		25	
試料	全血							
定量法	LC/ESI/MS							
分析対象物	ボクロスポリン[c]							
Day	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10
PKパラメータ								
t_{max}（h）	2	2	2	2	2	2	2	2
C_{max}（ng/mL）	84.8	93.3	2472.6	2596.3	90.4	71.1	1920.2	1471.8
AUC_{24h}（ng·h/mL）	488.6	641.8	21704.0	25343.5	334.5	291.4	10475.5	8253.4
$t_{1/2}$（h）	6.8	10.7	7.1	7.9	3.5	4.6	5.4	4.3

PKパラメータは各時点3例の平均濃度推移より算出，SD = Sprague-Dawley

[a]各時点 n = 3 でスパースサンプリングにより採血した。

[b]標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[c]方法は異性体特異的ではなかった。

2.6.5.4.4　　薬物動態試験：吸収：反復投与（4）　　被験物質：mix-ISA247

報告書番号：ISA01-17，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-08

動物種／系統	ラット／SD							
性別／動物数	雌雄／各10[a]							
給餌	食後							
溶媒[b]	標準							
投与方法	経口							
投与量（mg/kg）	2.5		5		10		25	
試料	全血							
定量法	LC/ESI/MS							
分析対象物	mix-ISA247							
Day	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10
PKパラメータ（雄）								
t_{max}（h）	4	4	4	4	1	1	1	4
C_{max}（ng/mL）	57.52	72.51	132.01	91.58	343.71	466.55	1091.59	885.77
AUC_{∞}（ng·h/mL）	741.37	611.46	1431.12	1074.34	3571.67	4959.39	14837.34	17986.26
$t_{1/2}$（h）	10.55	4.52	5.59	8.51	5.89	8.68	5.51	9.99
PKパラメータ（雌）								
t_{max}（h）	1	1	1	1	1	1	1	1
C_{max}（ng/mL）	34.35	42.17	113.41	72.76	341.14	259.20	916.44	837.65
AUC_{∞}（ng·h/mL）	251.53	216.47	838.65	535.63	2347.75	1567.66	6480.10	6909.35
$t_{1/2}$（h）	1.99	Missing	5.15	2.22	3.22	3.19	4.76	7.06

（続く）

（続き）　　報告書番号：ISA01-17，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-08

投与量（mg/kg）	40[c]		40[d]		80[d]		80[e]	
Day	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10
PKパラメータ（雄）								
t_{max}（h）	1	4	4	1	4	4	1	4
C_{max}（ng/mL）	1783.06	1719.83	1508.82	2120.46	1844.80	2156.41	1878.02	2430.07
AUC_{∞}（ng·h/mL）	27096.63	23648.46	25042.14	36684.46	33712.14	34221.22	26630.61	34183.41
$t_{1/2}$（h）	9.09	10.45	8.62	12.20	11.20	12.40	8.13	10.88
PKパラメータ（雌）								
t_{max}（h）	1	1	1	1	1	1	0.5	1
C_{max}（ng/mL）	1481.79	1369.39	1598.50	1441.08	1455.17	1385.25	1424.94	1874.47
AUC_{∞}（ng·h/mL）	10758.54	8714.51	11831.91	9936.11	12049.94	11870.30	9280.94	15703.66
$t_{1/2}$（h）	4.89	7.47	5.96	7.36	4.70	8.96	4.66	7.02

PKパラメータは各時点5例の平均濃度推移より算出，Missing＝ 算出できなかった，SD＝Sprague-Dawley

[a]各時点 n＝5 でスパースサンプリングにより採血した。

[b]標準 ＝ ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)，特に断りのない限り，投与容量は1 mL/kg

MCT＝ 中鎖トリグリセリド，TPGS＝D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[c]0.4 mL/kg（副次的目的は，投与容量の影響を検討することであった）。

[d]0.8 mL/kg（副次的目的は，投与容量の影響を検討することであった）。

[e]1.6 mL/kg（副次的目的は，投与容量の影響を検討することであった）。

2.6.5.4.6　　薬物動態試験：吸収：反復投与（6）　　被験物質：ボクロスポリン，mix-ISA247

報告書番号：ISA08-26，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-09

動物種／系統	ウサギ／NZW				ウサギ／NZW			
被験物質	ボクロスポリン				mix-ISA247			
性別／動物数	雌／4				雌／4			
給餌	絶食				絶食			
溶媒[a]	標準				標準			
投与方法	経口				経口			
投与量（mg/kg）	20				20			
試料	全血							
定量法	LC/APCI/MS							
分析対象物	シス異性体		トランス異性体		シス異性体		トランス異性体	
Day	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10
PKパラメータ								
t_{max}（h）	4	4	4	4	1	4	1	4
C_{max}（ng/mL）	4.6	4.4	81.4	90.2	39.0	25.6	53.3	55.4
AUC_{24h}（ng·h/mL）[b]	34.5 (5%)	36.3 (4%)	722.5 (95%)	901.9 (96%)	215.5 (38%)	264.9 (32%)	355.2 (62%)	572.6 (68%)

PKパラメータは各時点4例の平均濃度推移より算出，NZW = New Zealand White

[a]標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[b]（　　）内の数値は総AUCに対する異性体比を示す。

2.6.5.4.7　　薬物動態試験：吸収：反復投与（7）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-13，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-10

動物種	カニクイザル		カニクイザル		カニクイザル		カニクイザル	
性別／動物数	雄／2		雄／2		雌／2		雌／2	
給餌	絶食		絶食		絶食		絶食	
溶媒[a]	標準		標準		標準		標準	
投与方法	経口		経口		経口		経口	
投与量（mg/kg）	40		150		40		150	
試料	全血							
定量法	O/SPE/LC/ESI/MS/MS							
分析対象物	ボクロスポリン[b]							
Day	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10	Day 1	Day 10
PKパラメータ								
t_{max}（h）	4.0	3.5	2.5	2.5	4.0	5.5	5.5	3.0
C_{max}（ng/mL）	127.4	97.5	561.9	334.0	97.5	105.6	653.7	528.3
AUC_{24h}（ng·h/mL）	1726.0	1017.6	4736.1	2445.3	1266.3	1225.4	9657.0	4464.4
$t_{1/2}$（h）	7.8	8.4	5.8	6.9	5.9	6.2	13.5	5.4

平均値（n = 2）

[a]標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[b]方法は異性体特異的ではなかった。

2.6.5.5　薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1　薬物動態試験：分布（1）　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA05-18，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-02

動物種／系統	ラット／SD（アルビノ）						
性別／動物数	雌雄／時点ごとに各2						
給餌	絶食						
溶媒	ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）						
投与方法	経口						
投与量（mg/kg）	5						
分析対象物	[^{14}C]（QWBAで測定）						
比放射能	42.6 μCi/mg						
採取時点	1，2，4，8，12，24，及び72時間						
濃度（μg-eq./g）							
組織/器官[a] ／時間（h）	1	2	4	8	12	24	72
副腎（雄）	0.805	1.04	1.01	0.567	0.234	0.078	0.053
副腎（雌）	0.449	1.22	0.734	0.322	0.129	0.047	BLQ
骨髄（雄）	0.150	0.431	0.681	0.447	0.333	0.082	BLQ
骨髄（雌）	0.126	0.382	0.446	0.328	0.210	0.062	BLQ
食道壁（雄）	1.33	0.422	0.143	0.249	0.119	0.038	BLQ
食道壁（雌）	0.128	0.157	0.121	0.079	BLQ	BLQ	BLQ
眼窩外涙腺（雄）	BLQ	0.166	0.312	0.405	0.361	0.288	0.192
眼窩外涙腺（雌）	0.090	0.218	0.338	0.566	0.278	0.258	0.076
脂肪（褐色）（雄）	BLQ	0.417	0.360	0.550	0.232	0.039	BLQ
脂肪（褐色）（雌）	0.165	0.408	0.435	0.288	0.160	0.051	BLQ

（続く）

濃度（μg-eq./g）							
組織/器官 ／時間（h）	1	2	4	8	12	24	72
小腸壁（雄）	21.0	7.53	9.91	1.42[b]	0.941	0.204	BLQ
小腸壁（雌）	17.5	15.0	3.24	1.10	1.04	0.368	BLQ
大腸壁（雄）	BLQ	0.214	0.974	1.14	1.13	0.154	0.025
大腸壁（雌）	BLQ	0.334	6.37	0.988	0.450	0.123	BLQ
腎臓（雄）	0.322	1.37	1.57	0.901	0.505	0.255	0.070
腎臓（雌）	0.511	1.15	0.828	0.548	0.201	0.118	0.063
肝臓（雄）	1.43	3.39	2.18	1.14	0.509	0.156	0.056
肝臓（雌）	2.04	3.39	1.88	0.707	0.355	0.114	0.039
下顎リンパ節（雄）	BLQ	0.214	0.178	0.510	0.320	0.110	BLQ
下顎リンパ節（雌）	0.087	0.192	0.316	0.332	0.241	0.087	BLQ
腸間膜リンパ節（雄）	BLQ	0.296	1.52	1.18	0.408	0.063[b]	BLQ
腸間膜リンパ節（雌）	0.076	0.676	0.733	0.652	0.443	0.093	BLQ
心筋（雄）	0.168	0.502	0.408	0.165	0.073	0.045	BLQ
心筋（雌）	0.142	0.485	0.239	0.114	0.065	BLQ	BLQ
卵巣（雌）	0.260	0.542	0.461	0.655	0.188	0.116	BLQ
膵臓（雄）	0.378	0.560	1.23	1.05	0.761	0.383	0.092
膵臓（雌）	0.251	0.669	0.957	0.899	0.693	0.360	0.049
下垂体（雄）	BLQ	0.497	0.411	0.330	0.190	0.078	BLQ
下垂体（雌）	0.177	0.561	0.375	0.206	0.086	0.038	BLQ

（続く）

濃度（μg-eq./g）							
組織/器官 ／時間（h）	1	2	4	8	12	24	72
唾液腺（雄）	0.072	0.420	0.727	0.838	0.483	0.210	BLQ
唾液腺（雌）	0.112	0.427	0.534	0.641	0.329	0.120	BLQ
脾臓（雄）	0.634	1.23	1.36	0.699	0.360	0.124	0.038
脾臓（雌）	0.817	1.58	1.07	0.661	0.185	0.076	BLQ
胃壁（雄）	2.35	0.770	0.275	0.247	0.215	0.082	BLQ
胃壁（雌）	0.501	1.93	0.956	0.246	0.177	0.062	BLQ
甲状腺（雄）	BLQ	0.829	0.779	1.04	0.755	0.305	BLQ
甲状腺（雌）	0.289	0.627	0.732	0.855	0.579	0.181	BLQ
子宮（雌）	BLQ	0.133	0.177	1.02	0.108	0.075	BLQ
膣/子宮頚部（雌）	BLQ	0.128	0.263[b]	1.57	0.143	0.067	BLQ

平均値（n = 2），BLQ = 定量限界（0.025 μg-eq/g）未満，MCT = 中鎖トリグリセリド，QWBA = 定量的全身オートラジオグラフィー，SD = Sprague-Dawley，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[a]大動脈，大静脈，脳，脊髄，眼，肺，ハーダー腺，眼窩内涙腺，胸腺，精巣上体（雄），前立腺（雄），精嚢（雄），精巣（雄），乳腺（雌），骨表面，腹部脂肪，骨格筋，皮膚，気管，及び膀胱壁を検討したが，雌雄ともC_{max}が≤ 0.5 μg-eq./gであったため濃度は示していない。

[b]n = 1

2.6.5.5.4　　薬物動態試験：分布（4）　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA05-18，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-02

動物種／系統	ラット／Lister Hooded（有色）								
性別／動物数	雄／時点ごとに1								
給餌	絶食								
溶媒	ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）								
投与方法	経口								
投与量（mg/kg）	4.11-4.31								
分析対象物	[^{14}C]（LSCで測定）								
比放射能	42.6 µCi/mg								
採取時点	1，2，4，8，24，72，240，336，及び504時間								
濃度（µg-eq./g）									
組織/器官 ／時間（h）	1	2	4	8	24	72	240	336	504
全血	0.202	0.343	0.178	0.102	0.020	0.007	0.007	ND	ND
眼	0.063	0.090	0.054	0.038	0.023	0.025	0.007	0.007	ND
腎臓	0.408	1.08	0.993	0.598	0.167	0.079	0.009	0.010	ND
肝臓	2.43	4.75	2.94	1.66	0.270	0.079	ND	ND	ND
皮膚（非有色）	0.029	0.089	0.133	0.161	0.080	0.026	ND	ND	ND
皮膚（有色）	0.048	0.125	0.138	0.186	0.085	0.024	ND	ND	ND

LSC＝ 液体シンチレーション計数法，MCT＝ 中鎖トリグリセリド，ND＝ 検出せず，TPGS＝D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

2.6.5.5.5　　薬物動態試験：分布（5）　　被験物質：[^{3}H]-mix-ISA247

報告書番号：ISA00-25，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-03

動物種／系統	ラット／SD								
性別／動物数	雌雄／時点ごとに各3								
給餌	絶食								
溶媒	ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）								
投与方法	経口								
投与量（mg/kg）	25								
分析対象物	[^{3}H]（LSCで測定）								
比放射能	2.3 Ci/mmol								
採取時点	1，2，4，8，12，24，48，及び72時間								
濃度（μg-eq./g）									$t_{1/2}$（h）
組織/器官[a] ／時間（h）	1	2	4	8	12	24	48	72	
脂肪（雄）	0.09	0.41	5.12	2.26	2.33	1.28	0.28	0.21	18.4
脂肪（雌）	0.26	0.96	3.75	2.88	1.13	0.62	0.28	0.12	20.3
副腎（雄）	2.41	2.40	4.13	3.07	1.75	0.85	0.14	0.10	15.5
副腎（雌）	2.48	4.47	4.08	4.02	0.98	0.62	0.10	0.03	11.0
大動脈（雄）	0.35	2.34	4.57	1.99	1.32	0.55	0.13	0.07	16.1
大動脈（雌）	0.89	1.90	2.52	2.76	0.41	0.46	0.10	0.00	16.2
血液（雄）	0.27	0.61	1.11	0.51	0.36	0.17	0.04	0.00	11.4
血液（雌）	0.26	0.43	0.83	0.53	0.21	0.14	0.02	0.03	10.3[b]
骨髄（雄）	0.27	0.85	2.49	1.88	1.97	0.79	0.14	0.09	15.3
骨髄（雌）	0.24	0.74	2.31	2.71	1.15	0.55	0.15	0.07	16.1
屍体（雄）	1.15	0.44	1.06	0.89	1.05	0.59	0.21	0.12	NA
屍体（雌）	0.90	0.58	1.10	0.92	1.07	0.35	0.21	0.13	NA
盲腸（雄）	1.59	1.79	30.16	52.81	16.07	11.03	0.44	0.15	7.7
盲腸（雌）	0.53	4.87	45.88	74.97	26.70	7.71	1.03	0.39	11.1

（続く）

（続き）　　報告書番号：ISA00-25，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-03

濃度（μg-eq./g）									$t_{1/2}$（h）
組織/器官[a] ／時間（h）	1	2	4	8	12	24	48	72	
大脳皮質（雄）	0.10	0.08	0.10	0.15	0.12	0.08	0.06	0.04	48.0
大脳皮質（雌）	0.14	0.06	0.10	0.33	0.09	0.06	0.04	0.04	82.1
頚部（雄）	0.06	0.66	0.21	0.23	0.30	0.13	0.02	0.02	17.8
頚部（雌）	2.68	0.38	0.33	0.61	0.12	0.02	0.00	0.01	ID
結腸（雄）	1.29	3.09	34.06	60.10	22.58	4.91	0.43	0.15	9.5
結腸（雌）	2.35	4.43	36.28	75.56	20.85	8.67	0.75	0.14	8.1
十二指腸（雄）	75.99	68.65	44.86	5.50	6.31	1.90	0.32	0.18	11.7
十二指腸（雌）	74.61	52.18	37.23	18.34	7.27	8.40	0.45	0.20	10.1
食道（雄）	41.79	83.99	34.57	0.75	0.78	0.42	0.10	0.05	14.7
食道（雌）	99.98	121.88	31.14	7.81	0.82	1.06	0.10	0.05	12.8
眼（雄）	0.08	1.93	1.18	0.86	0.24	0.15	0.05	0.04	25.2
眼（雌）	0.09	1.09	0.30	1.22	0.20	0.08	0.03	0.03	33.9
心臓（雄）	0.38	1.06	1.91	1.02	0.70	0.31	0.09	0.07	22.4
心臓（雌）	0.59	0.77	1.59	1.25	0.40	0.24	0.08	0.06	24.0
回腸（雄）	132.26	97.05	134.86	14.42	8.52	2.46	0.29	0.16	10.3
回腸（雌）	44.91	110.24	100.81	13.26	5.86	12.94	0.81	0.11	9.2
大腸内容物（雄）	0.19	0.95	47.18	87.51	47.34	10.52	0.96	0.38	NA
大腸内容物（雌）	0.13	2.75	34.77	80.09	18.11	10.86	1.76	0.13	NA
小腸内容物（雄）	33.43	46.09	51.84	3.34	3.26	0.55	0.08	0.04	NA
小腸内容物（雌）	22.55	33.14	40.54	5.73	1.50	2.55	0.25	0.04	NA
空腸（雄）	130.30	117.60	71.34	8.16	8.44	2.05	0.32	0.19	11.0
空腸（雌）	135.70	161.23	90.57	16.97	6.62	11.83	0.81	0.17	9.9

（続く）

（続き）　　報告書番号：ISA00-25，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-03

濃度（μg-eq./g）									$t_{1/2}$（h）
組織/器官[a] ／時間（h）	1	2	4	8	12	24	48	72	
腎臓（雄）	1.03	2.69	5.76	3.35	2.25	1.85	0.43	0.33	19.6
腎臓（雌）	1.07	2.18	4.21	3.38	1.43	1.07	0.55	0.55	41.1
肝臓（雄）	3.36	7.03	11.58	5.30	4.05	1.62	0.38	0.23	17.0
肝臓（雌）	5.17	7.74	10.62	7.57	2.72	1.77	0.44	0.16	13.8
腰部（雄）	2.14	0.20	2.69	1.77	0.05	0.01	0.00	0.00	ID
腰部（雌）	5.09	0.60	8.24	0.46	0.17	0.09	0.00	0.00	ID
肺（雄）	1.07	2.33	3.41	1.30	1.12	0.48	0.13	0.10	17.0
肺（雌）	2.68	1.37	7.13	1.91	0.53	0.41	0.11	0.08	20.3
腸間膜リンパ節（雄）	0.86	1.65	5.59	2.76	3.21	1.78	0.38	0.21	15.6
腸間膜リンパ節（雌）	0.87	1.19	4.18	3.23	2.06	1.06	0.32	0.10	14.1
上腕リンパ節（雄）	0.54	0.80	1.76	2.21	2.00	1.07	0.19	0.10	14.0
上腕リンパ節（雌）	0.66	0.75	1.30	1.74	1.18	0.47	0.22	0.08	18.8
乳腺（雄）	0.10	0.36	1.35	1.55	1.91	1.74	0.42	0.23	16.4
乳腺（雌）	0.13	0.30	0.87	1.47	1.17	0.81	0.30	0.11	16.7
胸部中部（雄）	0.00	3.47	0.24	0.14	0.11	0.00	0.00	0.00	ID
胸部中部（雌）	11.59	0.71	0.80	0.51	0.05	0.00	0.00	0.00	ID
卵巣（雌）	0.52	1.65	4.48	2.66	0.79	0.50	0.20	11.71	20.9
膵臓（雄）	0.41	1.44	3.84	4.10	3.37	1.89	0.47	0.22	15.5
膵臓（雌）	0.37	1.10	3.73	4.71	2.51	1.35	0.40	0.13	14.2
末梢神経（雄）	0.06	1.48	0.83	1.13	0.47	0.62	0.13	0.04	15.2
末梢神経（雌）	0.88	1.28	1.17	1.46	0.67	0.44	0.00	0.00	ID
下垂体（雄）	0.22	1.45	3.09	5.00	0.85	0.73	0.00	0.00	ID
下垂体（雌）	2.98	1.61	2.48	3.24	0.55	0.26	0.00	0.00	ID

（続く）

濃度（μg-eq./g）									$t_{1/2}$（h）
組織/器官[a] ／時間（h）	1	2	4	8	12	24	48	72	
直腸（雄）	1.32	1.60	21.31	47.96	41.97	12.51	0.38	0.15	7.5
直腸（雌）	1.82	0.45	14.26	53.74	11.76	3.80	1.44	0.18	10.9
唾液腺（雄）	0.47	0.88	2.81	2.72	2.77	1.57	0.27	0.15	14.2
唾液腺（雌）	0.33	1.42	3.63	3.43	1.53	0.95	0.15	0.08	13.4
皮膚（雄）	0.10	0.25	0.82	0.84	0.75	0.60	0.15	0.11	19.6
皮膚（雌）	0.23	0.45	0.73	1.25	0.68	0.45	0.16	0.08	19.3
脾臓（雄）	0.96	2.56	4.72	3.07	2.32	0.88	0.18	0.12	16.7
脾臓（雌）	0.85	2.00	4.20	3.50	1.26	0.67	0.15	0.09	16.6
胃（雄）	291.64	232.37	99.51	2.30	2.90	1.39	0.24	0.54	22.0
胃（雌）	352.53	141.22	64.21	6.19	4.73	21.64	0.52	0.47	12.4
胃内容物（雄）	91.43	83.29	48.91	0.23	2.62	0.41	0.02	0.02	NA
胃内容物（雌）	53.21	55.70	18.08	4.37	3.98	3.65	0.12	0.01	NA
胸腺（雄）	0.12	2.00	0.97	0.99	1.08	1.01	0.25	0.15	17.4
胸腺（雌）	0.14	1.18	1.17	1.25	0.71	0.58	0.23	0.10	18.9
甲状腺/副甲状腺（雄）	0.46	2.48	5.12	5.90	3.79	1.91	0.12	0.08	10.5（甲状腺）
甲状腺/副甲状腺（雌）	5.77	3.23	5.04	6.43	1.24	0.92	0.08	0.00	8.7（甲状腺）
気管（雄）	0.67	10.99	1.08	1.55	0.74	0.29	0.11	0.06	17.1
気管（雌）	4.66	2.22	16.86	3.51	0.48	0.35	0.05	0.04	15.1
膀胱（雄）	0.38	0.66	1.48	1.96	1.30	0.52	0.13	0.09	19.0
膀胱（雌）	0.26	0.47	1.15	1.62	0.77	0.38	0.11	0.06	18.0
子宮（雌）	0.15	0.36	0.94	1.08	0.57	0.39	0.21	0.10	24.4
膣/子宮頚部（雌）	0.17	0.33	1.01	1.56	0.49	0.36	0.20	0.10	26.0

平均値（n = 3），ID = データ不十分のため算出せず，LSC = 液体シンチレーション計数法，MCT = 中鎖トリグリセリド，NA = 該当せず，SD = Sprague-Dawley，$t_{1/2}$ = 消失半減期，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[a]精巣上体，中脳，小脳，延髄，前立腺，精嚢，骨格筋，精巣，及び骨を検討したが，濃度は≤ 1.00（μg-eq./g）であったため示していない。

[b]この半減期は，雄で用いた同じ範囲（12～48時間）を用いて算出した。72時間の濃度を含めると，半減期は18.6時間であった。

2.6.5.5.9　　薬物動態試験：分布（9）　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-01，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-04

動物種	カニクイザル			
性別／動物数	雌雄／時点ごとに各1			
給餌	絶食			
溶媒	ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）			
投与方法	経口			
投与量（mg/kg）	40			
分析対象物	[^{14}C]（LSCで測定）			
比放射能	57 mCi/mmol（46.9 µCi/mg ≡ 1.74 MBq/mg）			
採取時点	2，24，及び168時間			
濃度（µg-eq./g）				
組織/器官 ／時間（h）	2 h (1M)	2 h (1F)	24 h (1M)	168 h (1F)
副腎	395	640	307	144
大動脈	192	5660	118	67.6
胆汁（胆嚢内容物）	91800	48700	178000	1070
骨髄（大腿由来）	283	421	241	127
骨（大腿，骨髄除去）	45.3	48.8	19.9	22.8
脳	131	135	43.5	26.7
脳脊髄液	44.4	40.5	BLQ	BLQ
眼	48.4	47.3	13.6	BLQ
脂肪（腎臓周囲）	312	197	297	65.4
心臓	287	433	138	68.8
大腸壁	120000	60200	18900	204
小腸壁	11500	31900	1050	333
腎臓	949	1440	365	142
涙腺	286	415	424	111

（続く）

濃度（µg-eq./g）				
組織/器官 ／時間（h）	2 h (1M)	2 h (1F)	24 h (1M)	168 h (1F)
肝臓	6700	11800	3000	866
肺	442	1490	169	127
腸間膜リンパ節	2070	2880	712	259
乳腺（雌）	NA	158	NA	465
筋肉（骨格筋）	130	127	71.3	57.8
卵巣（雌）	NA	446	NA	60.1
膵臓	615	1040	481	120
下垂体	304	806	286	88.6
前立腺（雄）	148	NA	107	NA
唾液腺	449	588	446	86.3
皮膚（有色）	111	126	83.5	885
皮膚（非有色）	104	116	79.7	400
脊髄	70.1	84.7	34.4	23.1
脾臓	549	1160	253	120
胃壁	2620	142000	271	198
精巣（雄）	147	NA	102	NA
胸腺	190	251	225	108
甲状腺	202	453	177	75.7
膀胱	130	977	105	56.6
子宮（雌）	NA	255	NA	102
大静脈	194	368	109	47.9

BLQ＝ 定量限界未満［定量下限値（LLOQ）：脳脊髄液（雄）= 12.5 ng eq/g，脳脊髄液（雌） = 10.4 ng eq/g，眼 = 12.3 ng eq/g］，LSC＝ 液体シンチレーション計数法，MCT ＝ 中鎖トリグリセリド，NA＝ 該当せず，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

2.6.5.5.11　　薬物動態試験：分布（血球移行）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：ISA09-26，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.3-01

被験物質	ボクロスポリン	
動物種	ヒト	
濃度（ng/mL）	10，300，600	
全血/血漿比	4°C平衡化（4時間）：0.9-1.4 （37°Cでのインキュベーション時間によらない）	22°C平衡化（4時間）： 37°Cでのインキュベーション時間： 0分　：5.1-6.3 30分：1.6-1.9 60分：1.5-2.0
結論	試験の結果から，ボクロスポリンは赤血球中に広範囲に移行することが示された。ボクロスポリンの分布に対して温度の影響は認められたが，濃度の影響は認められなかった。	

なお，mix-ISA247（濃度：50-2000 ng/mL）の赤血球/血漿比は2.0-2.8（37 Cでのインキュベーション時間：20～120分）であり，mix-ISA247も赤血球中に分布することが報告されている（報告書番号：ISA00-26，資料番号4.2.2.3-05，参考資料）。

2.6.5.6　薬物動態試験：タンパク結合

2.6.5.6.1　薬物動態試験：タンパク結合（未変化体）　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-29，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.3-02

試験系	*In vitro*	
被験物質	[^{14}C]-ボクロスポリン	
試料	血漿	
方法	平衡透析	
分析対象物	[^{14}C]	
タンパク結合率（%）		
動物種	検討濃度（ng/mL）	結合率（%）（相対標準偏差）
マウス	50-1000	98.31 (0.27)
ラット	50-2000	98.34 (0.32)
ウサギ	20-200	97.35 (0.24)
イヌ	50-2000	97.77 (0.03)
サル	50-1000	97.60 (0.37)
ヒト	50-800	96.97 (0.29)

平均値（n = 3）

2.6.5.6.2　　薬物動態試験：タンパク結合（主要代謝物）　　被験物質：IM9

報告書番号：AUR-VCS-20[redacted]-02，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.3-03

試験系	*In vitro*		
被験物質	IM9		
試料	血漿，HSA，ヒトAAG		
方法	平衡透析		
測定法	LC-MS/MS		
IM9の非結合率（%）及びタンパク結合率（%）[a]			
マトリクス	検討濃度（μmol/L）		
	0.1	1	10
ラット血漿	26.8 ± 7.7 (73.2)	28.5 ± 7.1 (71.5)	32.4 ± 1.3 (67.6)
イヌ血漿	18.8 ± 2.3 (81.2)	21.4 ± 0.3 (78.6)	30.5 ± 2.3 (69.5)
サル血漿	25.8 ± 3.5 (74.2)	34.6 ± 4.5 (65.4)	44.6 ± 1.5 (55.4)
ヒト血漿	27.6 ± 5.6 (72.4)	30.1 ± 3.3 (69.9)	38.7 ± 2.1 (61.3)
ヒトAAG（1 mg/mL）	35.7 ± 4.0 (64.3)	49.3 ± 4.5 (50.7)	46.7 ± 1.3 (53.3)
HSA（40 mg/mL）	71.2 ± 6.0 (28.8)	65.6 ± 7.9 (34.4)	76.3 ± 8.3 (23.7)

AAG = α1-酸性糖タンパク，HSA = ヒト血清アルブミン

[a]上段にIM9の非結合率（%）を平均値 ± 標準偏差（n = 3）で表示し，下段にタンパク結合率（%）を [100 − (IM9の非結合率の平均値)] で計算して（　　）内に表示した。

2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.7.1　薬物動態試験：胎盤通過性　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：CRL420696，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.3-04

動物種／系統	ラット／SD				
性別／動物数	雌（妊娠19日）／時点ごとに3				
給餌	食後				
溶媒	ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）				
投与方法	経口				
投与量（mg/kg）	2.5				
分析対象物	[^{14}C]				
定量法	LSC				
濃度/量（投与量に対する%）					
組織[a]／時間（h）	1	2	4	8	24
母体血液	0.190 ± 0.051	0.378 ± 0.180	0.606 ± 0.129	0.339 ± 0.097	0.026 ± 0.023
胎児血液	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
羊水（母動物ごとにプール）	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
胎盤（母動物ごとにプール）	0.074 ± 0.023	0.132 ± 0.088	0.230 ± 0.059	0.252 ± 0.038	0.102 ± 0.029
全胎児プール（胎児数3）	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.007 ± 0.001	0.010 ± 0.000

平均値 ± 標準偏差（n = 3），LSC = 液体シンチレーション計数法，MCT = 中鎖トリグリセリド，NA = 該当せず，SD = Sprague-Dawley，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[a]母動物の血液，血漿，羊水，胎盤，脳，腎臓，肝臓，脾臓，及び子宮，並びに胎児の血液，腎臓，肝臓，脾臓，その他の胎児組織，及びプールした胎児全体中の放射能の薬物動態も検討したが，定量下限以下の時点が複数あり解析できなかった。本試験の結果から，放射能は胎盤関門を通過するがその移行は緩慢で限定的であることが示された。

2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験

該当資料なし。

2.6.5.9　薬物動態試験：代謝：*In vitro*

2.6.5.9.1　薬物動態試験：代謝：*In vitro*（1）　被験物質：ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247

報告書番号：ISA09-25，ISA09-12，ISA09-23，ISA09-24，ISA09-22，ISA08-34，
CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-01，4.2.2.4-02，4.2.2.4-03，4.2.2.4-04，4.2.2.4-05，4.2.2.4-06

試験		ISA09-25			ISA09-12			ISA09-23			ISA09-24			ISA09-22			ISA08-34		
資料番号		4.2.2.4-01			4.2.2.4-02			4.2.2.4-03			4.2.2.4-04			4.2.2.4-05			4.2.2.4-06		
動物種		マウス			ラット			ウサギ			イヌ			サル			ヒト		
試験系		肝ミクロソーム 被験物質（ボクロスポリン，シス型ISA247，又はmix-ISA247）をミクロソームと以下の条件でインキュベーションした。マウス：9.9 µmol/L，15分間；ラット：16.5 µmol/L，60分間；ウサギ：9.9 µmol/L，15分間；イヌ：9.9 µmol/L，15分間；サル：9.9 µmol/L，15分間；ヒト：9.9 µmol/L，20分間。LC/MSを用いて代謝物を測定した。																	
代謝物生成速度（pmol/mg protein × min）																			
被験物質[a]		trans	cis	mix	trans	cis	mix	trans	cis	mix	trans	cis	mix	trans	cis	mix	trans	cis	mix
代謝物	IM4n	39.9	35.9	38.8	0.35	0.34	0.47	31.6	27.1	32.5	54.7	23.4	34.9	81.0	72.8	69.4	7.7	7.4	9.2
	IM9	129.2	128.5	131.9	1.15	1.74	1.87	44.1	50.4	50.2	19.5	16.1	16.4	97.9	92.1	84.1	7.0	6.3	7.4
	IM1-Diol-1	2.3	2.1	2.1	0.35	0.09	0.41	29.3	4.4	19.6	1.9	NC	1.2	28.2	2.7	12.8	3.0	0.3	2.0
	IM1c (R)	1.0	3.4	1.4	0.37	0.59	1.09	11.9	13.6	14.6	1.2	0.6	0.8	13.4	9.6	10.0	2.7	1.8	2.9
	IM1c (S)	0.7	1.5	1.8	0.23	0.14	0.33	11.9	10.1	11.6	1.2	0.5	0.8	12.5	6.8	7.9	1.9	0.6	1.6
	IM4	3.4	2.6	2.8	0.42	0.24	0.59	8.7	9.8	5.2	4.6	3.1	3.3	21.1	6.2	13.0	1.6	0.6	1.5
	IM1-Diol-3	NC	1.8	2.4	NC	0.33	0.21	2.7	34.0	16.6	NC	1.1	0.6	1.9	21.3	7.4	0.4	2.8	2.3
	IM1-Diol-2	NC	1.5	2.2	0.02	0.22	0.14	2.2	20.0	10.1	NC	0.8	0.4	1.6	11.0	4.2	0.3	1.4	1.2

NC = 算出せず

[a] trans：ボクロスポリン，cis：シス型ISA247，mix：mix-ISA247

2.6.5.9.2　　薬物動態試験：代謝：*In vitro*（2）　　被験物質：トランス型ISA247，mix-ISA247，シス型ISA247

報告書番号：ISA03-06，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-07

試験系	ヒト肝ミクロソーム 被験物質（トランス型ISA247，mix-ISA247，又はシス型ISA247，濃度：1000，2000，4000，8000，12000 ng/mL）をミクロソームと20分間インキュベーションした。反応後の試料をLC/ESI/MSを用いて代謝物を測定した。								
代謝物の最大生成速度（pmol/mg protein × min）									
被験物質／代謝物[a]	IM1-Diol-1	IM1-Diol-2	IM1-Diol-3	IM1c-1	IM1c-2	IM9	IM4	IM4n-1	IMXn-2
トランス型ISA247	2.1	0.0	0.0	0.4	0.8	3.6	0.5	0.5	4.3
シス型ISA247	0.0	0.9	0.9	0.0	0.6	3.7	0.0	0.5	4.3
mix-ISA247	1.0	0.7	0.4	0.9	1.0	4.2	0.8	1.8	4.8
ヒト肝細胞で認められた代謝物（定性的評価）：	トランス型ISA247：IM1-Diol-1，IM1c-1，IM4n-1，IM9，IM4，IMXXn シス型ISA247：IM1-Diol-2，IM1-Diol-3，IM1c-1，IM4n-1，IM9，IM4，IMXXn mix-ISA247：IM1-Diol-1，IM1-Diol-2，IM1-Diol-3，IM1c-1，IM4n-1，IM9，IM4，IMXXn								

[a]IM1c-1及びIM1c-2：IM1cのマスクロマトグラムで検出された2つの代謝物ピークを保持時間の早い順に表記，IM4n-1及びIMXn-2：IM4nのマスクロマトグラムで検出された2つの代謝物ピークを保持時間の早い順に表記，IM4n-1はIM4nに相当し，IMXn-2は，位置は不明だがN-脱メチル化された代謝物，IMXXn：位置は不明だが水酸化及びN-脱メチル化された代謝物

2.6.5.9.3　　薬物動態試験：代謝：*In vitro*（3）　　被験物質：mix-ISA247

報告書番号：ISA01-06，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-08

動物種	ヒト
試験系	Mix-ISA247（1000 ng/mL），ヒト肝ミクロソーム（0.2 mg protein/mL），NADPH産生系を混合し，37°Cで15分インキュベーションした。LC/MSを用いて未変化体及び代謝物を測定した。16個体のヒト肝ミクロソーム用いて相関係数を求めた。代謝酵素特異的阻害剤を添加したときの代謝物濃度を測定した。
結果	
相関	CYP3A4/5と強い相関が認められた（$r = 0.90$~0.98，$p < 0.0001$）。次いでCYP2B6（$r = 0.51$~0.59，$p < 0.05$），CYP2C8（$r = 0.52$~0.57，$p < 0.05$）であった。CYP2D6及びCYP2C19の活性と相関は認められなかった。
化学阻害剤の影響	ケトコナゾールを0.5 μmol/L添加したとき代謝物濃度が平均85%減少した。

2.6.5.9.4　　薬物動態試験：代謝：*In vitro*（4）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-21，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-09

被験物質	ボクロスポリン
試験系	グルタチオントラッピング
方法	NADPHの存在下及び非存在下，並びに還元型GSHの存在下及び非存在下でヒト肝ミクロソーム（ヒトミクロソームタンパク濃度0.8 mg/mL）と30又は120分間インキュベーションしたときに，ボクロスポリン（9.9 µmol/L）がGSH付加体（すなわち，反応中間体）を形成する可能性を検討した。LC/MS/MSにより試料を分析した。
結果	ミクロソームをボクロスポリン，NADPH，及び還元型GSHの存在下又は非存在下でインキュベーションしたとき，IM4n，IM9，IM4，及びIM1-Diol-1が産生した。ボクロスポリン又はNADPH非存在下でインキュベーションしたときに，これらのピークが現れなかったことから，これらの代謝物は被験物質に関連しており，その生成にNADPH産生系が必要であることが示された。ヒト肝ミクロソームは，還元型GSHの有無にかかわらず同様の相対的レベルでボクロスポリンの代謝物を生成した。LC/MS/MS分析により，GSH付加物は認められなかった。

2.6.5.10　薬物動態試験：代謝：*In vivo*

2.6.5.10.1　　薬物動態試験：代謝：*In vivo*（1）　　被験物質：mix-ISA247

報告書番号：ISA01-19，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-10

動物種[a]			ラット	イヌ		サル		ヒト
性別／動物数			雌雄／各6（TK）	雌雄／各6		雌雄／各3		1
給餌			食後	絶食		食後		絶食
溶媒[b]			標準	標準		標準		標準
投与方法			経口	経口		経口		経口
投与量（mg/kg）			25	35		75		3（1.5 mg/mL BID）
試料中の未変化体に対する割合（%）（mix-ISA247に対する相対比率）								
動物種	試料	採取時点	未変化体（ng/mL）	代謝物[c]				
				IM1-Diol	IM9	IMX	IM4n	IM4n9
ラット	全血	Day 28	1118	7.0	92.2	–[d]	11.8	6.4
イヌ	全血	Day 28	789	10.7	69.3	–[d]	40.9	25.7
サル	全血	Day 28	400	21.3	48.8	32.5	14.1	14.3
ヒト	全血	Day 7	852	38.7	33.1	–[d]	12.3	2.4

BID = 1日2回

[a]本試験は，以下の試験の特定の血液試料を対象とする：ラット（ISA00-17試験），イヌ（ISA01-01試験），サル（ISA01-05試験），及びヒト（ISA00-10試験）

[b]標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[c]IM1-Diol：11個のアミノ酸からなる環状ペプチドの1番目のアミノ酸に結合した共役ジエン側鎖が，エポキシドを介してジオールへ変換した代謝物，IM9：9番目のアミノ酸に対して水酸基が付加した代謝物，IMX：位置は不明だが水酸化された代謝物。IM4n：酸化的脱アルキル化により4番目のアミノ酸のN-メチル基が脱離した代謝物，IM4n9：4番目のアミノ酸のN-メチル基の脱離及び9番目のアミノ酸に対して水酸基が付加した代謝物

[d]IMXはサルでIM9の次に大きい代謝物ピークとして確認されたが，その他の動物種では未変化体に対する割合がIM9よりも小さかったので，IMXとして認識されていない。

2.6.5.10.2　　薬物動態試験：代謝：*In vivo*（2）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：ISA05-09，ISA08-14，ISA08-26，ISA08-13，
CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-11，4.2.2.2-07，4.2.2.2-09，4.2.2.2-10

試験			ISA05-09		ISA08-14		ISA08-26		ISA08-13
資料番号			4.2.2.4-11		4.2.2.2-07		4.2.2.2-09		4.2.2.2-10
動物種			マウス		ラット		ウサギ		サル
性別／動物数			雄／20，雌／4		雌雄／各6		雌／4		雌雄／各4
給餌			絶食		絶食		絶食		絶食
溶媒[a]			標準		標準		標準		標準
投与方法			経口		経口		経口		経口
投与量（mg/kg/日）			25		2.5，25		20		150
試料			全血		全血		全血		全血
AUC_{24h}（ng·h/mL），（　）内の数値は試料中の未変化体に対する割合（%）									
動物種	採取時点	性別	未変化体	IM9	IM1-Diol-1	IM4n	IM1w	IM4	IM1c (R)
CByB6F1 マウス[b,c]	Day 5	雄	2083	900.1 (43.2)	9.58 (0.5)	99.56 (4.8)	報告なし	報告なし	報告なし
CD-1 マウス[b,c]	Day 5	雄	3529	2494 (70.7)	20.3 (0.6)	187.2 (5.3)	報告なし	報告なし	報告なし
ラット[c] 2.5 mg/kg	Day 1	雄	488.6	150.8 (30.9)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	3.9 (0.8)	0.0 (0.0)
	Day 1	雌	334.5	201.1 (60.1)	0.0 (0.0)	1.3 (0.4)	0.0 (0.0)	7.8 (2.3)	0.0 (0.0)
	Day 10	雄	641.8	200.4 (31.2)	0.0 (0.0)	1.8 (0.3)	0.0 (0.0)	6.0 (0.9)	0.0 (0.0)
	Day 10	雌	291.4	175.7 (60.3)	0.0 (0.0)	3.1 (1.1)	0.0 (0.0)	6.3 (2.2)	0.0 (0.0)
ラット[c] 25 mg/kg	Day 1	雄	21704.0	7042.7 (32.4)	213.2 (1.0)	342.1 (1.6)	154.3 (0.7)	703.8 (3.2)	7.2 (0.0)
	Day 1	雌	10475.5	5749.7 (54.9)	137.1 (1.3)	244.1 (2.3)	121.9 (1.2)	486.5 (4.6)	7.7 (0.1)
	Day 10	雄	25343.5	8041.8 (31.7)	228.7 (0.9)	413.0 (1.6)	214.4 (0.8)	820.4 (3.2)	8.1 (0.0)
	Day 10	雌	8253.4	5283.2 (64.0)	92.0 (1.1)	237.0 (2.9)	112.6 (1.4)	437.3 (5.3)	5.2 (0.1)

（続く）

AUC_{24h}（ng·h/mL），(　) 内の数値は試料中の未変化体に対する割合（%）									
動物種	採取時点	性別	未変化体	IM9	IM1-Diol-1	IM4n	IM1w	IM4	IM1c (R)
ウサギ[c]	Day 1	雌	757.0	245.3 (32.4)	68.4 (9.0)	2.8 (0.4)	9.5 (1.3)	10.7 (1.4)	4.4 (0.6)
	Day 10	雌	938.2	229.6 (24.5)	64.4 (6.9)	0.0 (0.0)	7.2 (0.8)	0.0 (0.0)	11.1 (1.2)
サル	Day 1	雄	4736.1	1539.6 (32.5)	1033.9 (21.8)	402.2 (8.5)	279.0 (5.9)	139.3 (2.9)	29.2 (0.6)
	Day 1	雌	9657.0	3815.9 (39.5)	1913.3 (19.8)	817.1 (8.5)	560.0 (5.8)	385.0 (4.0)	90.9 (0.9)
	Day 10	雄	2445.3	856.8 (35.0)	905.6 (37.0)	93.5 (3.8)	334.8 (13.7)	63.8 (2.6)	16.2 (0.7)
	Day 10	雌	4464.4	1290.1 (28.9)	1026.5 (23.0)	113.9 (2.6)	367.6 (8.2)	114.6 (2.6)	38.6 (0.9)

[a]標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[b]CByB6F1及びCD-1マウスで測定されたその他の代謝物は，IMXn及びIMxであった。IMXn及びIMxは，CByB6F1マウスでは，それぞれ未変化体の5.9%及び9.4%，CD-1マウスではそれぞれ7.1%及び16.8%であった。

[c]未変化体の値に対する割合（%）は報告書のデータ（代謝物のAUC_{24h}/未変化体のAUC_{24h}）から算出した。

2.6.5.10.4　　薬物動態試験：代謝：*In vivo*（4）　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA05-18，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-02

動物種			ラット											
性別／動物数			雌雄／各17											
給餌			絶食											
溶媒[a]			標準											
投与方法			経口											
投与量（mg/kg）			5											
分析対象物			[^{14}C]（LSCで測定）											
比放射能			42.6 μCi/mg											
試料中放射能（%）														
試料	採取時点（h）	試料中の投与量に対する割合（%）	代謝物コード[b]											
			M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
全血（雄）	1	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	24.3	8.2	3.6	56.4	ND	ND
	2	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	24.6	8.5	4.3	51.8	ND	ND
	4	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	18.4	8.2	3.5	61.2	ND	ND
	8	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	18.4	5.3	3.1	63.5	ND	ND
	12	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	13.6	4.3	ND	76.7	ND	ND
	24	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	11.4	2.8	1.1	80.4	ND	ND
全血（雌）	1	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	22.8	8.2	4.5	56.8	ND	ND
	2	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	25.0	8.9	4.2	54.6	ND	ND
	4	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	27.4	8.0	4.0	52.8	ND	ND
	8	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	20.3	5.3	1.5	66.2	ND	ND
	12	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	24.8	ND	ND	57.4	ND	ND
	24	– [c]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	20.3	2.3	2.2	73.3	ND	ND

（続く）

試料中放射能（%）														
試料	採取時点（h）	試料中の投与量に対する割合（%）	代謝物コード[b]											
			M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13
尿（雄）	0-24	1.55	12.9	ND	11.5	4.2	10.7	5.7	8.5	14.5	3.9	1.5	1.7	ND	ND
尿（雌）	0-24	1.17	14.7	ND	10.8	3.6	8.9	5.1	7.0	12.2	1.7	ND	ND	ND	ND
胆汁（雄）	0-6	1.11	4.7	0.8	2.4	4.7	7.3	11.6	20.8	14.3	6.3	11.7	2.9	0.3	ND
	6-12	0.49	3.9	ND	1.6	2.9	5.7	7.1	13.2	21.4	12.6	7.6	4.4	8.2	ND
	12-48	0.90	1.8	ND	ND	ND	2.8	6.6	11.6	28.8	9.7	5.9	ND	8.2	ND
胆汁（雌）	0-6	2.05	3.4	1.5	3.6	5.8	10.3	11.6	22.6	11.6	4.6	8.9	1.3	0.5	0.3
	6-12	1.91	3.5	1.1	3.4	4.7	7.5	14.1	18.8	15.9	5.5	4.5	2.2	4.8	1.3
	12-48	1.18	1.4	ND	1.2	1.4	5.9	10.0	17.4	24.5	4.9	5.8	1.4	2.2	ND

LSC = 液体シンチレーション計数法，ND = 検出せず

[a]標準 = ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[b]各代謝物コードは，クロマトグラフ上で以下の代謝物に対応した：M7：IM1-Diol-1（質量分析でIM1-Diol-1を確認できなかったが，胆汁中ではこの領域でIM9異性体及びIM4nの水酸化代謝物の存在を確認），M8：IM9（IM1cとフラクションコレクター/LSCで十分に分離されないために厳密な帰属ができないが，その後のspectroscopic analysisによりIM9が主成分と推定），M10：IM4n，M11：ボクロスポリン

[c]報告なし

2.6.5.10.6　　薬物動態試験：代謝：*In vivo*（6）　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-01，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-04

動物種		サル											
性別／動物数		雌雄／各2											
給餌		絶食											
溶媒[a]		標準											
投与方法		経口											
投与量（mg/kg）		40											
分析対象物		[^{14}C]											
比放射能		46.9 μCi/mg											
試料中放射能（%）													
試料	採取時点（h）	代謝物コード[b]											
		M11	M15a	M1	M2	M18	M3	M4	M5b	M5a	M6	M7	Voc
全血（雄）	2	1.04	3.08	3.97	2.98	0.89	3.43	11.4	6.56	1.79	2.83	3.08	35.1
	3	1.26	3.69	3.82	2.08	1.95	3.82	9.89	6.42	1.56	2.17	2.39	33.7
	4	1.67	5.36	5.36	2.64	1.93	4.39	9.67	4.83	1.76	2.20	1.32	23.9
	6	2.79	5.26	6.57	2.46	1.97	2.63	7.72	2.63	0.66	0.49	1.48	25.1
	8	1.41	4.24	8.13	1.24	0.53	4.06	5.65	2.47	1.06	1.24	1.24	27.7
	12	1.31	3.42	8.80	0.79	0.39	3.68	5.13	2.37	0.13	0.92	1.45	39.4
	24	0.76	2.04	15.8	0.76	2.55	5.09	5.60	1.02	0.25	1.02	1.02	22.6
全血（雌）	2	1.15	2.41	3.78	3.07	1.48	3.07	9.54	8.88	1.86	2.91	2.85	30.9
	3	1.77	4.00	4.41	3.65	1.59	4.47	12.4	10.0	2.12	3.06	2.06	23.1
	4	1.73	7.23	5.42	1.32	1.97	3.62	10.0	6.16	1.32	1.97	1.40	17.4
	6	1.60	5.59	6.79	0.40	1.20	4.19	6.59	4.39	0.40	1.80	0.60	19.2
	8	1.54	5.63	9.46	0.51	1.54	2.56	7.67	3.58	1.28	0.77	1.02	23.5
	12	2.00	4.66	9.65	0.67	1.50	4.33	6.66	3.33	1.33	0.67	0.67	30.9
	24	1.54	2.32	12.7	1.16	2.32	6.18	5.41	1.16	1.54	ND	ND	17.0

（続く）

試料中放射能（%）																
試料	採取時点（h）	代謝物コード[b]														
		M11	M12	M13	M15a	M16	M1	M2	M18	M3	M4	M5b	M5a	M6	M7	Voc
尿（雄）[c]	0-96	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	ND	<0.01	<0.01	<0.01	ND	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	ND	0.45
尿（雌）[c]	0-96	0.01	0.01	0.01	0.02	ND	0.01	0.02	0.01	ND	0.02	0.02	0.01	0.02	ND	1.26
糞（雄）[c]	0-72	0.23	0.42	0.34	0.44	ND	0.37	0.37	0.24	0.24	0.58	0.56	0.16	0.55	0.35	61.7
糞（雌）[c]	0-72	0.21	0.33	0.28	0.58	ND	0.27	0.44	0.27	0.28	0.80	0.72	0.27	0.57	0.41	59.1
胆汁（雄）	2	4.13	3.46	5.36	7.06	2.90	3.13	7.64	3.73	ND	2.22	2.90	1.22	2.27	0.64	0.66
胆汁（雌）	2	3.34	3.25	5.59	7.76	3.23	3.88	8.63	3,84	ND	2.31	4.04	1.52	3.01	0.71	0.65
胆汁（雄）	24	6.84	4.29	5.01	7.36	1.71	3.29	4.63	4.46	ND	1.56	2.23	0.85	1.37	0.53	0.84
胆汁（雌）	168	4.33	2.74	3.42	5.02	1.25	3.88	3.88	3.19	ND	2.17	2.28	0.91	1.37	0.57	0.34

Voc＝ ボクロスポリン，ND＝ 検出せず

[a]標準 ＝ ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール([redacted]，w/w/w/w)

MCT＝ 中鎖トリグリセリド，TPGS＝D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

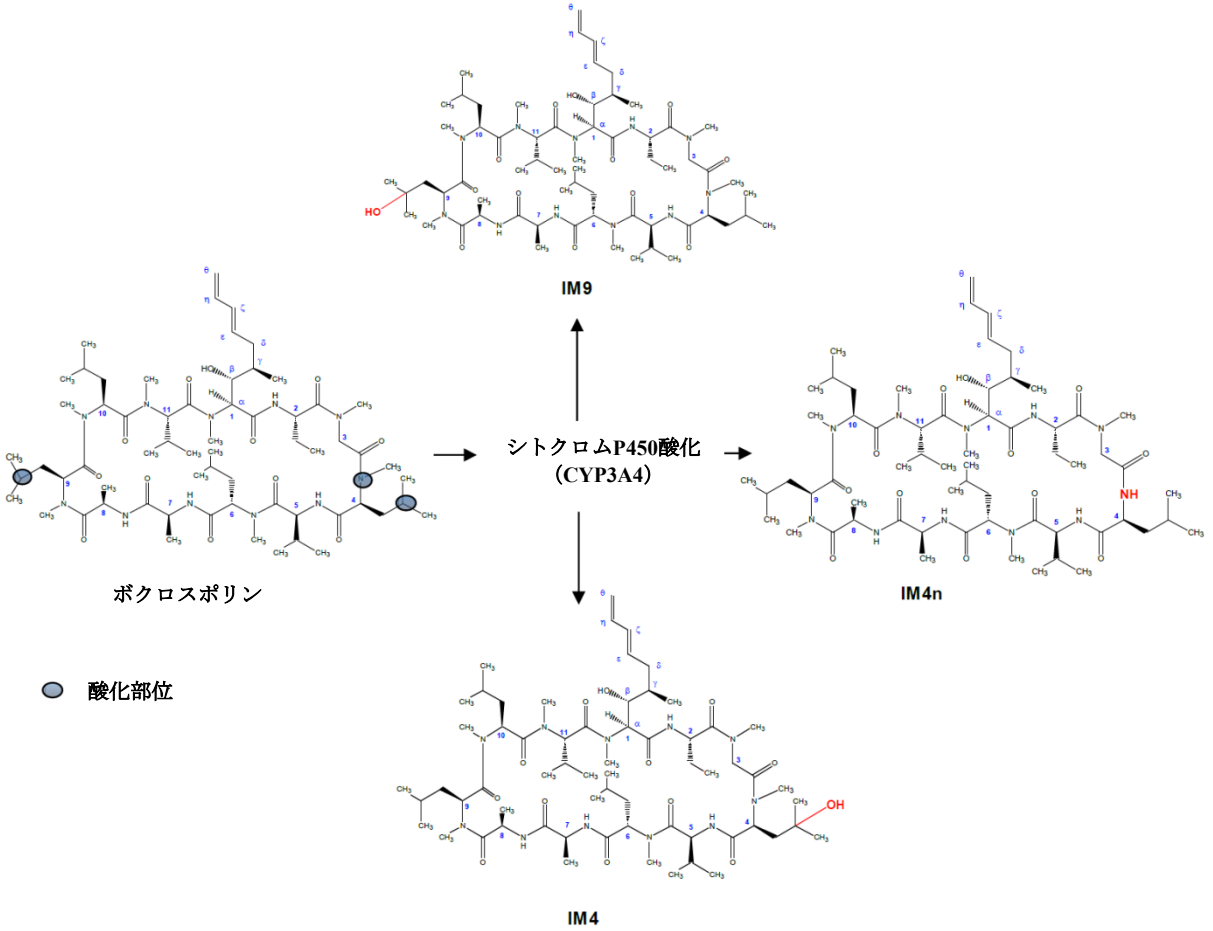
[b]各代謝物コードは，クロマトグラフ上で以下の代謝物に対応した：M1：IM1-Diol-1，M2：IM4n9，M3：IM1w，M4：IM9，M5a：IM4，M6：IM4n，M7：IM4n9n，M18：IM1a

[c]尿及び糞では試料中の各成分の投与量に対する割合の平均値を表示した。

2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路

報告書番号：ISA09-10，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-12

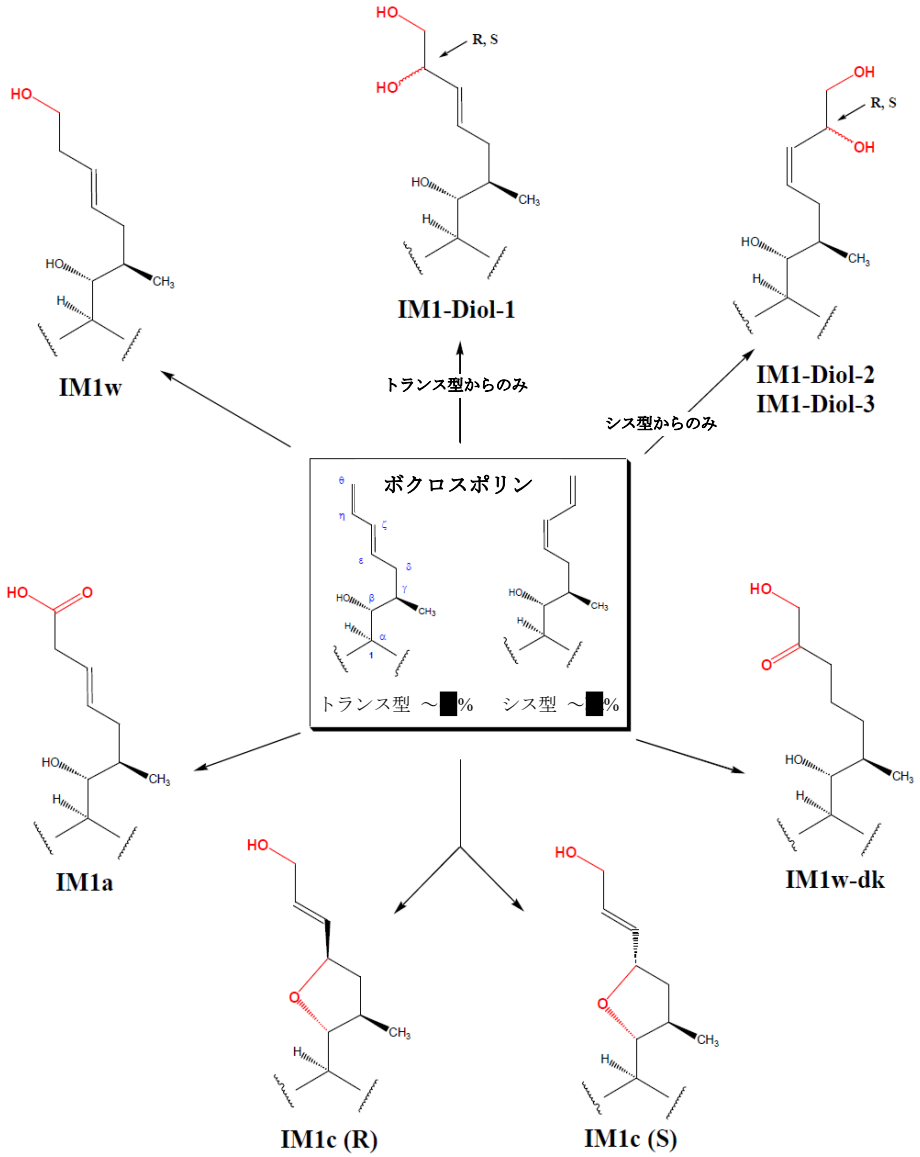
試験概要	＜*In vitro*＞ ボクロスポリン（濃度：1000，2000，4000，8000，12000 ng/mL），ヒト肝ミクロソーム（0.2 mg protein/mL）及びNADPH産生系を混合し，37°Cで20分間インキュベーションした。反応後の試料をLC/ESI/MS/MSを用いて測定した結果，クロマトグラム上に確認された代謝物はピーク面積が大きい順にIM4n > IM9 > IM1-Diol-1 > IM1c(R) > IM4だった。 ＜*In vivo*＞ 健康被験者を対象としたボクロスポリンの単回及び反復漸増試験（ISA03-12試験）で採取されたC_{max}の全血試料をLC/ESI/MS/MSを用いて測定した結果，クロマトグラム上に確認された代謝物はIM1-Diol-1，IM9，IM4n，IM1c(R)，IM4n9及びIM1wだった。
推定代謝経路	＜第1の経路＞ 共役ジエン構造を有するアミノ酸残基（IM1残基）以外のアミノ酸のCYP酸化であり，定量可能な代謝物としてIM9，IM4，及びIM4nが生成される（図 2.6.5.11-1）。 ＜第2の経路＞ IM1残基のCYP450酸化であり，定量可能な代謝物としてIM1-Diol-1，IM1c (R)，及びIM1wが生成される。その他の代謝物（IM1-Diol-2，IM1-Diol-3，IM1c (S)，IM1a，及びIM1w-dk）も合成された標品を用いて*in vivo*で確認されたので代謝経路に含めているが，量が少なく，定量できない（図 2.6.5.11-2）。IM1-Diol-2及びIM1-Diol-3は，シス型ISA247（ボクロスポリンには10%未満しか含まれない）からのみ生成され，IM1-Diol-1はトランス異性体から選択的に生成される。



IM9＝9番目のアミノ酸残基に対する水酸基の付加，IM4＝4番目のアミノ酸残基に対する水酸基の付加，IM4n＝ 酸化的脱アルキル化による4番目のアミノ酸残基のN-メチル基の脱離

＜資料番号4.2.2.4-12，Section 2.3.1より作成＞

図 2.6.5.11-1　　IM1残基以外の代謝



注：IM1a = IM1残基の酸化，IM1c = IM1残基の環化，IM1-Diol = IM1残基のエポキシ化後ジオールへの変換，
IM1w = 水分子（+ 18 amu）のIM1残基への付加，IM1w-dk = 水分子が付加しジヒドロケト基へ変換

＜資料番号4.2.2.4-12，Section 2.3.1より作成＞

図 2.6.5.11-2　　IM1残基の代謝（IM1残基のみ表示）

2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12.1　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（1）　　被験物質：トランス型ISA247，mix-ISA247，シス型ISA247

報告書番号：ISA03-06，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-07

被験物質	トランス型ISA247，mix-ISA247，シス型ISA247		
試験の種類	CYP阻害		
方法	[redacted]社のキットの説明書に従い，96ウェルマイクロタイタープレートを用いて実施した。このキットは，被験物質をマイクロタイタープレートで連続希釈後にIC_{50}値を算出するように設計されていた。本アッセイは，提供されているCYP450基質から蛍光代謝物への変換に対する被験物質の阻害能を測定するものである。		
IC_{50}（μmol/L）			
薬物／CYP	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
トランス型ISA247	阻害なし	阻害なし	8.2
シス型ISA247	阻害なし	阻害なし	9.4
mix-ISA247	阻害なし	阻害なし	10.7

2.6.5.12.2　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（2）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-20，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-13

被験物質	ボクロスポリン							
試験の種類	ヒトCYP酵素の阻害剤としてのボクロスポリンの*in vitro*評価							
方法	直接阻害：ヒト肝ミクロソームを，ボクロスポリンの存在下又は非存在下で，見かけのK_mとほぼ等しい濃度のマーカー基質とインキュベーションした。 時間依存的阻害：ボクロスポリンをヒト肝ミクロソーム及びNADPH産生系と30分間プレインキュベーション後にマーカー基質とインキュベーションした。IC_{50}値を算出するために用いたボクロスポリン濃度は，0～9.9 μmol/L（最大溶解濃度）であった。既知の直接阻害剤及び代謝依存的阻害剤を陽性対照とした。 CYP3A4/5の直接阻害剤（ミダゾラム1'-水酸化により評価）としてのボクロスポリンの評価：ボクロスポリンの存在下又は非存在下で，ヒト肝ミクロソームを複数濃度のマーカー基質とインキュベーションし，K_i及び直接阻害の機序を明らかにした。ケトコナゾールを陽性対照に含めた。 CYP3A4/5の時間依存的阻害の可能性の評価（テストステロン6β-水酸化により評価）：ボクロスポリン（9.9 μmol/L）をNADPH産生系の存在下又は非存在下，ヒト肝ミクロソームと30分間プレインキュベーションした後にマーカー基質とインキュベーションした。トロレアンドマイシンを陽性対照に含めた。							
結果								
酵素	CYP反応	直接阻害				時間依存的阻害		
		IC_{50}（μmol/L）	9.9 μmol/Lでの最大阻害（%）	K_i（μmol/L）	阻害の種類	IC_{50}（μmol/L）	9.9 μmol/Lでの最大阻害（%）	時間依存的阻害の可能性
CYP1A2	フェナセチンO-脱エチル化	>9.9	4.8	ND	ND	>9.9	5.1	全く又はほとんどなし
CYP2B6	エファビレンツ8-水酸化	>9.9	24	ND	ND	>9.9	18	全く又はほとんどなし
CYP2C8	アモジアキンN-脱アルキル化	>9.9	12	ND	ND	>9.9	16	全く又はほとんどなし
CYP2C9	ジクロフェナク4'-水酸化	>9.9	14	ND	ND	>9.9	13	全く又はほとんどなし
CYP2C19	S-メフェニトイン4'-水酸化	>9.9	22	ND	ND	>9.9	31	全く又はほとんどなし
CYP2D6	デキストロメトルファンO-脱メチル化	>9.9	39	ND	ND	>9.9	36	全く又はほとんどなし

（続く）

（続き）　　報告書番号：ISA08-20，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-13

酵素	CYP反応	直接阻害				時間依存的阻害		
		IC_{50}（μmol/L）	9.9 μmol/Lでの最大阻害（%）	K_i（μmol/L）	阻害の種類	IC_{50}（μmol/L）	9.9 μmol/Lでの最大阻害（%）	時間依存的阻害の可能性
CYP3A4/5	テストステロン6β-水酸化	>9.9	27	ND	ND	>9.9	48	不確定[a]
CYP3A4/5	ミダゾラム1'-水酸化	1.2	81	1.1	競合阻害	1.0	82	全く又はほとんどなし

K_i = 阻害定数，K_m = ミカエリス-メンテン定数，ND = 記録なし

[a]さらに検討したところ，ボクロスポリンは，テストステロン6β-水酸化により評価した結果，NADPH産生系の有無にかかわらず30分間のプレインキュベーション後に阻害の増加は認められなかったことから，CYP3A4/5の時間依存的又は代謝依存的阻害剤ではなかった。

2.6.5.12.4　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（4）　　被験物質：IM9

報告書番号：AUR-VCS-20[redacted]-01，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-14

被験物質	IM9		
試験の種類	ヒトCYP酵素の阻害剤としてのIM9の*in vitro*評価		
方法	直接阻害：ヒト肝ミクロソームを，IM9（0.003～3 µmol/L）の存在下又は非存在下で，マーカー基質とインキュベーションしマーカー基質の代謝物を測定した。 時間依存的阻害：IM9をヒト肝ミクロソーム及びNADPH産生系と30分間プレインキュベーション後にマーカー基質とインキュベーションした。		
酵素	CYP反応（基質濃度）	IC_{50}（µmol/L）	
		直接阻害	時間依存的阻害
CYP1A2	フェナセチンO-脱エチル化（50 µmol/L）	> 3	> 3
CYP2B6	ブプロピオン水酸化（50 µmol/L）	> 3	> 3
CYP2C8	アモジアキンN-脱エチル化（2 µmol/L）	> 3	> 3
CYP2C9	ジクロフェナク4’-水酸化（5 µmol/L）	> 3	> 3
CYP2C19	S-メフェニトイン4′-水酸化（20 µmol/L）	> 3	> 3
CYP2D6	ブフラロール1′-水酸化（5 µmol/L）	> 3	> 3
CYP3A4/5	ミダゾラム1’-水酸化（2 µmol/L）	> 3	> 3
CYP3A4/5	テストステロン6β-水酸化（50 µmol/L）	> 3	> 3

> 3 = 50%を超える阻害はなかった（0.003～3 µmol/L）。n = 3で実施。

2.6.5.12.5　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（5）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-03，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-15

被験物質	ボクロスポリン		
試験の種類	ヒト肝細胞におけるCYP発現の誘導剤としてのボクロスポリンの*in vitro*評価		
方法	ヒト肝細胞を用いて，ボクロスポリンがCYP1A2及びCYP3A4の発現に及ぼす影響を検討した。ヒト肝細胞を溶媒（0.1% DMSO），陽性対照（CYP1A2誘導剤オメプラゾール，100 µmol/L； CYP3A4誘導剤リファンピシン，10 µmol/L），又はボクロスポリン（0.04，0.4，4 µmol/L）で3日間毎日処理した後，ミクロソーム試料を調製し，フェナセチンO-デアルキラーゼ（CYP1A2）及びテストステロン6β-ヒドロキシラーゼ（CYP3A4）の活性をLC/MS/MSにより測定した。		
酵素活性（pmol/mg micorsomal protein/min）[a]			
処理	濃度（µmol/L）	フェナセチンO-脱アルキル化（CYP1A2）	テストステロン6β-水酸化（CYP3A4）
DMSO	0.1% (v/v)	55.9 ± 22.9	7050 ± 2210
ボクロスポリン	0.04	47.1 ± 18.0	6370 ± 2240
	0.4	53.8 ± 26.5	6750 ± 2340
	4 [b]	41.5 ± 18.8	2480 ± 1940
オメプラゾール	100	781 ± 171	8460 ± 1030
リファンピシン	10	83.1 ± 16.9	17800 ± 3400

[a]値は，3回の測定（ヒト肝細胞調製物H876，H877，及びH879）の平均 ± 標準偏差である。

[b]CYP1A2及びCYP3A4の活性はそれぞれ平均25.5%及び65.9%低下した。

2.6.5.12.6　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（6）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：XT193071，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-16

被験物質	ボクロスポリン			
試験の種類	ヒト肝細胞におけるCYP2B6発現の誘導剤としてのボクロスポリンの*in vitro*評価（mRNA）			
方法	ヒト肝細胞を用いて，ボクロスポリンがCYP2B6の発現に及ぼす影響を検討した。ヒト肝細胞を溶媒（0.1% DMSO），陽性対照［フェノバルビタール（CYP2B6誘導剤），1000 µmol/L］，陰性対照（フルマゼニル，25 µmol/L），又はボクロスポリン（0.01，0.03，0.1，0.3，1，3，又は10 µmol/L）で1日1回，3日間処理後，細胞溶解物からtotal RNA試料を調製し，qRT-PCRによりCYP2B6の発現解析を行った。使用した培養液は回収してLDH活性アッセイを行い，細胞は顕微鏡画像により形態を調べることにより，3日間の曝露終了時の細胞毒性を検討した。			
CYP2B6 mRNAの発現（溶媒添加群に対する倍率）[a]				
処理	濃度（µmol/L）	肝細胞培養1（ロットHC10-23）	肝細胞培養2（ロットHC10-50）	肝細胞培養3（ロットHC5-27）
DMSO	0.1% (v/v)	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
ボクロスポリン	0.01	1.02 ± 0.04	0.90 ± 0.20	1.33 ± 0.22
	0.03	0.99 ± 0.13	1.21 ± 0.21	1.48 ± 0.05
	0.1	1.10 ± 0.04	1.11 ± 0.22	1.38 ± 0.04
	0.3	1.07 ± 0.06	1.79 ± 0.62	1.33 ± 0.09
	1	1.56 ± 0.04	1.22 ± 0.13	1.71 ± 0.20
	3	2.39 ± 0.08	1.75 ± 0.15	2.67 ± 0.30
	10[b]	3.25 ± 0.23	1.03 ± 0.20	3.10 ± 0.49
フェノバルビタール[c]	1000	9.65 ± 0.17	6.88 ± 2.12	18.8 ± 3.10
フルマゼニル	25	1.05 ± 0.11	0.96 ± 0.06	1.13 ± 0.13

LDH = 乳酸脱水素酵素，qRT-PCR = 定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応

[a]値は，各ヒト肝細胞ロット（HC10-23，HC10-50，及びHC5-27）の3回の測定の平均 ± 標準偏差である。

[b]10 µmol/Lボクロスポリンにおいて，形態学的に（顕微鏡的に）細胞毒性が認められたが，LDHの放出に対する有意な影響は認められなかった。

[c]陽性対照に対するボクロスポリンの倍率は，ヒト肝細胞ロットHC10-23の10 µmol/L処理（26.0%）を除いて20%未満であった。

2.6.5.12.7　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害（7）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：AUR-VCS-20[redacted]-05，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.4-17

被験物質	ボクロスポリン							
試験の種類	ヒト肝細胞におけるCYP酵素発現の誘導剤としてのボクロスポリンの*in vitro*評価（mRNA，酵素活性）							
方法	3ドナー由来のヒト肝細胞を用いて，ボクロスポリンのCYP酵素（CYP1A2，2B6，2C8,，2C9，2C19及び3A4）誘導能を評価した。被験物質の濃度は生存率及び溶解度アッセイの結果に基づいて0.03，0.1，0.3，1，3，及び7 µmol/Lとした（n＝3）。被験物質及び対照物質溶液は用時調製して，3日間の培養期間中（37°C，5% CO_2）毎日交換した。 培養後にヒト肝細胞からmRNAを抽出し，cDNAに逆転写した後，qPCRにより各CYP酵素（CYP1A2，2B6，2C8,，2C9，及び3A4）のmRNA発現量を評価した。発現量の評価は比較Ct法を用いヒトGAPDH遺伝子を参照遺伝子として解析した。 CYP2C19の評価は培養の最後の1時間を基質溶液（80 µmol/L S-メフェニトイン）と共にインキュベートし，抽出サンプルを調製しLC/MS/MSを用いて代謝物の4’-ヒドロキシ-S-メフェニトイン濃度を測定した。							
mRNAの発現（被験物質非添加群に対する倍率）								
酵素	ドナー番号	ボクロスポリン濃度[a]（µmol/L）						陰性対照物質[b]	陽性対照物質[c]
		0.03	0.1	0.3	1	3	7		
CYP1A2	GKJ	0.66	0.61	0.56	0.52	0.85	1.77	0.69	9.88
	ZEY	1.03	0.86	1.00	0.95	1.68	2.27	1.13	31.12
	WKF	0.96	0.88	0.92	0.79	1.06	1.35	1.30	25.08
CYP2B6	GKJ	1.00	0.92	0.75	0.73	0.81	0.65	0.88	8.80
	ZEY	1.09	0.85	0.90	0.83	1.14	1.42	1.07	24.12
	WKF	0.99	0.90	0.76	0.67	0.93	1.25	1.10	9.30
CYP2C8	GKJ	1.02	1.02	0.76	0.78	0.78	0.12	0.81	4.94
	ZEY	1.29	1.24	1.00	1.01	0.89	0.27	1.05	5.61
	WKF	1.13	1.20	0.89	0.92	1.27	0.55	0.84	6.04
CYP2C9	GKJ	1.15	1.19	0.95	1.11	0.99	0.74	1.03	3.00
	ZEY	1.13	1.07	1.05	1.15	1.22	1.25	1.12	3.45
	WKF	1.09	0.98	1.01	0.87	0.95	0.70	1.11	2.69

（続く）

mRNAの発現（被験物質非添加群に対する倍率）									
酵素	ドナー番号	ボクロスポリン濃度[a]（μmol/L）						陰性対照物質[b]	陽性対照物質[c]
		0.03	0.1	0.3	1	3	7		
CYP3A4	GKJ	0.97	0.73	0.65	0.42	0.05	0.01	0.72	35.64
	ZEY	1.24	0.97	0.65	0.30	0.07	0.01	0.99	64.16
	WKF	1.04	0.93	0.64	0.39	0.20	0.03	0.77	54.59
酵素活性（被験物質非添加群に対する倍率）									
酵素	ドナー番号	ボクロスポリン濃度[a]（μmol/L）						陰性対照物質[b]	陽性対照物質[c]
		0.03	0.1	0.3	1	3	7		
CYP2C19	GKJ	1.30	1.27	1.08	1.01	0.69	0.29	0.99	5.00
	ZEY	0.99	0.96	0.83	0.63	0.46	0.24	0.91	5.85
	WKF	0.97	0.90	0.85	0.68	0.58	0.08	0.39	2.84

平均値（n = 3），qRT-PCR = 定量的ポリメラーゼ連鎖反応

[a]7 μmol/Lにおける細胞生存率は75%未満であった（3ドナー）。

[b]フルマゼニル（25 μmol/L）を使用した。

[c]CYP1A2：オメプラゾール（50 μmol/L），CYP2B6：フェノバルビタール（750 μmol/L），CYP2C8，2C9，2C19，3A4：リファンピシン（25 μmol/L）を使用した。

2.6.5.13　薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1　　薬物動態試験：排泄（1）　　被験物質：[^{3}H]-mix-ISA247

報告書番号：ISA00-25，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-03

動物種／系統	ラット／SD							
性別／動物数	雌雄／時点ごとに各3							
給餌	絶食							
溶媒	ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）							
投与方法	経口							
投与量（mg/kg）	25							
分析対象物	[^{3}H]							
定量法	LSC							
排泄率（% of dose）								
試料（性別）／時間（h）	0～8	8～24	24～48	48～72	72～96	96～120	120～144	144～168
尿（雄）	0.38 ± 0.37	0.43 ± 0.12	1.43 ± 0.72	1.00 ± 0.55	0.89 ± 0.69	0.32 ± 0.27	0.30 ± 0.16	0.23 ± 0.14
尿（雌）	0.60 ± 0.15	1.69 ± 2.15	0.98 ± 0.58	0.95 ± 0.55	1.04 ± 1.13	0.42 ± 0.26	0.31 ± 0.20	0.33 ± 0.13
糞（雄）	– [a]	88.90 ± 2.13 [a]	5.77 ± 1.37	1.19 ± 0.66	0.36 ± 0.16	0.51 ± 0.25	0.15 ± 0.02	0.14 ± 0.04
糞（雌）	– [a]	79.59 ± 10.93[a]	6.75 ± 1.61	1.35 ± 1.09	0.48 ± 0.58	0.22 ± 0.24	0.20 ± 0.07	0.34 ± 0.24

累積排泄率（0～168 h）（% of dose）[b]						
性別／試料	尿	糞	ケージ洗浄液	ケージ拭き取り	屍体	合計
雄	4.98 ± 0.30	97.02 ± 0.67	0.71 ± 0.38	0.67 ± 0.60	0.31 ± 0.02	103.69 ± 1.70
雌	6.32 ± 4.69	88.92 ± 9.12	2.73 ± 2.56	2.62 ± 2.48	0.42 ± 0.17	101.02 ± 1.30

平均値 ± 標準偏差（n = 3），LSC = 液体シンチレーション計数法，MCT = 中鎖トリグリセリド，SD = Sprague-Dawley，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[a]最初の糞回収は0～24時間であった。

[b]合計値は，収集区間の値の丸め方によりわずかに異なる場合がある。

2.6.5.13.2　　薬物動態試験：排泄（2）　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA05-18，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-02

動物種／系統	ラット／SD								
性別／動物数	雌雄／各3								
給餌	絶食								
溶媒	ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）								
投与方法	経口								
投与量（mg/kg）	5								
分析対象物	[^{14}C]								
定量法	LSC								
排泄率（% of dose）									
試料（性別）／時間（h）	0～6	6～12	12～24	24～48	48～72	72～96	96～120	120～144	144～168
尿（雄）	1.10 ± 0.18	0.28 ± 0.09	0.17 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	<0.01
尿（雌）	0.88 ± 0.11	0.15 ± 0.01	0.14 ± 0.08	0.06 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
糞（雄）	– [a]	– [a]	83.56 ± 6.32[a]	9.03 ± 6.15	1.19 ± 0.39	0.41 ± 0.08	0.20 ± 0.06	0.10 ± 0.04	0.08 ± 0.04
糞（雌）	– [a]	– [a]	89.69 ± 3.02[a]	6.82 ± 3.58	0.42 ± 0.12	0.09 ± 0.04	0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01

累積排泄率（0～168 h）（% of dose）[b]					
性別／試料	尿	糞	ケージ洗浄液	屍体	合計
雄	1.75 ± 0.21	94.56 ± 0.46	0.75 ± 0.94	0.22 ± 0.03	97.28 ± 0.68
雌	1.25 ± 0.19	97.08 ± 0.86	0.14 ± 0.10	0.12 ± 0.01	98.59 ± 0.63

平均値 ± 標準偏差（n = 3），LSC = 液体シンチレーション計数法，MCT = 中鎖トリグリセリド，SD = Sprague-Dawley，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール 1000コハク酸塩

[a]最初の糞回収は0～24時間であった。

[b]合計値は，収集区間の値の丸め方によりわずかに異なる場合がある。

2.6.5.13.3　　薬物動態試験：排泄（3）　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-01，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-04

動物種	カニクイザル								
性別／動物数	雌雄／各2								
給餌	絶食								
溶媒	ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）								
投与方法	経口								
投与量（mg/kg）	40								
分析対象物	[^{14}C]								
定量法	LSC								
排泄率（% of dose）									
試料（性別）／時間（h）	0～6	6～12	12～24	24～48	48～72	72～96	96～120	120～144	144～168
尿（雄）	0.05	<0.01	0.42	0.20	0.05	0.02	0.01	0.01	0.01
尿（雌）	0.04	<0.01	1.51	0.19	0.04	0.05	0.03	0.02	0.01
糞（雄）	_ [a]	_ [a]	59.42[a]	16.01	2.92	0.37	0.13	0.12	0.22
糞（雌）	_ [a]	_ [a]	68.76[a]	5.57	1.19	0.46	0.20	0.19	0.59

累積排泄率（0～168 h）（% of dose）[b]						
性別／試料	尿	糞	ケージ洗浄液	ケージ残渣	ケージ網洗浄液	合計
雄	0.76	79.18	5.04	6.86	0.03	91.86
雌	1.87	76.95	6.69	8.86	0.18	94.54

平均値（n = 2），LSC = 液体シンチレーション計数法，MCT = 中鎖トリグリセリド，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[a]最初の糞回収は0～24時間であった。

[b]合計値は，収集区間の値の丸め方によりわずかに異なる場合がある。

2.6.5.13.4　　薬物動態試験：乳汁排泄　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：CRL420696，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.3-04

動物種／系統	ラット／SD				
性別／動物数	雌（出生後10日又は11日）／時点ごとに3				
給餌	食後				
溶媒	ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）				
投与方法	経口				
投与量（mg/kg）	2.5				
分析対象物	[^{14}C]				
定量法	LSC				
濃度（μg eq/g）					
組織／時間（h）	1	2	4	8	24
血液	0.120 ± 0.017	0.196 ± 0.004	0.245 ± 0.043	0.071 ± 0.033	0.010 ± 0.001
乳汁	0.027 ± 0.016	0.143 ± 0.036	0.239 ± 0.043	0.236[a]	試料なし
（乳汁/血液比）	0.213 ± 0.097	0.724 ± 0.172	0.994 ± 0.229	4.378[a]	NA
出生児血液	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
濃度/量（% of dose）					
組織／時間（h）[b]	1	3	7	23[c]	
出生児屍体（雄）	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.029 ± 0.049	0.336 ± 0.069	
出生児胃内容物（雄）	0.000 ± 0.000	0.013 ± 0.012	0.076 ± 0.023	0.017 ± 0.001	
出生児屍体（雌）	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.054 ± 0.048	0.330 ± 0.075	
出生児胃内容物（雄）	0.002 ± 0.001	0.014 ± 0.010	0.075 ± 0.019	0.020 ± 0.011	

平均値 ± 標準偏差（n = 3），LSC = 液体シンチレーション計数法，MCT = 中鎖トリグリセリド，NA = 該当せず，SD = Sprague-Dawley，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩

[a]3例未満のため標準偏差を算出しなかった。

[b]母動物から血液及び乳汁を採取する1時間前に仔を取り出した。

[c]母動物に投与した量のうち同腹の出生児全体に移行した割合は，投与後23時間に0.70%と推定され，各出生児の薬物由来放射能の曝露量は，投与量の0.053%と算出された.。

2.6.5.14　薬物動態試験：排泄：胆汁中

2.6.5.14.1　　薬物動態試験：胆汁排泄　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA05-18，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.2-02

動物種／系統	ラット／SD									
性別／動物数	雌雄／各3									
給餌	絶食									
溶媒/	ビタミンE-TPGS/MCT油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）									
投与方法	経口									
投与量（mg/kg）	5									
分析対象物	[^{14}C]									
定量法	LSC									
排泄率（% of dose）										
試料（性別）／時点（h）	0～1	1～2	2～3	3～4	4～5	5～6	6～8	8～12	12～24	24～48
胆汁（雄）	0.11 ± 0.03	0.30 ± 0.07	0.23 ± 0.04	0.19 ± 0.07	0.15 ± 0.08	0.13 ± 0.07	0.19 ± 0.07	0.30 ± 0.10	0.52 ± 0.17	0.38 ± 0.14
胆汁（雌）	0.17 ± 0.09	0.32 ± 0.05	0.36 ± 0.09	0.33 ± 0.07	0.46 ± 0.24	0.40 ± 0.24	0.81 ± 0.52	1.11 ± 0.81	0.91 ± 0.31	0.27 ± 0.04
尿（雄）	_ [a]	_ [a]	_ [a]	_ [a]	_ [a]	0.12 ± 0.11[a]	_ [a]	0.21 ± 0.17[a]	0.09 ± 0.04	0.04 ± 0.01
尿（雌）	_ [a]	_ [a]	_ [a]	_ [a]	_ [a]	0.15 ± 0.13[a]	_ [a]	0.28 ± 0.18[a]	0.08 ± 0.02	0.03 ± 0.01
糞（雄）	_ [b]	_ [b]	_ [b]	_ [b]	_ [b]	_ [b]	_ [b]	_ [b]	88.54 ± 1.85[b]	4.03 ± 2.03
糞（雌）	_ [b]	_ [b]	_ [b]	_ [b]	_ [b]	_ [b]	_ [b]	_ [b]	76.78 ± 8.58[b]	14.40 ± 11.35

累積排泄率（0～48 h）（% of dose）[c]						
性別／試料	胆汁	尿	糞	ケージ洗浄液	屍体	合計
雄	2.50 ± 0.80	0.46 ± 0.10	92.57 ± 0.37	0.13 ± 0.06	0.56 ± 0.12	96.22 ± 0.66
雌	5.14 ± 1.98	0.54 ± 0.09	91.18 ± 2.91	0.18 ± 0.21	0.45 ± 0.02	97.49 ± 1.47

平均値 ± 標準偏差（n = 3），LSC = 液体シンチレーション計数法，MCT = 中鎖トリグリセリド，SD = Sprague-Dawley，TPGS = D-α-トコフェリルポリエチレングリコール 1000コハク酸塩

[a]最初の畜尿は0～6時間，2回目の畜尿は6～12時間であった。

[b]最初の糞回収は0～24時間であった。

[c]合計値は，収集区間の値の丸め方によりわずかに異なる場合がある。

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1　　薬物動態試験：薬物相互作用（1）　　被験物質：[^{14}C]-ボクロスポリン

報告書番号：ISA08-02，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.6-01

被験物質	ボクロスポリン，[^{14}C]-ボクロスポリン
試験の種類	Caco-2細胞単層膜を用いたボクロスポリンのヒトP-gpに対する基質認識性及び阻害（*in vitro*試験）
方法	ボクロスポリンがP-gpの基質であるかを検討するために，ハンクス平衡塩類溶液に溶解した[^{14}C]-ボクロスポリン（0.4，1.2，又は4 µmol/L）を細胞単層膜の頂端膜側（pH 6.5）又は基底膜側（pH 7.4）のいずれかに添加し，37°C，5% CO_2でインキュベーションした（n = 3）。レシーバーウェルから60，120，180，及び240分に，ドナーウェルから0及び240分に一定分量を採取し，薬物由来放射能の濃度を液体シンチレーション計数法により測定した。[^{3}H]-ジゴキシン（10 µmol/L）を陽性対照とした。実験は独立して4回実施した。 ボクロスポリンがP-gpの阻害剤となるか検討するために，ボクロスポリン（0.04，0.12，0.4，1.2，又は4 µmol/L）の存在下で，[^{3}H]-ジゴキシンを細胞単層膜の頂端膜側又は基底膜側のいずれかに添加した。陽性対照として，シクロスポリンA（4 µmol/L）及びケトコナゾール（10 µmol/L），又は溶媒のみも同様に細胞の両側に添加した。レシーバーウェルから60分に，ドナーウェルから0及び60分に一定分量を採取した。液体シンチレーション計数法を用いて，薬物由来放射能濃度を測定した。 両方向の基質輸送を評価し，ボクロスポリンとジゴキシンの透過係数比（基底膜側から頂端膜側へのPapp／頂端膜側から基底膜側へのPapp）を算出した。
結果	[^{14}C]-ボクロスポリンの高い非特異的結合と，[^{14}C]-ボクロスポリン0.4及び1.2 µmol/Lの設定濃度で得られた結果の変動により，これらのデータから結論を導き出すことはできなかった。設定濃度4 µmol/Lの[^{14}C]-ボクロスポリンを用いた4回中3回の測定から能動的排出比 ＞2が算出されたことにより能動的排出が生じたことが示唆された。 設定濃度4 µmol/Lにおいて，ボクロスポリンはジゴキシンの能動的排出を91%阻害した。IC_{50}値は算出できなかった。

Papp = 透過係数

2.6.5.15.2　　薬物動態試験：薬物相互作用（2）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：XT198070，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.6-02

被験物質	ボクロスポリン
試験の種類	ボクロスポリンのヒトBCRP，OATP1B1及びOATP1B3に対する基質認識性（*in vitro*試験）
方法	Madin-Darbyイヌ腎臓細胞（MDCKII）単層膜に対するボクロスポリンの*in vitro*双方向輸送速度を，0.3，1，3，及び10 µmol/Lの濃度（364～12146 ng/mL），pH 7.4，頂端膜側及び基底膜側で検討した。検体は，15，30，及び120分後に各3回採取した。ボクロスポリンの輸送へのBCRPの関与を，ヒトBCRP発現MDCKII細胞における1 µmol/Lでの排出比とMDCKII対照細胞における排出比を比較することにより，また，Ko143（1 µmol/L）及びロピナビル（30 µmol/L）でBCRP活性を阻害することにより評価した。BCRPのプローブ基質であるプラゾシン（1 µmol/L）を単層膜上でのBCRPの機能発現の陽性対照として含めた。培養液を除去し，インキュベーション培地［N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-N′-(2-エタンスルホン酸)（HEPES）（25 mmol/L）及びグルコース（25 mmol/L）を添加したハンクス平衡塩類溶液（HBSS）］を細胞に加えた。37 ± 2°Cで30～60分間プレインキュベーションした。被験物質又は陽性基質と，溶媒対照又は陽性対照阻害剤を含むインキュベーション培地をドナーチャンバーに加え，レシーバーチャンバーに溶媒対照又は陽性対照阻害剤を含むインキュベーション培地を加えた。インキュベーションした試料については，標準のブランク［メタノール:水（50:50，v/v）］，及び内部標準を含むメタノール:水（50:50，v/v）を混合し，液体クロマトグラフィータンデム型質量分析（LC-MS/MS）により分析した。 OATP1B1及びOATP1B3を発現させたヒト胎児腎細胞293（HEK293）細胞，並びにHEK293対照細胞へのボクロスポリンの取込みを0.03，0.1，0.3，及び1 µmol/Lの濃度（36.4～1215 ng/mL）で評価した。HEK293細胞のインキュベーションは，炭酸水素ナトリウム（4 mmol/L）及びHEPES（9 mmol/L）を含むHBSS緩衝液，pH 7.4で行った。インキュベーション培地を阻害剤又は溶媒対照を含むインキュベーション培地に交換し，プレートを30分間プレインキュベーションした。プレインキュベーション後，インキュベーション培地をトランスポーター阻害剤（10 µmol/Lリファンピシン又は1 µmol/Lシクロスポリン A）又は溶媒対照と，被験物質又は陽性対照基質を含むインキュベーション培地に交換した。試料は，37 ± 2°Cで規定の時間，インキュベーションした（n = 3）。インキュベーション後，インキュベーション培地を除去し，細胞を0.2% w/v BSAを含む冷リン酸緩衝生理食塩水（PBS）で1回，冷PBSで2回洗浄した。細胞溶解試料は，1，3，及び10分間（ボクロスポリン）又は2分間（リファンピシン）のインキュベーション後，各3回採取した。OATP1B1/3のプローブ基質である[^{3}H]-エストラジオール-17β-グルクロニド（50 nmol/L）を陽性対照として用いた。ボクロスポリンとインキュベーションした試料については，PBSを除去し，内部標準を含むメタノール:水（50:50，v/v）を加えて抽出し，LC-MS/MSにより分析した。タンパク濃度は同条件で培養した別ウェルのタンパク濃度を測定した。HEK293細胞を用いて放射性標識基質とインキュベーションした試料については，PBSを除去し，水酸化ナトリウム（0.1 mol/L）を加えて抽出した。抽出液の一部を用いて放射能濃度を液体シンチレーションカウンターで測定した。タンパク濃度は，ビシンコニン酸（BCA）プロテインアッセイキットを用いて測定した。

（続く）

結果（BCRP）							
化合物	時点（h）	ボクロスポリン輸送（pmol）		P_{app}（× 10^{-6} cm/sec）（平均 ± SE）		排出比	補正排出比
		頂端膜側から基底膜側	基底膜側から頂端膜側	頂端膜側から基底膜側	基底膜側から頂端膜側		
ボクロスポリン（0.3 µmol/L）	0.25	8.20 (n = 1)	NC[a]	NC[b]	8.55 ± 0.00	NC[b]	NA
	0.5	NC[a]	NC[a]				
	2	NC[a]	2.71 (n = 2)				
ボクロスポリン（1 µmol/L）	0.25	NC[a]	5.03 ± 0.74	3.53 ± 0.00	13.8 ± 0.3	3.92	0.914
	0.5	NC[a]	9.40 (n = 2)				
	2	10.7 (n = 2)	42.8 ± 6.1				
ボクロスポリン（3 µmol/L）	0.25	NC[a]	10.5 ± 2.5	4.77 ± 0.21	19.0 ± 1.0	3.98	NA
	0.5	9.35 ± 2.22	23.8 ± 4.4				
	2	31.5 ± 7.2	127 ± 6				
ボクロスポリン（10 µmol/L）	0.25	8.54 ± 2.53	24.7 ± 3.7	7.27 ± 0.74	13.1 ± 0.6	1.80	
	0.5	24.4 (n = 2)	67.2 ± 4.0				
	2	194 ± 16	335 ± 18				
ボクロスポリン（対照細胞に対して 1 µmol/L）	0.25	NC[a]	1.49 ± 0.19	1.79 ± 0.00	7.66 ± 0.48	4.29	
	0.5	NC[a]	4.36 ± 0.77				
	2	5.40 (n = 1)	24.1 ± 6.3				
ボクロスポリン（1 µmol/L）+ Ko143（1 µmol/L）	0.25	NC[a]	1.81 ± 0.26	3.47 ± 0.00	10.3 ± 0.8	2.96	NC
	0.5	NC[a]	4.87 ± 0.18				
	2	8.40 ± 2.80	31.4 ± 2.1				
ボクロスポリン（1 µmol/L）+ ロピナビル（30 µmol/L）	0.25	NC[a]	NC[a]	5.80 ± 0.45	5.08 ± 0.42	0.876	NC
	0.5	NC[a]	2.27 ± 0.18				
	2	14.3 (n = 1)	13.8 ± 3.8				

（続く）

結果（OATP1B1/1B3）							
化合物	時間（min）	取込み速度（pmol/mg/min）		取込み率	取込み速度（pmol/mg/min）		取込み率
		対照	OATP1B1		対照	OATP1B3	
ボクロスポリン（0.03 µmol/L）	1	0.652 ± 0.034	0.910 ± 0.111	1.40	0.652 ± 0.034	0.840 ± 0.118	1.29
	3	0.300 ± 0.056	0.598 ± 0.100	1.99	0.300 ± 0.056	0.473 ± 0.036	1.57
	10	0.136 ± 0.019	0.396 ± 0.029	2.92	0.136 ± 0.019	0.248 ± 0.030	1.83
ボクロスポリン（0.1 µmol/L）	1	2.29 ± 0.35	3.16 ± 0.31	1.38	2.29 ± 0.35	3.39 ± 0.20	1.48
	3	1.55 ± 0.13	2.57 ± 0.15	1.66	1.55 ± 0.13	2.59 ± 0.05	1.67
	10	0.941 ± 0.101	1.73 ± 0.13	1.84	0.941 ± 0.101	1.36 ± 0.15	1.45
ボクロスポリン（0.3 µmol/L）	1	7.73 ± 0.78	10.5 ± 0.6	1.36	7.73 ± 0.78	10.4 ± 1.1	1.34
	3	6.34 ± 0.65	9.80 ± 0.82	1.55	6.34 ± 0.65	9.10 ± 0.23	1.44
	10	3.44 ± 0.10	6.30 ± 0.43	1.83	3.44 ± 0.10	5.10 ± 0.69	1.48
ボクロスポリン（1 µmol/L）	1	44.4 ± 4.7	44.8 ± 4.3	1.01	44.4 ± 4.7	41.6 ± 5.0	0.937
	3	32.9 ± 3.0	46.1 ± 2.2	1.40	32.9 ± 3.0	36.9 ± 1.7	1.12
	10	18.6 ± 0.8	27.6 ± 0.6	1.49	18.6 ± 0.8	21.4 ± 2.4	1.15
ボクロスポリン（0.1 µmol/L）＋リファンピシン（10 µmol/L）	1	3.02 ± 0.44	3.05 ± 0.53	1.01	3.02 ± 0.44	2.29 ± 0.17	0.759
	3	2.49 ± 0.37	2.96 ± 0.24	1.19	2.49 ± 0.37	2.46 ± 0.15	0.989
	10	1.55 ± 0.10	2.12 ± 0.16	1.37	1.55 ± 0.10	1.68 ± 0.12	1.08
ボクロスポリン（0.1 µmol/L）＋シクロスポリンA（1 µmol/L）	1	3.80 ± 0.36	3.50 ± 0.15	0.923	3.80 ± 0.36	2.94 ± 0.32	0.775
	3	2.50 ± 0.28	3.27 ± 0.29	1.31	2.50 ± 0.28	2.81 ± 0.26	1.13
	10	1.67 ± 0.06	2.03 ± 0.14	1.22	1.67 ± 0.06	1.78 ± 0.15	1.07
結論	ボクロスポリンはヒトBCRP，OATP1B1及びOATP1B3の基質ではなかった。						

特記なき限り，値は3回の測定の平均及び標準偏差を有効数字3桁で示す。n＝ 試験の回数，NA＝ 該当せず，NC＝ 算出せず，SE＝ 標準誤差

[a]値は定量限界（5 nmol/L）未満であった。

[b]頂端膜側から基底膜側Pappの算出に必要な十分なデータポイントが得られなかった。

2.6.5.15.5　　薬物動態試験：薬物相互作用（5）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：XT-194-Lux-02-[redacted]20[redacted]，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.6-03

被験物質	ボクロスポリン			
試験の種類	ボクロスポリンのヒトOATP1B1に対する阻害（*in vitro*試験）			
方法	OATP1B1を安定的に発現させたCHO細胞を用いて，ボクロスポリン及びシクロスポリンA（対照分子）がヒトOATP1B1と相互作用する可能性を評価した。実験では，細胞を5 mmol/L酪酸ナトリウムを添加したDMEM F-12に懸濁し，96ウェル培養プレートに約1×10^5細胞/ウェルの密度で播種し，24時間培養した。遺伝子非発現細胞株を陰性対照として用いた。取込み実験は，プローブ基質の[^{3}H]エストロン-3-硫酸（0.1 µmol/L）とボクロスポリン又はシクロスポリンA，又は溶媒を含むKrebs-Hanseleit緩衝液を用い，37˚Cで実施した（n = 3）。ボクロスポリン及びシクロスポリンAの濃度範囲は，0.014，0.041，0.12，0.37，1.11，3.33，及び10 µmol/Lとした。各ウェルの有機溶媒濃度は，1%（v/v）を超えないようにした。インキュベーションは10分間実施した。セリバスタチン（100 µmol/L）を阻害の陽性対照とした。各実験後，細胞をKrebs-Henseleit緩衝液で2回洗浄し，0.1 mol/L NaOHで溶解した。各ウェルから一部を採取し，シンチレーション液を加えて，液体シンチレーション計数法により，[^{3}H]エストロン-3-硫酸の輸送を評価した。			
結果	ボクロスポリン及びシクロスポリンAは，OATP1B1高発現CHO細胞へのトランスポーターを介したエストロン-3-硫酸取込みを用量依存的に阻害した（下表）。			

化合物	評価トランスポーター	最大阻害（%）	IC_{50}（µg/mL）	IC_{50}（µmol/L）
ボクロスポリン	OATP1B1	100	0.60	0.49
シクロスポリンA（対照分子）	OATP1B1	100	0.72	0.60
結論	ボクロスポリンは，ヒトOATP1B1の阻害剤となる可能性が示唆された。ボクロスポリンとシクロスポリンAのIC_{50}値は同等であった。			

CHO = チャイニーズハムスター卵巣，DMEM = ダルベッコ変法イーグル培地

2.6.5.15.6　　薬物動態試験：薬物相互作用（6）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：XT-400-Lux-03-[redacted]20[redacted]，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.6-04

被験物質	ボクロスポリン		
試験の種類	ボクロスポリンのヒトBCRP及びOATP1B3に対する阻害（*in vitro*試験）		
方法	小胞輸送阻害アッセイを用いて，ボクロスポリン及びシクロスポリンA（対照分子）がヒトBCRPと相互作用する可能性を評価した。ボクロスポリン及びシクロスポリンAはそれぞれ調製した膜小胞（総タンパク：25 µg/ウェル）とインキュベーションした（n = 3）。プローブ基質（[^{3}H]エストロン-3-硫酸）の小胞へのトランスポーターを介した取込みと受動的拡散を区別するために4 mmol/L ATP の非存在下又は存在下でインキュベーションを行った。ボクロスポリン又はシクロスポリンAを溶媒0.75 µL（インキュベーション時の容量の1%）の反応液に添加した。ボクロスポリン及びシクロスポリンAの濃度は，0，0.014，0.041，0.12，0.37，1.11，3.33，及び10 µmol/Lとした。阻害剤の陽性対照としてKo143（1 µmol/L）を使用した。反応液を32°Cで10分間プレインキュベーションし，別途プレインキュベーションしていた12 mmol/L Mg-ATP（又はバックグラウンド対照用のアッセイ緩衝液）を添加して反応を開始した。氷冷した洗浄緩衝液を加えて反応を停止後，速やかに濾過を行った。フィルターを洗浄及び乾燥後，濾過した小胞内の基質量を液体シンチレーション計数法により測定した。 OATP1B3を安定的に発現させたCHO細胞を用いて，ボクロスポリン及びシクロスポリンAがヒトOATP1B3と相互作用する可能性を評価した。遺伝子非発現細胞株を陰性対照として用いた。取込み実験は，プローブ基質（Fluo-3，10 µmol/L）と被験物質又は溶媒を含むKrebs-Henseleit緩衝液（pH 7.0）を用い，37°Cで実施した。ボクロスポリン及びシクロスポリンAの評価濃度は，0.014，0.041，0.12，0.37，1.11，3.33，及び10 µmol/Lで実施した。有機溶媒濃度は，1%（v/v）を超えないようにした。阻害剤の陽性対照としてフラバスタチン（30 µmol/L）を使用した。Fluo-3の取込みを蛍光により測定した。		
結果			
化合物	評価トランスポーター	IC_{50}（µmol/L）	最大阻害［対照に対する割合（%）］
ボクロスポリン	BCRP	> 10	45
シクロスポリンA（対照分子）	BCRP	8.3	56
ボクロスポリン	OATP1B3	0.24	95
シクロスポリンA（対照分子）	OATP1B3	0.4	100
結論	ボクロスポリンは，ヒトOATP1B3の阻害剤となる可能性が示唆された（IC_{50} = 0.24 µmol/L）。ボクロスポリンは，使用した濃度範囲でヒトBCRPと相互作用したが，IC_{50}値は> 10 µmol/Lであった。		

CHO = チャイニーズハムスター卵巣，ATP = アデノシン3リン酸

2.6.5.15.7　　薬物動態試験：薬物相互作用（7）　　被験物質：ボクロスポリン

報告書番号：XT198070，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.6-02

被験物質	ボクロスポリン
試験の種類	ボクロスポリンのヒトOAT1，OAT3，OCT2，MATE1及びMATE2-Kに対する阻害（*in vitro*試験）
方法	ボクロスポリンのヒトOAT1，OAT3，OCT2，MATE1，及びMATE2-K阻害活性を評価した。HEK293細胞単層膜を用いて，ボクロスポリンの存在下0.2，2.0 µmol/L（243，2429 ng/mL）又は，非存在下で，pH 7.4（OAT及びOCT）又はpH 8.5（MATE）の条件下でのプローブ基質の細胞内集積を測定することにより評価した。空ベクターを導入したHEK293細胞を陰性対照とした。実験は，炭酸水素ナトリウム（4 mmol/L）及びN-[2-ヒドロキシエチル]ピペラジン-N'-[2-エタンスルホン酸]（HEPES）（9 mM）を含むハンクス平衡塩類溶液（HBSS）緩衝液を用いて実施した。OAT1，OAT3，及びOCT2/MATE1/MATE2-Kのプローブ基質は，それぞれ[^{3}H] p-アミノ馬尿酸（1 µmol/L），[^{3}H]-エストロン-3-硫酸（50 nmol/L），及び[^{14}C]メトホルミン（10 µmol/L）を用いた。また，トランスポーター阻害剤を陽性対照として，トランスポーター発現細胞とともに用いた（100 µmol/Lプロベネシド：OAT1/2，300 µmol/Lキニジン又は1000 µmol/Lシメチジン：OCT2，20 µmol/Lシメチジン：MATE1，300 µmol/Lシメチジン :MATE2-K）。トランスポーター遺伝子発現を誘導させるため，MATE1，MATE2-K及びそれぞれの対照細胞を酪酸（10 mmol/L）と24時間インキュベーションした。被験物質，陽性対照の阻害剤又は溶媒対照を含むインキュベーション培地を入れたプレートを15分間プレインキュベーションした。プレインキュベーション後，インキュベーション培地を被験物質，陽性対照の阻害剤，又は溶媒対照とプローブ基質を含むインキュベーション培地に交換した。実験はn = 3で実施し，インキュベーションは37°Cで1分間（OAT1），2分間（OAT2及びOCT2），又は5分間（MATE1/2-K）行った。インキュベーション後，インキュベーション培地を除去し，細胞を0.2% w/v BSAを含む冷PBSで1回，冷PBSで2回洗浄した。HEK293細胞中の放射性標識基質をシンチレーションカウンターにより測定し，タンパク濃度で補正した。

結果（OAT1）

基質	阻害剤	阻害剤濃度（µmol/L）	取り込み速度（pmol/mg/min）		バックグラウンド補正取込み速度（pmol/mg/min）	対照に対する割合（%）
			対照	OAT1		
[^{3}H]-p-アミノ馬尿酸（1 µmol/L）	溶媒対照なし	0	0.718 (n = 2)	49.8 ± 3.6	49.1	NA
	溶媒対照	0	0.653 ± 0.271	53.1 ± 2.7	52.5	100
	ボクロスポリン	0.2	0.467 ± 0.312	56.5 ± 8.1	56.0	107
		2	0.404 ± 0.064	57.8 ± 9.3	57.4	109

（続く）

（続き）　　報告書番号：XT198070，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.6-02

結果（OAT3）						
基質	阻害剤	阻害剤濃度（μmol/L）	取り込み速度（pmol/mg/min）		バックグラウンド補正取込み速度（pmol/mg/min）	対照に対する割合（%）
			対照	OAT3		
[^{3}H]-エストロン-3-硫酸（50 nmol/L）	溶媒対照なし	0	0.0180 ± 0.0098	0.294 ± 0.010	0.276	NA
	溶媒対照	0	0.0111 ± 0.0038	0.303 ± 0.008	0.292	100
	ボクロスポリン	0.2	0.0106 ± 0.0041	0.319 ± 0.008	0.308	105
		2	0.0111 ± 0.0048	0.567 ± 0.009	0.555	190
結果（OCT2）						
基質	阻害剤	阻害剤濃度（μmol/L）	取り込み速度（pmol/mg/min）		バックグラウンド補正取込み速度（pmol/mg/min）	対照に対する割合（%）
			対照	OCT2		
[^{14}C]-メトホルミン（10 μmol/L）	溶媒対照なし	0	6.12 ± 2.20	339 ± 12	333	NA
	溶媒対照	0	6.98 ± 0.90	348 ± 8	341	100
	ボクロスポリン	0.2	5.43 ± 0.52	391 ± 12	386	113
		2	6.03 ± 1.68	418 ± 25	412	121
結果（MATE1）						
基質	阻害剤	阻害剤濃度（μmol/L）	取り込み速度（pmol/mg/min）		バックグラウンド補正取込み速度（pmol/mg/min）	対照に対する割合（%）
			対照	MATE1		
[^{14}C]-メトホルミン（10 μmol/L）	溶媒対照なし	0	1.60 (n = 2)	64.5 ± 4.5	62.9	NA
	溶媒対照	0	1.78 ± 0.19	78.7 ± 10.1	77.0	100
	ボクロスポリン	0.2	2.38 ± 0.42	94.4 ± 9.0	92.0	120
		2	1.67 (n = 2)	77.1 ± 6.1	75.5	98.0

（続く）

（続き）　　報告書番号：XT198070，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.6-02

結果（MATE2-K）						
基質	阻害剤	阻害剤濃度（μmol/L）	取り込み速度（pmol/mg/min）		バックグラウンド補正取込み速度（pmol/mg/min）	対照に対する割合（%）
			対照	MATE2-K		
[^{14}C]-メトホルミン（10 μmol/L）	溶媒対照なし	0	2.29 ± 0.56	67.4 ± 6.5	65.1	NA
	溶媒対照	0	2.83 ± 0.40	65.5 ± 1.6	62.7	100
	ボクロスポリン	0.2	2.95 ± 0.44	73.4 ± 2.5	70.5	112
		2	2.21 ± 0.00	72.7 ± 2.7	70.5	112
結論	ボクロスポリンがヒトOAT1，OAT3，及びOCT2取込みトランスポーター，並びにMATE1及びMATE2-K排出トランスポーターの阻害剤となる可能性はない。					

特に記載がないかぎり，取り込み速度は 平均値 ± 標準偏差（n = 3）で表示し，n = 2 の場合は平均値で表示，HEK293 = ヒト胎児腎細胞293，NA = 該当せず

2.6.5.16　薬物動態試験：その他

2.6.5.16.1　　薬物動態試験：その他（1）　　被験物質：トランス型ISA247，シス型ISA247

報告書番号：ISA03-08，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.7-01

被験物質	トランス型ISA247，シス型ISA247							
試験の種類	ヒト全血におけるISA247のシス異性体とトランス異性体の相互変換の可能性の検討							
方法	全血を4名から採取し2名ずつ混合した。全血又は50°Cで1時間処理した変性全血にシス型ISA247又はボクロスポリン（トランス型ISA247）のいずれかを25又は500 ng/mLの濃度で添加した（n = 2）。試料を37°Cで0，0.5，1，2，4，及び6時間インキュベーション後に回収し，LC/APCI/MSにより分析した。異性体純度：トランス型ISA247（96.3%），シス型ISA247（99%）							
結果（シス型／トランス型 ピーク面積比）								
インキュベーション時間（h）	25 ng/mL				500 ng/mL			
	シス異性体添加時のトランス異性体生成率（%）		トランス異性体添加時のシス異性体生成率（%）		シス異性体添加時のトランス異性体生成率（%）		トランス異性体添加時のシス異性体生成率（%）	
	全血	変性全血	全血	変性全血	全血	変性全血	全血	変性全血
0	0.00	0.00	4.80	4.66	0.00	0.00	4.09	3.80
0.5	0.00	0.00	5.14	4.32	0.00	0.00	3.91	3.95
1	0.00	0.00	5.44	4.69	0.00	0.00	3.65	4.08
2	0.00	0.00	4.77	4.71	0.00	0.00	4.14	3.84
4	0.00	0.00	4.95	4.90	0.00	0.00	3.92	4.19
6	0.00	0.00	4.83	5.08	0.00	0.00	4.25	4.04
結論	シス型ISA247又はトランス型ISA247のピーク面積を6時間にわたり測定したとき，シス異性体がトランス異性体に変換されている，又はトランス異性体がシス異性体に変換されていることを示す変化（ピーク面積の増加又は減少）は認められなかった。*In vitro*試験の結果は，シス型ISA247及びボクロスポリンはヒト全血において相互変換しないことを示している。							

平均値（n = 2）

被験物質	ボクロスポリン，トランス型ISA247							
試験の種類	ヒトにボクロスポリン又はラットにトランス型ISA247を経口投与したときの全血中におけるトランス型ISA247からシス型ISA247への変換の可能性の検討							
方法	ヒトの用量漸増反復投与試験（ISA03-12試験），ラットを用いた13週間のブリッジング毒性試験（資料番号4.2.3.2-09）の血液試料を用いて，トランス型ISA247，ボクロスポリン投与群のデータを分析し，総薬物濃度（シス異性体+トランス異性体）に対するシス異性体の割合（%）を検討した。							
結果								
ヒト	投与量 0.25 mg/kg 1日2回				投与量 0.5 mg/kg 1日2回			
	Day 1		Day 13		Day 1		Day 13	
時間（h）	総薬物（ng/mL）	シス異性体（%）	総薬物（ng/mL）	シス異性体（%）	総薬物（ng/mL）	シス異性体（%）	総薬物（ng/mL）	シス異性体（%）
0	BQL	NC	9.1	BQL	BQL	NC	30.4	3.8
0.5	19.0	BQL	34.0	4.1	58.4	3.4	97.1	3.2
1	47.4	2.7	49.4	2.6	116.9	2.6	187.1	2.8
1.5	46.0	2.4	47.1	2.6	101.1	2.4	180.9	2.4
2	37.2	3.3	40.5	3.1	81.9	2.4	160.9	2.4
2.5	29.8	3.6	35.6	4.0	67.0	2.4	127.7	2.2
3	22.4	BQL	28.8	3.7	54.4	3.1	103.0	2.4
4	14.0	BQL	22.4	BQL	35.2	3.5	75.9	2.6
6	8.5	BQL	13.9	BQL	19.4	BQL	47.3	3.0
8	5.7	BQL	10.9	BQL	12.8	BQL	38.0	3.3
10	4.2	BQL	9.0	BQL	9.5	BQL	30.2	4.5
12	3.4	BQL	7.4	BQL	7.2	BQL	26.7	4.3
16	2.1	BQL	5.8	BQL	4.2	BQL	17.1	BQL
24	1.4	BQL	4.2	BQL	3.1	BQL	13.5	BQL
48	BQL	NC	2.4	BQL	1.2	BQL	6.8	BQL

（続く）

（続き）　　報告書番号：ISA09-11，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.2.7-02

結果								
ヒト	投与量 1.0 mg/kg 1日2回				投与量 1.5 mg/kg 1日2回			
	Day 1		Day 13		Day 1		Day 13	
時間（h）	総薬物（ng/mL）	シス異性体（%）	総薬物（ng/mL）	シス異性体（%）	総薬物（ng/mL）	シス異性体（%）	総薬物（ng/mL）	シス異性体（%）
0	BQL	NC	119.1	2.1	BQL	NC	206.8	2.3
0.5	106.8	3.0	217.9	2.4	284.8	2.5	340.6	2.9
1	365.4	2.6	549.2	2.3	667.6	2.2	755.1	2.9
1.5	496.8	2.1	620.6	2.2	699.3	1.8	838.7	2.7
2	412.4	2.1	564.1	2.1	589.3	1.7	761.1	2.8
2.5	340.8	2.1	406.5	2.0	431.9	1.7	705.9	2.7
3	259.7	2.1	406.4	2.0	330.7	1.7	621.4	2.8
4	159.3	2.4	302.8	2.1	211.2	1.8	484.7	2.7
6	89.8	2.8	210.3	2.3	119.9	1.9	320.3	2.7
8	62.7	3.2	152.9	2.2	88.4	2.2	260.2	2.5
10	49.2	3.9	125.5	2.2	63.2	2.0	211.4	2.4
12	38.9	3.3	104.9	2.4	52.3	2.3	184.9	2.2
16	24.6	BQL	83.3	2.7	30.6	BQL	135.7	2.2
24	13.8	BQL	63.9	3.9	17.5	BQL	104.6	2.3
48	3.5	BQL	35.6	4.2	4.9	BQL	59.6	3.4

（続く）

結果											
投与量 10 mg/kg						投与量 25 mg/kg					
ラットID	時間（h）	シス異性体（ng/mL）	トランス異性体（ng/mL）	総薬物（ng/mL）	シス異性体の割合（%）	ラットID	時間（h）	シス異性体（ng/mL）	トランス異性体（ng/mL）	総薬物（ng/mL）	シス異性体の割合（%）
223	2	BQL	438.2	438.2	NC	250	2	BQL	807.5	807.5	NC
223	12	BQL	259.0	259.0	NC	250	12	BQL	292.1	292.1	NC
224	2	BQL	442.8	442.8	NC	251	2	BQL	365.9	365.9	NC
224	12	BQL	91.3	91.3	NC	251	12	BQL	879.7	879.7	NC
225	2	BQL	483.8	483.8	NC	252	1	1.6	1032.8	1034.3	0.2
225	12	BQL	105.8	105.8	NC	252	4	3.8	1008.5	1012.3	0.4
226	1	BQL	715.9	715.9	NC	252	24	BQL	21.5	21.5	NC
226	4	BQL	590.6	590.6	NC	253	1	16.3	1734.9	1751.2	0.9
227	1	BQL	392.9	392.9	NC	253	4	32.6	2131.6	2164.2	1.5
227	4	BQL	285.8	285.8	NC	253	24	BQL	265.5	265.5	NC
228	1	BQL	404.2	404.2	NC	254	1	37.9	2,064.7	2102.6	1.8
						254	4	BQL	706.9	706.9	NC
						254	24	BQL	27.3	27.3	NC
結論	ヒト及びラットにおいて*in vivo*でトランス異性体はシス異性体に変換されないことが示唆された。投与した被験物質には少量のシス異性体が含まれるため，血中に少量のシス異性体が認められることは予想される。										

BQL = 定量限界未満 ， NC = 算出せず

2.6.5.16.5　　薬物動態試験：その他（5）　　被験物質：ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247

報告書番号：ISA03-02，CTDにおける記載箇所：資料番号4.2.1.3-04

被験物質	ボクロスポリン，mix-ISA247，シス型ISA247		
試験の種類	サルに経口投与したときの全血中におけるトランス異性体からシス異性体への変換の可能性の検討		
方法	サルの安全性薬理試験で採取した血液試料を用いて，トランス型ISA247，mix-ISA247，及びシス型ISA247を200 mg/kgで単回経口投与したときの，ボクロスポリンのシス異性体とトランス異性体の*in vivo*相互変換の可能性を評価した。		
結果			
サルID	被験物質	シス型ISA247 AUC_{24h}（ng·h/mL）	トランス型ISA247 AUC_{24h}（ng·h/mL）
F3104	シス型ISA247	2281.3	38.2
	mix-ISA247	1534.3	2822.6
	ボクロスポリン	75.1	4537.6
F3105	シス型ISA247	1212.6	13.5
	mix-ISA247	633.5	1225.5
	7ボクロスポリン	56.1	2940.9
F3106	シス型ISA247	1242.7	13.2
	mix-ISA247	1614.9	3101.8
	ボクロスポリン	83.3	4239.9
M3101	シス型ISA247	1185.9	13.3
	mix-ISA247	1135.7	1966.9
	ボクロスポリン	66.9	3496.4

（続く）

結果			
サルID	被験物質	シス型ISA247 AUC_{24h}（ng·h/mL）	トランス型ISA247 AUC_{24h}（ng·h/mL）
M3102	シス型ISA247	1994.0	21.5
	mix-ISA247	809.4	1377.2
	ボクロスポリン	63.5	3195.4
M3013	シス型ISA247	2290.3	26.1
	mix-ISA247	1633.6	2741.6
	ボクロスポリン	137.6	2797.0
結論	ボクロスポリン，mix-ISA247，及びシス型ISA247を200 mg/kgで単回経口投与したとき，シス異性体とトランス異性体間の相互変換は認められなかった。		