Table of Contents

1 まとめ 8
2 分析法 10
2.1 血漿中 Repotrectinib 濃度測定 10
2.2 GLP 適合試験における Incurred Sample Reanalysis 11
2.3 生体試料中の[^{14}C]-Repotrectinib 由来放射能の濃度測定 12
3 吸収 12
3.1 単回投与したときの吸収 12
3.1.1 マウス、ラット、イヌ及びサルに単回投与したときの吸収 12
3.1.2 イヌにカプセル剤及び懸濁剤を単回投与したときの曝露量比較 15
3.1.3 サルにカプセル剤及び懸濁剤を単回投与したときの曝露量比較 15
3.2 反復投与したときのトキシコキネティクス 16
3.2.1 ラットに 7 日間反復投与したときのトキシコキネティクス 16
3.2.2 ラットに 28 日間反復投与したときのトキシコキネティクス 17
3.2.3 ラットに 91 日間反復投与したときのトキシコキネティクス 18
3.2.4 サルに 5 日間反復投与したときのトキシコキネティクス 19
3.2.5 サルに 7 日間反復投与したときのトキシコキネティクス 20
3.2.6 サルに 28 日間反復投与したときのトキシコキネティクス 21
3.2.7 サルに 91 日間反復投与したときのトキシコキネティクス 22
3.3 膜透過性及びトランスポーター 23
3.4 吸収のまとめ 24
4 分布 24
4.1 組織分布 24
4.1.1 マウスにおける脳内移行性 24
4.1.2 雌性幼若ラットにおける脳内移行性及び薬物動態 24
4.1.3 ラットにおける組織分布 25
4.2 血漿蛋白結合 25
4.2.1 血漿蛋白結合率 25
4.2.2 ヒト血中蛋白結合 26
4.3 血球移行性 26
4.4 分布のまとめ 26
5 代謝 26
5.1 In Vitro 代謝 26
5.1.1 肝ミクロソームにおける代謝安定性 26
5.1.2 肝細胞における代謝安定性 26
5.1.3 CYP の同定 27
5.2 毒性試験に用いる非臨床動物種選択のための in vitro 及び in vivo 代謝評価 27
5.3 ラット、サル及びヒトの血漿中、尿中、糞中及び胆汁中の代謝物プロファイル 28

5.4 ラット、サル及びヒトにおける推定代謝経路 32
5.5 代謝のまとめ 33
6 排泄 33
6.1 ラットにおける排泄及びマスバランス 33
6.2 サルにおける排泄及びマスバランス 35
6.3 ヒトにおける排泄及びマスバランス 35
6.4 乳汁移行 35
6.5 排泄のまとめ 35
7 薬物動態学的薬物相互作用 36
7.1 CYP 阻害 36
7.1.1 可逆的阻害 36
7.1.2 時間依存的阻害 37
7.2 CYP 誘導 37
7.2.1 PXR 活性化 37
7.2.2 ヒト肝細胞における CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 誘導 38
7.2.3 ヒト肝細胞における CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 誘導 38
7.3 UGT 阻害 39
7.4 薬物トランスポーターとの相互作用 40
7.4.1 消化管トランスポーター 40
7.4.2 肝トランスポーター 40
7.4.3 腎トランスポーター 41
7.4.4 トランスポーター阻害能の評価 41
7.5 薬物動態学的薬物相互作用のまとめ 42
8 その他の薬物動態試験 43
9 考察及び結論 43
10 参考文献 46

List of Tables

Table 2-1: ラット及びサルの血漿中 Repotrectinib 濃度測定における生体試料中分析法バリデーションの要約 11
Table 3.1.1-1: 各動物種における Repotrectinib の絶対的バイオアベイラビリティ 13
Table 3.1.1-2: 各動物種に Repotrectinib を単回静脈内投与したときの PK パラメータ 14
Table 3.1.1-3: 各動物種に Repotrectinib を単回経口投与したときの PK パラメータ 14
Table 3.1.2-1: 雄性イヌに Repotrectinib のカプセル剤及び懸濁剤を単回経口投与したときの PK パラメータ 15
Table 3.1.3-1: 雄性サルに Repotrectinib のカプセル剤及び懸濁剤を単回経口投与したときの PK パラメータ 16
Table 3.2.1-1: 雌雄ラットに Repotrectinib を 7 日間反復経口投与したときの TK パラメータ 17
Table 3.2.2-1: 雌雄ラットに Repotrectinib を 28 日間反復経口投与したときの TK パラメータ 18
Table 3.2.3-1: 雌雄ラットに Repotrectinib を 91 日間反復経口投与したときの TK パラメータ 19
Table 3.2.4-1: 雄性サルに Repotrectinib を 5 日間反復経口投与したときの TK パラメータ 20
Table 3.2.5-1: 雌雄サルに Repotrectinib を 7 日間反復経口投与したときの TK パラメータ 21
Table 3.2.6-1: 雌雄サルに Repotrectinib を 28 日間反復経口投与したときの TK パラメータ 22
Table 3.2.7-1: 雌雄サルに Repotrectinib を 91 日間反復経口投与したときの TK パラメータ 23
Table 5.3-1: [^{14}C]-Repotrectinib 単回投与後のラット、サル及びヒトの血漿中の Repotrectinib 及び代謝物の曝露量 29
Table 5.3-2: ラット、サル及びヒトの尿中の薬物関連化合物 30
Table 5.3-3: ラット、サル及びヒトの糞中の薬物関連化合物 31
Table 5.3-4: ラットの胆汁中の薬物関連化合物 32
Table 7.1.1-1: ヒト肝ミクロソームにおける CYP 活性阻害に関する R_1 算出値 37
Table 7.3-1: Repotrectinib の UGT 活性阻害に関する R_1 計算値 40

Table 7.4.4-1: トランスポーターを介した Repotrectinib の DDI 評価 42

List of Figures

Figure 5.4-1: ラット、サル及びヒトにおける Repotrectinib の推定代謝経路 33

用語及び略号一覧

略号	英語	日本語
ADME	absorption, distribution, metabolism and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
AGP	alpha-1-acid glycoprotein	α_1-酸性糖蛋白
A to B	apical to basolateral	頂端膜側から基底膜側
AUC	area under the plasma concentration vs. time curve	血漿中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}inf}$	area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity	投与後 0 時間から無限時間までの AUC
$AUC_{0\text{-}t}$	area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point	投与後 0 時間から濃度測定可能最終時間までの AUC
$AUC_{0\text{-}Xh}$	area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to X hours	投与後 0 時間から X 時間までの AUC
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
BDC	bile duct cannulated	胆管カニューレ挿入
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩輸送ポンプ
B to A	basolateral to apical	基底膜側から頂端膜側
CL	plasma clearance	クリアランス
CL_{int}	intrinsic clearance	固有クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CMC	carboxymethylcellulose	カルボキシメチルセルロース
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DMA	dimethylacetamide	ジメチルアセトアミド
DDI	drug-drug-interaction	薬物相互作用
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎
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

略号	英語	日本語
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IV	intravenous	静脈内
LC-AMS	liquid chromatography with accelerator mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・加速器質量分析
LC-MS	liquid chromatography with mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・質量分析
LC-MS/MS	liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限
MATE	multidrug and toxin extrusion protein	多剤・毒性化合物排出蛋白
NADPH	beta-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P_{app}	apparent permeability rate coefficient	見かけの透過係数
P-gp	P-glycoprotein	P 糖蛋白
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
PXR	pregnane X receptor	プレグナン X 受容体
QC	quality control	–
QD	once a day	1 日 1 回
QWBA	quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RSD	relative standard deviation	相対標準偏差
SD	standard deviation	標準偏差
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
T_{max}	time to C_{max}	最高濃度到達時間
UGT	uridine 5’-diphospho-glucuronosyltransferase	ウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素
V_{dss}	volume of distribution at steady-state	定常状態分布容積

1 まとめ

Repotrectinib（別名：TPX-0005、BMS-986472）は、受容体型チロシンキナーゼの ROS1、トロポミオシン受容体キナーゼ（TRK）及び未分化リンパ腫キナーゼ（ALK）の活性型キナーゼ構造を標的とする、アデノシン三リン酸（ATP）競合型の経口投与可能な低分子阻害剤である。Repotrectinib の吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）について、非臨床薬理及び毒性試験に用いた動物種並びにヒト生体試料を用いた in vitro 及び in vivo 試験を実施し、薬物動態（PK）／トキシコキネティクス（TK）を評価した。また、Repotrectinib の薬物相互作用（DDI）の可能性について、チトクローム P450（CYP）、ウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）並びに薬物トランスポーターに関する in vitro 試験を実施した。

ラット及びサルの血漿中 Repotrectinib 濃度測定にはバリデーションされた液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用い、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適合の毒性試験に利用した。血漿及び排泄物（尿及び糞試料）中 Repotrectinib 及びその代謝物濃度測定には液体クロマトグラフィー・質量分析（LC-MS）法及び液体クロマトグラフィー・加速器質量分析（LC-AMS）法などを用いた。

ラット及びサルに Repotrectinib を単回静脈内投与したとき、Repotrectinib のクリアランス（CL）は低度から中等度（肝血流量の約 10%～41%[1]）であり、定常状態分布容積（V_{dss}）は検討したすべての動物種で体内総水分量（約 0.6～0.7 L/kg[1]）より大きく、組織中へ広範に分布することが示唆された。絶対的バイオアベイラビリティは、雄性ラット、雌性ラット及び雌性サルでそれぞれ 45%、61%及び 14%であった。

ラットに Repotrectinib を単回及び反復経口投与したとき、曝露量に性差が認められ、雌では雄の約 2 倍の高値であった。したがって、これらの試験以降に実施した GLP 適合の反復投与毒性試験では雌の用量を減量した。Repotrectinib の曝露量は概ね用量比を下回って増加した。Repotrectinib を 28 日間又は 91 日間反復経口投与したとき、低用量及び中用量（5～30 mg/kg/day）では、定常状態における曝露量は Day 1 の曝露量の約 2～4 倍であり、蓄積が認められた。高用量（100 mg/kg/day 以上）では、曝露量の減少傾向が認められた。サルに Repotrectinib を反復経口投与したとき、曝露量に性差は認められなかった。Repotrectinib を 28 日間又は 91 日間反復経口投与したとき、Day 1、Day 28 及び Day 91 における曝露量は用量比を下回って増加した。また、反復投与による蓄積は認められなかった。

マウスに Repotrectinib を単回及び反復経口投与したとき、限定的な脳内移行性が認められ、血漿中濃度に対する脳内濃度の割合は、それぞれ約 5.2%及び 3.8%であった。雌性幼若ラットに Repotrectinib を単回経口投与したとき、血漿中曝露量に対する脳内曝露量の割合は 1%以下であった。Long Evans ラットに[^{14}C]-Repotrectinib を単回経口投与し、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）により組織分布を評価した結果、薬物由来の放射能は広範な組織に速やかに分布した。雌雄ラットともに薬物由来の放射能の曝露量が最も高かった組織は、有色皮膚、ぶどう膜、肝臓、

腎皮質及び腎臓であった。薬物由来の放射能は投与後 168 時間以内にほぼすべての組織から消失し、メラニン含有組織に結合しないことが示唆された。

動物及びヒトにおける Repotrectinib の血漿蛋白結合率は同程度で高い結合率を示した（動物：92.1%～95.8%、ヒト：95.4%）。Repotrectinib は、ヒト α_1-酸性糖蛋白（AGP：7.6%～10.5%）と比べて、ヒト血清アルブミン（HSA：95.2%～96.0%）と高い結合率を示した。In vitro のヒト血漿に対する血中濃度の比は 0.55 であり、血球移行性は限定的であった。

代謝安定性試験で、サル肝ミクロソームの固有クリアランス（CL_{int}）はラット、イヌ及びヒトと比べて最も高い値を示した。ラットの肝ミクロソームでは性差が認められ、雌の肝ミクロソームの CL_{int} 値は雄と比べて低値を示した。また Repotrectinib の代謝安定性は、マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞でサル肝細胞と比べて高かった。

In vitro 及び in vivo 試験の結果から、Repotrectinib の主要な代謝反応は CYP3A4 による酸化であり、次いでその酸化代謝物のグルクロン酸抱合であった。ラット、サル及びヒトの ADME 試験の結果から、薬物関連曝露量の 10%を上回る主要代謝物又はヒト特有の代謝物は認められなかった。

ラット、サル及びヒトにおいて、Repotrectinib 及び代謝物の主要な消失経路は糞中排泄であり、尿中排泄による消失の寄与は小さかった。

In vitro で、Repotrectinib は、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5 を軽度かつ可逆的に阻害し［50%阻害濃度（IC_{50}）：5.72～12.6 μM］、また、UGT1A1 を阻害した（IC_{50}：1.60 μM）。ヒト肝細胞において、Repotrectinib は CYP1A2 誘導能を示さなかったが、CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA レベルを濃度依存的に増加させ、さらに CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 の mRNA レベル及び酵素活性を濃度依存的に増加させた。

Repotrectinib は P 糖蛋白（P-gp）の基質であり、乳癌耐性蛋白（BCRP）及び多剤・毒性化合物排出蛋白（MATE）2-K の基質である可能性がある。一方で、Repotrectinib は胆汁酸塩輸送ポンプ（BSEP）、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び有機カチオントランスポーター（OCT）2 の基質でなかった。Repotrectinib は 1 及び 3 μM の濃度で OATP1B3 の基質ではなく、また、1 μM の濃度で有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3、OCT1 及び MATE1 の基質でもなかった。
Repotrectinib は高濃度下で、P-gp 及び BCRP を阻害し（IC_{50}：それぞれ 16.7 及び 6.9 μM）、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K を阻害した（IC_{50}：0.726～50.7 μM）。

Repotrectinib の PK 特性及び DDI 発現の可能性を詳細に検討した。その結果、Repotrectinib は薬理及び毒性評価に用いた非臨床動物種において適切な PK 特性が確認され、DDI の検討結果は臨床薬理評価の有益な情報として利用された。

2 分析法

2.1 血漿中 Repotrectinib 濃度測定

PK 及び TK 試験の血漿中及びその他の生体試料中 Repotrectinib 濃度は、LC-MS/MS 法を用いて測定した。

Repotrectinib は単一の立体異性体として合成され、2 つの不斉炭素を有する（Figure 5.4-1 の構造式参照）。2 つの不斉炭素の絶対配置を X 線結晶構造解析により確認した（試験番号 00232）。また、他の 3 つの立体異性体（TPX-[redacted]、TPX-[redacted] 及び TPX-[redacted]）を用いて、Repotrectinib のキラル純度測定のため 4 つの立体異性体がベースラインで分離可能なキラルカラムを用いた LC-MS/MS 法を開発した。

Repotrectinib をそのジアステレオマーである TPX-[redacted] 又は TPX-[redacted] に変換するためには、それぞれ[redacted] 又は[redacted] 位置の[redacted]反応とそれに続く[redacted]反応が必要である。ヒト肝細胞並びにラット及びサルの血漿において、Repotrectinib はいずれの不斉炭素での異性体変換は示さなかった（試験番号 00233）。これらの結果から、Repotrectinib がそのエナンチオマーである TPX-[redacted] に変換される可能性は極めて低いと考えられる。したがって、その後の PK 及び TK 試験における生体試料中 Repotrectinib 濃度は、アキラルカラムを用いた LC-MS/MS 法を用いて測定した。

GLP 非適合の PK 試験における血漿中 Repotrectinib 濃度は LC-MS/MS 法を用いて測定した。測定法の詳細及び性能については、それぞれの試験報告書に記載されている。

GLP 適合の毒性試験における血漿中 Repotrectinib 濃度測定のために開発した LC-MS/MS 法は、米国食品医薬局（FDA）の生体試料中薬物濃度分析法バリデーションガイダンス「Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation」（2001 年）に従ってバリデーションを実施した。抗凝固剤として K_2EDTA が添加されたラット及びサル血漿中 Repotrectinib 濃度測定における分析法バリデーションの要約を Table 2-1 に示す（試験番号 00213 及び 00214）。両分析法の検量線範囲は血漿試料量を 25 µL としたとき 2.00～2000 ng/mL であり、感度、選択性、精度、真度及び再現性が確認された。また、ラット及びサル血漿試料の保存中、前処理中及び分析中の安定性が確認された。

Table 2-1: ラット及びサルの血漿中 **Repotrectinib** 濃度測定における生体試料中分析法バリデーションの要約

Parameter	Rat Plasma (Study 00213)	Monkey Plasma (Study 00214)
Calibration range	2.00 to 2000 ng/mL	2.00 to 2000 ng/mL
Linearity (correlation coefficient, r^2)	0.9986 ± 0.0006	0.9983 ± 0.0021
LLOQ	2.00 ng/mL	2.00 ng/mL
Intra-run Precision (%RSD)	QC (L,M,H): 1.8% to 5.8%	QC (L,M,H): 1.1% to 7.2%
Intra-run Accuracy (%RE)	QC (L,M,H): 4.4% to 11.9%	QC (L,M,H): 3.8% to 14.8%
Inter-run Precision (%RSD)	QC (L,M,H): 3.4% to 4.4%	QC (L,M,H): 2.9% to 6.0%
Inter-run Accuracy (%RE)	QC (L,M,H): 6.3% to 10.0%	QC (L,M,H): 6.3% to 12.0%
Matrix effect (%RSD)	0.722% to 2.66%	0.375% to 0.621%
Recovery	102% to 107%	102% to 114%
Dilution	20-fold	20-fold
Carryover	Carryover > 20.0% of the mean LLOQ peak area response was observed in some validation runs. To mitigate the impact of carryover during sample analysis, direction was provided in the analytical method to analyze samples in pharmacokinetic order and inject two matrix blanks following anticipated high concentration samples, QCs and calibration standards.	Carryover > 20.0% of the mean LLOQ peak area response was observed in some validation runs. To mitigate the impact of carryover during sample analysis, direction was provided in the analytical method to analyze samples in pharmacokinetic order and inject two matrix blanks following anticipated high concentration samples, QCs and calibration standards.
Stability in plasma		
Ambient temperature	13 hours	16 hours
-70ºC	120 days	54 days
Freeze/thaw cycles	3	3
Stability of processed samples		
5ºC (auto-sampler)	109 hours	106 hours

Abbreviations: LLOQ = lower limit of quantitation; L,M,H = low, medium, high QC samples; QC = quality control; RE = relative error; RSD = relative standard deviation.

2.2 GLP 適合試験における Incurred Sample Reanalysis

GLP適合のラット及びサルの28日間反復投与毒性試験（試験番号00219及び00229）の一環として、実試料の再分析が実施され、66.7%以上の試料において、初回測定値と再分析測定値の乖離度が±20.0%以内とする判定基準を満たした。

2.3 生体試料中の[^{14}C]-Repotrectinib 由来放射能の濃度測定

生体試料中の放射能濃度は、液体シンチレーションカウンターを用いて液体シンチレーション法で測定した。クエンチングは外部標準法により補正した。溶媒／液体シンチレーターによるバックグラウンド値を実試料の分析バッチごとに測定し、実試料の測定値から差し引いた。バックグラウンド値の 2 倍未満の実試料中の放射能濃度は、定量下限（LLOQ）未満とした。

可能な限り 2 回の放射能の濃度測定を実施した。初回測定値と 2 回目測定値（dpm/g 試料として算出）の乖離度が 10%を超えた際には（1000 dpm 未満の場合は 15%）、再測定に必要な実試料量が得られたときに限り、3 回目の測定を実施した。

3 吸収

Repotrectinib は、経口投与では特記がない限り、1%Tween 80 含有又は非含有の 0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）水溶液に懸濁するか、あるいはカプセルに充填して投与した。また、静脈内投与では、20%ジメチルアセトアミド（DMA）／20%ポリエチレングリコール-400／60%生理食塩液又は 10%Solutol HS-15／10%DMA／80%生理食塩液に溶解して投与した。

3.1 単回投与したときの吸収

3.1.1 マウス、ラット、イヌ及びサルに単回投与したときの吸収

ICR マウス、Sprague Dawley ラット、ビーグル犬及びカニクイザルに Repotrectinib を単回経口及び静脈内投与したときの PK を検討した。Repotrectinib の絶対的バイオアベイラビリティは、用量で標準化した経口投与時と静脈内投与時の血漿中濃度時間曲線下面積（AUC）値を比較することにより算出した。

絶対的バイオアベイラビリティの結果を Table 3.1.1-1 に要約する。これらの試験において、Repotrectinib を 0.5%CMC 水溶液（マウス PK 試験のみ 1%Tween 80 を含有）に懸濁して経口投与したとき、Repotrectinib の絶対的バイオアベイラビリティは、雄性マウスで 32%～38%、雄性及び雌性ラットでそれぞれ 45%及び 61%、雄性イヌで 25%並びに雌性サルで 14%であった。

Table 3.1.1-1:　各動物種における Repotrectinib の絶対的バイオアベイラビリティ

Species	Sex	Fed/Fasted	Formulation	Dose (mg/kg)	F (%)	Study Number
Mouse, ICR	Male	Fasted	Suspension	30	38	00100
				100	32	
Rat, Sprague Dawley	Male	Fasted	Suspension	20	45	00209
	Female	Fasted	Suspension	20	61	
Dog, Beagle	Male	Fasted	Suspension	20	25	00203
Monkey, Cynomolgus	Female	Fasted	Suspension	20	14	00208

Abbreviation: F = bioavailability.
Note: Data are mean values for rats, dogs and monkeys.

動物における Repotrectinib の PK パラメータを Table 3.1.1-2 及び Table 3.1.1-3 に要約する。

単回静脈内投与したときの Repotrectinib の消失半減期（$t_{1/2}$）は、雄性マウスで 2.4 時間、雄性ラットで 12 時間、雌性ラットで 7.1 時間、雄性イヌで 9.7 時間及び雌性サルで 11 時間であった。CL は低度から中等度（肝血流量の約 10%～41%[1]）であった。V_{dss} は動物の体内総水分量（約 0.6～0.7 L/kg[1]）より大きかったことから、Repotrectinib は組織中へ広範に分布することが示唆された。単回経口投与したときの Repotrectinib の最高濃度到達時間（T_{max}）は概ね 2～4 時間であった。最高血漿中濃度（C_{max}）及び AUC は雄に比べ雌で高く、in vitro 代謝安定性試験で観察された性差とも一致した（5.1.1 項）。

Table 3.1.1-2: 各動物種に **Repotrectinib** を単回静脈内投与したときの **PK** パラメータ

Study Number	**00100**	**00209**		**00203**	**00208**
Species	Mouse, ICR	Rat, Sprague Dawley		Dog, Beagle	Monkey, Cynomolgus
Sex: No. of Animals	Male: 9	Male: 3	Female: 3	Male: 3	Female: 3
Dose (mg/kg)	1	1	1	2	2
PK Parameters:					
C_0 (ng/mL)	ND	284	493	9830	2190
$t_{1/2}$ (h)	2.4	12	7.1	9.7	11
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	609	654	798	8330	2370
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·h/mL)	618	763	853	9090	2760
CL (mL/h/kg)	1620	1360	1204	223	252
V_{dss} (L/kg)	3.00	21.4	12.5	3.0	11.4

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}inf}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity; $AUC_{0\text{-}t}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; C_0 = plasma concentration back-extrapolated to time 0; CL = plasma clearance; ND = not determined; $t_{1/2}$ = elimination half-life; V_{dss} = volume of distribution at steady-state.
Note: Data are mean values for rats, dogs and monkeys.

Table 3.1.1-3: 各動物種に **Repotrectinib** を単回経口投与したときの **PK** パラメータ

Study Number	**00100**		**00209**		**00203**	**00208**
Species	Mouse, ICR		Rat, Sprague Dawley		Dog, Beagle	Monkey, Cynomolgus
Sex: No. of Animals	Male: 9		Male: 3	Female: 3	Male: 2[a]	Female: 3
Dose (mg/kg)	30	100	20	20	20	20
PK Parameters:						
C_{max} (ng/mL)	1930	2750	1260	1970	1680	723
T_{max} (h)	2.0	4.0	4.0	4.0	4.0	2.0
$t_{1/2}$ (h)	3.9	3.4	4.3	4.9	10	29
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	6990	19700	6820	10700	22000	2680
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·h/mL)	7070	19800	6890	10900	23000	3740

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}inf}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity; $AUC_{0\text{-}t}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; C_{max} = maximum plasma concentration; $t_{1/2}$ = elimination half-life; T_{max} = time to C_{max}.
Note: Data are mean values for rats, dogs and monkeys.

[a] One animal had an unusual plasma concentration, this animal was classified as an outlier and excluded from trend analysis.

3.1.2 イヌにカプセル剤及び懸濁剤を単回投与したときの曝露量比較

クロスオーバー試験デザインを用いて、雄性イヌに Repotrectinib のカプセル剤（40 mg、1 錠/body）及び懸濁剤（32 mg/mL 及び 1.25 mL/body）を単回経口投与したときの PK を比較した（試験番号 00396 及び M2.6.5.3）。カプセル剤の充填及び懸濁剤の組成の内容は、試験報告書及び M2.6.5.3 に記載されている。Repotrectinib の PK パラメータを Table 3.1.2-1 に示す。Repotrectinib のカプセル剤及び懸濁剤の曝露量は同程度であった。

Table 3.1.2-1: 雄性イヌに Repotrectinib のカプセル剤及び懸濁剤を単回経口投与したときの PK パラメータ

Test article	PK Parameters (Mean ± SD)				
	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	AUC_{0-inf} (ng·h/mL)
Capsule	2.67 ± 1.03	13.2 ± 1.66	820 ± 147	11800 ± 2330	12700 ± 2540
Suspension	3.00 ± 1.10	12.5 ± 1.58	852 ± 431	12800 ± 4140	13600 ± 4380

Abbreviations: AUC_{0-inf} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity; AUC_{0-t} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; C_{max} = maximum plasma concentration; SD = standard deviation; $t_{1/2}$ = elimination half-life; T_{max} = time to C_{max}.

3.1.3 サルにカプセル剤及び懸濁剤を単回投与したときの曝露量比較

クロスオーバー試験デザインを用いて、雄性サルに Repotrectinib のカプセル剤（10 mg、3 錠/body）及び懸濁剤（20 mg/mL 及び 1.5 mL/body）を単回経口投与したときの PK を比較した（試験番号 00234 及び M2.6.5.3）。カプセル剤の充填の内容は、試験報告書及び M2.6.5.3 に記載されている。Repotrectinib の PK パラメータを Table 3.1.3-1 に示す。カプセル剤の C_{max} 及び AUC は、懸濁剤と比較して約 40%高かった。

Table 3.1.3-1: **雄性サルに Repotrectinib のカプセル剤及び懸濁剤を単回経口投与したときの PK パラメータ**

Animal No.	Animal Weight (kg)	C_{max} (ng/mL)			AUC_{0-t} (ng·h/mL)			T_{max} (h)		$t_{1/2}$ (h)	
		C	S	C/S Ratio	C	S	C/S Ratio	C	S	C	S
AD170H	8.3	32	27.1	1.18	770	521	1.48	8.0	4.0	31	48
FD8D	5.2	42.9	26.6	1.61	544	386	1.41	8.0	12	17	39
42228	5.7	50	28.1	1.78	910	509	1.79	4.0	0.5	21	35
G015[a]	5.6	20.4	20.1	1.01	447	425	1.05	5.0	2.0	25	15
	Mean	NC	NC	1.40	NC	NC	1.43	6.3	4.6	23	34

Abbreviations: AUC_{0-t} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; C = capsule; C_{max} = maximum plasma concentration; NC = not calculated due to the reduced dose level in animal number G015; S = suspension; $t_{1/2}$ = elimination half-life; T_{max} = time to C_{max}.

[a] Animal number G015 regurgitated one capsule during dosing; therefore, the suspension dose for this animal was reduced to 20 mg.

3.2 反復投与したときのトキシコキネティクス

3.2.1 ラットに 7 日間反復投与したときのトキシコキネティクス

雌雄 Sprague Dawley ラットに Repotrectinib を 100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回、7 日間反復経口投与したときの TK を評価した（試験番号 00201、M2.6.5.4 及び M2.6.6.3）。Repotrectinib の TK パラメータを Table 3.2.1-1 に要約する。ラットに Repotrectinib を単回及び反復経口投与したとき、曝露量に性差が認められ、雌では雄の約 2 倍の高値であった。Day 1 の曝露量は用量比を下回って増加した。Day 7 の曝露量は、検討した用量範囲（100～1000 mg/kg/day）で Day 1 と比較してわずかに減少した。

Table 3.2.1-1: **雌雄ラットに Repotrectinib を 7 日間反復経口投与したときの TK パラメータ**

Dose Level (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (ng/mL)		AUC_{0-24h} (ng·h/mL)		T_{max} (h)	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
100	1	1990	3790	17200	41200	2.0	4.0
	7	1590	2950	19100	33100	8.0	4.0
300	1	2290	4600	25400	62000	2.0	4.0
	7	1630	2150	18400	29900	2.0	4.0
1000	1	2530	4340	40500	80700	2.0	4.0
	7	1640	1880	24800	27500	4.0	4.0

Abbreviations: AUC_{0-24h} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; T_{max} = time to C_{max}.
Note: Data shown are mean values.

3.2.2 ラットに 28 日間反復投与したときのトキシコキネティクス

雌雄ラットに Repotrectinib を 1 日 1 回、28 日間反復経口投与したときの TK を評価した（試験番号 00219、M2.6.5.4 及び M2.6.6.3）。雌雄ラットに Repotrectinib を 7 日間反復経口投与したとき曝露量に性差が認められたことから（試験番号 00201）、雄は 30、100 及び 300 mg/kg/day、雌は 6、20 及び 60 mg/kg/day の用量で投与した。

毒性評価用の主群で雄の中用量群（100 mg/kg/day）に死亡がみられたことから、TK 評価用のサテライト群でも Day 20 から 2 日間の休薬期間を設け、Day 22 から 50 mg/kg/day に減量し、投与を再開した。また、毒性評価用の主群で雄の高用量群（300 mg/kg/day）で複数の死亡又は瀕死の状態がみられたため、TK 評価用のサテライト群で高用量群（雄 300 及び雌 60 mg/kg/day）は Day 20 に全例安楽死させた。

Repotrectinib の TK パラメータを Table 3.2.2-1 に要約する。雄の Day 1 における Repotrectinib の曝露量は、低用量から中用量（30～100 mg/kg/day）で用量比を下回って増加し、中用量から高用量（100～300 mg/kg/day）で増加しなかった。Day 28 の曝露量は低用量から中用量（30～50 mg/kg/day）で増加しなかった。雌の Day 1 及び Day 28 における Repotrectinib の曝露量は、低用量から中用量（6～20 mg/kg/day）でほぼ用量に比例して増加し、Day 1 における曝露量は中用量から高用量（20～60 mg/kg/day）で用量比を下回って増加した。Day 1 及び Day 28 における Repotrectinib の曝露量の比較において、雄の低用量（30 mg/kg/day）並びに雌の低用量及び中用量（6 及び 20 mg/kg/day）で反復投与したとき、曝露量は約 2 倍以上増加し、蓄積が認められた。

Table 3.2.2-1: **雌雄ラットに Repotrectinib を 28 日間反復経口投与したときの TK パラメータ**

Dose Level (mg/kg/day)	Study Day	Sex	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	T_{max} (h)
30	1	Male	986	7040	4.2
30	28		1490	15100	4.0
50[a]	22[c]		1910	17900	8
50[a]	28		1560	17100	4.0
100[a]	1		1710	20600	2.0
300[b]	1		1890	22300	2.0
6	1	Female	333	2140	1.0
6	28		775	4940	1.0
20	1		1070	7280	2.0
20	28		1800	15500	4.0
60[b]	1		1990	15600	2.0

Abbreviations: AUC_{0-24h} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; T_{max} = time to C_{max}.
Note: Data shown are mean values.

[a] Due to deaths at a repeat-dose of 100 mg/kg/day in the main study, animals in the 100 mg/kg/day group of the toxicokinetic study were placed on a 2-day dosing holiday beginning on Day 20 and dosing was resumed at a reduced dose of 50 mg/kg/day starting on Day 22.
[b] Animals were euthanized on Day 20 due to mortality/morbidity.
[c] Day 22 was the first daily dose in male animals following the dose reduction from 100 to 50 mg/kg/day.

3.2.3 ラットに 91 日間反復投与したときのトキシコキネティクス

雌雄ラットに Repotrectinib を 1 日 1 回、91 日間反復経口投与したときの TK を評価した（試験番号 00272、M2.6.5.4 及び M2.6.6.3）。ラットの 28 日間反復経口投与毒性試験の高用量において曝露量に性差が認められたことから、雄に 5、15 及び 50 mg/kg/day、雌には 5、15 及び 40 mg/kg/day の用量で投与した。高用量群（雄 50 及び雌 40 mg/kg/day）で毒性徴候がみられたため、雄の Day 21 及び雌の Day 18 から休薬期間を設け、Day 25 からそれぞれ雄で 40 及び雌で 30 mg/kg/day に減量し、投与を再開した。Repotrectinib の TK パラメータを Table 3.2.3-1 に要約する。

雄の Day 1 における Repotrectinib の曝露量は検討した用量範囲（5～50 mg/kg/day）でほぼ用量に比例して増加し、Day 91 における曝露量は検討した用量範囲（5～40 mg/kg/day）で用量比を下回って増加した。雌の Day 1 における Repotrectinib の曝露量は検討した用量範囲（5～40 mg/kg/day）でほぼ用量比を上回って増加し、Day 91 における曝露量は低用量から中用量（5～15 mg/kg/day）でほぼ用量に比例して増加したが、中用量から高用量（15～30 mg/kg/day）では増加しなかった。Day 1 及び

Day 91 における Repotrectinib の曝露量の比較において、雌雄に低用量から中用量（5 及び 15 mg/kg/day）で反復投与したとき、曝露量は約 3～4 倍以上増加し、蓄積が認められた。

Table 3.2.3-1: **雌雄ラットに Repotrectinib を 91 日間反復経口投与したときの TK パラメータ**

Dose Level (mg/kg/day)	Study Day	Sex	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	T_{max} (h)
5	1	Male	81.1	637	4.0
5	91		352	2710	2.0
15	1		281	2170	2.0
15	91		954	7190	4.0
50[a]	1		934	7980	4.0
40[a]	91		1630	17300	4.0
5	1	Female	120	1050	1.0
5	91		660	4300	2.0
15	1		962	7140	4.0
15	91		2410	20500	2.0
40[b]	1		1980	15600	4.0
30[b]	91		2040	22000	2.0

Abbreviations: AUC_{0-24h} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; T_{max} = time to C_{max}.
Note: Data shown are mean values.

[a] Male animals at 50 mg/kg/day were placed on dosing holiday beginning on Day 21 due to loss of bodyweight in various animals within the group. The dose level was reduced to 40 mg/kg/day and dosing resumed on Day 25.
[b] Female animals at 40 mg/kg/day were placed on dosing holiday beginning on Day 18 due to loss of bodyweight in various animals within the group. The dose level was reduced to 30 mg/kg/day and dosing resumed on Day 25.

3.2.4 サルに 5 日間反復投与したときのトキシコキネティクス

雄性カニクイザルに Repotrectinib を 20 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回、5 日間反復経口投与したときの TK を評価した（試験番号 00212 及び M2.6.5.4）。Repotrectinib の TK パラメータを Table 3.2.4-1 に要約する。サルに Repotrectinib を反復経口投与したとき、Day 5 の曝露量は Day 1 に比べて、約 2 倍の高値であった。

Table 3.2.4-1: **雄性サルに Repotrectinib を 5 日間反復経口投与したときの TK パラメータ**

TK Parameters	Day 1	Day 5
T_{max} (h)	7.3 ± 5.0	2.9 ± 1.2
C_{max} (ng/mL)	44.6 ± 11.0	99.5 ± 31.5
$t_{1/2}$ (h)	30 (n=1)	21 ± 10
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	829 ± 215	1890 ± 540
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·h/mL)	2030 (n=2)	2530 ± 1250

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}inf}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity; $AUC_{0\text{-}t}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; C_{max} = maximum plasma concentration; SD = standard deviation; $t_{1/2}$ = elimination half-life; T_{max} = time to C_{max}.
Note: Data shown as mean ± SD.

3.2.5 サルに 7 日間反復投与したときのトキシコキネティクス

雌雄サルに Repotrectinib を 100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回、7 日間反復経口投与したときの TK を評価した（試験番号 00211、M2.6.5.4 及び M2.6.6.3）。Repotrectinib の TK パラメータを Table 3.2.5-1 に要約する。Repotrectinib の曝露量に性差は認められなかったため、雌雄サルの TK パラメータ値を合算した。Day 1 における Repotrectinib の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、用量比を下回って増加した。Day 7 における $AUC_{0\text{-}24h}$ は低用量から中用量（100～300 mg/kg/day）で用量比を下回って増加し、中用量から高用量（300～1000 mg/kg/day）で増加しなかった。C_{max} には用量に伴う増加がみられなかった。また、Day 1 及び Day 7 における Repotrectinib の曝露量の比較において、反復投与後の曝露量は低用量及び中用量（100～300 mg/kg/day）で増加したものの、高用量（1000 mg/kg/day）では増加しなかった。

Table 3.2.5-1: **雌雄サルに Repotrectinib を 7 日間反復経口投与したときの TK パラメータ**

Dose Level (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	T_{max} (h)
100	1	272	3650	NA
	1[a]	99.1	1600	2.0
	7	490	5190	4.0
300	1	376	4620	4.0
	7	498	6700	4.0
1000	1	559	8770	8.0
	1[a]	661	10400	8.0
	7	507	7000	NA

Abbreviation: AUC_{0-24h} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; NA = not applicable; T_{max} = time to C_{max}.
Note: Data shown as mean of n = 2/sex (median values for T_{max}).

[a] Mean TK parameters excluding animal number 108 or 117. On Day 1, the plasma concentration-time profile for one male at 100 mg/kg (animal number 108) was markedly higher than the profiles for the other animals at 100 mg/kg on Day 1, and the plasma concentration-time profile for one female at 1000 mg/kg (animal number 117) was markedly lower than the profiles for the other animals at 1000 mg/kg on Day 1. On Day 7, the plasma concentration-time profiles and associated AUC values determined for animal numbers 108 and 117 were consistent with the other animals at 100 and 1000 mg/kg, respectively. As a result of these inconsistencies in magnitude of the plasma concentration-time profiles on Day 1, the mean toxicokinetic parameters were reported for Repotrectinib both excluding and including animal number 108 and 117 on Day 1.

3.2.6 サルに 28 日間反復投与したときのトキシコキネティクス

雌雄サルに Repotrectinib を 10、30 及び 100 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回、28 日間反復経口投与したときの TK を評価した（試験番号 00229、M2.6.5.4 及び M2.6.6.3）。Repotrectinib の TK パラメータを Table 3.2.6-1 に要約する。Repotrectinib の曝露量に性差は認められなかった。Day 1 及び Day 28 における Repotrectinib の C_{max} 及び AUC_{0-24h} は、用量比を下回って増加した。Day 1 及び Day 28 における Repotrectinib の曝露量の比較において、反復投与後の曝露量は低用量から中用量（10 及び 30 mg/kg/day）でわずかながら増加したものの（2 倍未満）、高用量（100 mg/kg/day）では増加しなかった。

Table 3.2.6-1: **雌雄サルに Repotrectinib を 28 日間反復経口投与したときの TK パラメータ**

Dose Level (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (ng/mL)		AUC_{0-24h} (ng·h/mL)		T_{max} (h)	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
10	1	194	63.5	1930	962	4.0	NA
	28	212	137	2070	1560	2.0	2.0
30	1	287	145	2420	1670	4.0	NA
	28	257	243	2690	2150	NA	4.0
100	1	356	396	4750	3660	NA	4.0
	28	259	248	3820	2850	2.0	NA

Abbreviations: AUC_{0-24h} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; NA = not applicable; T_{max} = time to C_{max}.
Note: Data shown as mean values (median values for T_{max}).

3.2.7 サルに 91 日間反復投与したときのトキシコキネティクス

雌雄サルに Repotrectinib を 5、15 及び 50 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回、91 日間反復経口投与したときの TK を評価した（試験番号 00357、M2.6.5.4 及び M2.6.6.3）。Repotrectinib の TK パラメータを Table 3.2.7-1 に要約する。Repotrectinib の曝露量に性差は認められなかった。Day 1 及び Day 91 における Repotrectinib の曝露量は、用量比を下回って増加した。Day 1 及び Day 91 における Repotrectinib の曝露量の比較において、反復投与後の曝露量にわずかな増加（2 倍未満）が認められた。

Table 3.2.7-1: **雌雄サルに Repotrectinib を 91 日間反復経口投与したときの TK パラメータ**

Dose Level (mg/kg/day)	Study Day	Sex	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	T_{max}[a] (h)
5	1	Male	46.7	548	2.0
5	91		94.4	855	2.0
15	1		110	1110	NA
15	91		189	1630	1.0
50	1		300	3000	4.0
50	91		294	3910	4.0
5	1	Female	54.6	706	4.0
5	91		100	1040	2.0
15	1		121	1490	4.0
15	91		173	2020	2.0
50	1		166	1650	4.0
50	91		267	2390	2.0
5	1	Combined sex	50.6	627	NA
5	91		97.3	946	2.0
15	1		116	1300	4.0
15	91		182	1800	2.0
50	1		233	2320	4.0
50	91		280	3150	2.0

Abbreviation: AUC_{0-24h} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; NA = not applicable; T_{max} = time to C_{max}.
Note: Due to clinical signs of toxicity, one female at 15 mg/kg was euthanized in extremis on Day 72.

[a] Median value only reported if actual collection interval.

3.3 膜透過性及びトランスポーター

ヒト結腸癌由来細胞である Caco-2 細胞を用いた in vitro 試験において、Repotrectinib の膜透過性を評価した（試験番号 00106 及び M2.6.5.14）。その結果、Caco-2 細胞における Repotrectinib（10 μM）の頂端膜側から基底膜側［apical to basolateral（A to B）］への薬物の見かけの透過係数（P_{app}）は 5.7×10^{-6} cm/s、基底膜側から頂端膜側［basolateral to apical（B to A）］への P_{app} は 41.4×10^{-6} cm/s であり、A to B に対する B to A の P_{app} の比（排出比）は 7.3 であった。P-gp 阻害剤であるベラパミル（100 μM）の存在下、A to B 及び B to A への P_{app} はそれぞれ 15.3×10^{-6} 及び 16.3×10^{-6} cm/s であり、排出比は 1.1 であった。これらの P_{app} は高膜透過性標準物質のワルファリン（A to B：25.0×10^{-6} cm/s 及び B to A：17.7×10^{-6} cm/s）と類似していたことから、Repotrectinib は高膜透過性が示唆された。また、

Repotrectinib（10 μM）の排出比が P-gp 阻害剤であるベラパミル（100 μM）の影響で 7.3 から 1.1 に低下したことから、Repotrectinib は P-gp の基質であることが示唆された。

Caco-2 細胞を用いた追加試験において、Repotrectinib（2 μM）の排出比は 6.31 であったが、P-gp 阻害剤であるバルスポダール（1 及び 10 μM）存在下で排出比は 1.67 及び 1.41 に低下したことから、Repotrectinib は P-gp の基質であることが示唆された（試験番号 00493 及び M2.6.5.14）。

さらに、Repotrectinib（10 μM）の排出比が BCRP 阻害剤であるノボビオシン（50 μM）の影響で 7.3 から 3.3 に低下したことから、Repotrectinib は BCRP の基質であることが示唆された。

Repotrectinib の消化管内推定濃度［約 1800 μM（臨床用量 160 mg を 250 mL で除して算出）］を考慮すると、排出トランスポーターは Repotrectinib の吸収にごくわずかな影響を及ぼすと予測される。以上より、Repotrectinib は高膜透過性が示唆された。

3.4 吸収のまとめ

非臨床試験に用いた動物種において、Repotrectinib の CL は低度から中等度であり、V_{dss} は体内総水分量を超えており、組織中へ広範に分布することが示唆された。Repotrectinib は速やかに吸収され、低度から中等度の絶対的バイオアベイラビリティを示した。ラットでは Repotrectinib の曝露量に性差が認められ、雌では雄の約 2 倍の高値であったが、サルでは明らかな性差は認められなかった。いずれの動物種においても、曝露量は概ね用量比を下回って増加した。ラットでは反復投与による蓄積は用量に依存し、反復投与後の曝露量は 5～30 mg/kg/day の用量で初回投与時の約 2～4 倍に増加したが、100 mg/kg/day 以上の用量では初回投与時よりも減少傾向が認められた。サルでは反復投与による蓄積は認められなかった。

4 分布

4.1 組織分布

4.1.1 マウスにおける脳内移行性

雌性 CD-1 マウスに Repotrectinib を 75 mg/kg/day の用量で単回又は 7 日間反復経口投与したときの脳内移行性を評価した（試験番号 00226 及び M2.6.5.5）。投与後 2 時間に脳及び血漿試料を採取し、LC-MS/MS 法により Repotrectinib を定量した。

Repotrectinib の単回及び反復投与後の血漿中濃度に対する脳内濃度の割合に関して、投与後 2 時間の濃度を比較すると、それぞれ約 5.2%及び 3.8%であった。マウスにおける Repotrectinib の脳内移行性は低かった。また、00100 試験において Repotrectinib の脳内移行性を検討した結果、00226 試験結果と同様であった。

4.1.2 雌性幼若ラットにおける脳内移行性及び薬物動態

雌性幼若ラットに Repotrectinib を 20 mg/kg の用量で生後 21 日又は 45 日に単回経口投与したときの脳内移行性及び PK を評価した（試験番号 00390 及び M2.6.5.5）。Repotrectinib の血漿中濃度は脳内

濃度よりも概ね高く、生後 21 日及び 45 日に投与したラットの血漿中 C_{max} に対する脳内 C_{max} の割合はそれぞれ 3.28%及び 1%未満であった。生後 21 日に投与したラットでは、血漿中 AUC_{0-t} は脳内 AUC_{0-t} よりも高く、血漿中 AUC_{0-t} に対する脳内 AUC_{0-t} の割合は 1%未満であった。生後 45 日に投与したラットでは、ほとんどの時点で Repotrectinib の脳内濃度が LLOQ 未満であり、AUC を算出できなかった。ラットにおける Repotrectinib の脳内移行性はマウスの試験結果と同様であった。

4.1.3 ラットにおける組織分布

雌雄 Long Evans ラットに[^{14}C]-Repotrectinib を 30 mg/kg（約 100 μCi/kg）の用量で単回経口投与したときの組織分布を評価した（試験番号 00273 及び M2.6.5.5）。血中及び組織中放射能濃度は、投与後 1、4、8、24、72、168、336 及び 672 時間に QWBA により測定した。投与後 168 時間において、薬物由来の放射能がほとんどの組織で検出されなかったため、投与後 336 及び 672 時間の組織試料は測定しなかった。最初の採取時点である投与後 1 時間において、薬物由来の放射能がほとんどの組織で検出され、このことはラットの V_{dss} が体内総水分量を上回った結果（3.1.1 項）と一致し、[^{14}C]-Repotrectinib は広範な組織に分布することが示唆された。雌雄ラットともに放射能濃度が最も高かった組織は、有色皮膚、ぶどう膜、肝臓、腎皮質及び腎臓であった。薬物由来の放射能は脳室周囲以外の血液脳関門により保護されている中枢神経系（CNS）組織への移行はわずかで、マウス及び幼若ラットを用いた脳内移行性試験の結果と一致した。ぶどう膜中放射能濃度は、雄では投与後 72 時間まで、雌では投与後 24 時間まで検出され、有色皮膚中放射能濃度は、雄では投与後 24 時間まで、雌では投与後 72 時間まで検出された。Long Evans ラットのぶどう膜及び有色皮膚における分布傾向から、薬物由来の放射能はメラニン含有組織に結合しないことが示唆された。総じて、雌雄ラットにおける放射能濃度の組織分布パターンは同様であったが、放射能の曝露量は、雌のほとんどの組織において、雄の 2 倍以上であった。腎臓中放射能濃度のみ、概ね雄では雌の 2 倍であった。一方、全体的な消失傾向は雌雄間で類似しており、投与後 168 時間までに、雄の肝臓及び雌の包皮腺を除くすべての組織で放射能は LLOQ 未満となった。

4.2 血漿蛋白結合

4.2.1 血漿蛋白結合率

ICR マウス、Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒト血漿中の Repotrectinib の in vitro 血漿蛋白結合率を平衡透析法により評価した（試験番号 00101 及び M2.6.5.6）。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト血漿と Repotrectinib（最終濃度 2 μM）を 37ºC で 6 時間インキュベートした。その結果、動物及びヒトにおける Repotrectinib の血漿蛋白結合率は同程度で、高い結合率を示した（動物：92.1%～95.8%、ヒト：95.4%）。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにおける Repotrectinib の血漿中非結合形分率（fu）は、それぞれ 4.2%、5.1%、7.9%、7.4%及び 4.6%であり、ヒト及び動物における fu の差は 2 倍未満であった。

4.2.2 ヒト血中蛋白結合

HSA 及び AGP に対する Repotrectinib の in vitro 蛋白結合率を平衡透析法により評価した（試験番号 00405 及び M2.6.5.6）。HSA 又は AGP 溶液と Repotrectinib（0.3 及び 2 μM）を 37ºC で 4 時間インキュベートした。その結果、HSA に対する 0.3 及び 2 μM の Repotrectinib の蛋白結合率はそれぞれ 96.0%及び 95.2%であった。AGP に対する蛋白結合率はそれぞれ 10.5%及び 7.6%であった。HSA 又は AGP に対する Repotrectinib の蛋白結合率は、検討した濃度範囲内で濃度依存性は認められなかった。以上より、Repotrectinib はヒト血中で主に HSA と結合することが示された。

4.3 血球移行性

ヒト赤血球への Repotrectinib の in vitro 血球移行性を評価した（試験番号 00485 及び M2.6.5.8）。健康被験者から血液試料を採取し、Repotrectinib 濃度を LC-MS/MS 法を用いて測定した。その結果、0.1、1 及び 10 μM の Repotrectinib のヒト赤血球への分布率は、それぞれ 8.4%、2.8%及び 0%（-8.9%）であった。Repotrectinib のヒト血漿中濃度に対する血中濃度の比は、それぞれ 0.60、0.56 及び 0.50 であり、その平均値は 0.55 であった。以上より、Repotrectinib の血球移行性は検討した濃度範囲内で限定的であった。

4.4 分布のまとめ

Repotrectinib はマウス及びラットにおいて脳内にわずかに移行した。[^{14}C]-Repotrectinib 由来の放射能は広範な組織に速やかに分布し、持続的な組織貯留は認められなかった。動物及びヒトにおける Repotrectinib の血漿蛋白結合率は同程度で高い結合率を示し、Repotrectinib は主に HSA と結合した。Repotrectinib の血漿中濃度に対する血中濃度の比は 0.5～0.6 であり、血球移行性は限定的であった。

5 代謝

5.1 In Vitro 代謝

5.1.1 肝ミクロソームにおける代謝安定性

Repotrectinib（1 μM）の代謝安定性について、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソームを用い、最長 60 分間、37ºC でインキュベーションして評価した（試験番号 00216 及び M2.6.5.10）。その結果、サルの肝ミクロソームで、Repotrectinib の CL_{int} は他の動物種と比べて高値を示した。ラットの肝ミクロソームでは性差が認められ、雌の肝ミクロソームの CL_{int} 値は雄と比べて低値を示した。

5.1.2 肝細胞における代謝安定性

Repotrectinib（5 μM）の代謝安定性について、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの凍結肝細胞を用い、最長 240 分間、37ºC でインキュベーションして評価した（試験番号 00216 及び M2.6.5.10）。その結果、Repotrectinib の代謝安定性は、マウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞（$t_{1/2}$：240 分超）で、サル肝細胞（$t_{1/2}$：90 分）と比較して高かった。

ヒト肝細胞で高い代謝安定性を示したことから、Repotrectinibの代謝安定性について、異なるドナーより提供された 3 種のヒト肝細胞を用いて、より長期のインキュベーション（72 時間）条件下で追加の評価を実施した。その結果、ドナー1、2及び3の肝細胞いずれにおいても、Repotrectinibは高い代謝安定性を示し、$t_{1/2}$は 480 分超であった。

5.1.3 CYP の同定

Repotrectinib（1 μM）の代謝安定性について、ヒト組換え CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP2C8、CYP2C9、CYP2D6 及び CYP3A4 を発現する Supersomes^{TM} を用い、37°C、最長 60 分間でインキュベーションして評価した（試験番号 00217 及び M2.6.5.10）。

その結果、CYP3A4 の $t_{1/2}$が 3.9 分、その他 CYP の $t_{1/2}$が 180 分超であったことから、Repotrectinib の代謝は主に CYP3A4 が寄与することが示唆された。

5.2 毒性試験に用いる非臨床動物種選択のための in vitro 及び in vivo 代謝評価

毒性試験に用いる適切な非臨床動物種の選択のため、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの浮遊型凍結肝細胞及びヒトの接着型肝細胞並びにラット及びサルの in vivo 試験で採取した血漿を用いて、代謝プロファイルの種差を評価した（試験番号 00207、試験番号 00216、M2.6.5.9 及び M2.6.5.10）。

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの浮遊型肝細胞を、非標識Repotrectinib（5 μM）と37ºCで240分間インキュベーションした。その結果、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトのいずれにおいても、良好な代謝安定性が示唆され、検出された代謝物は、一酸化代謝物及びそれらのグルクロン酸抱合体であった。一酸化代謝物（m/z 372）はマウスを除くすべての動物種及びヒトで検出された。ヒト肝細胞で同定された代謝物はいずれもサル肝細胞中でも検出された。

さらに、ヒト肝細胞（3種のドナー細胞）培養プレートを用いて、Repotrectinib（1 μM）を最長72時間インキュベーションし、LC-MS 法で同定した代謝物と、毒性試験で採取したプール血漿試料中で同定した代謝物を比較する追加試験を実施した（試験番号 00207 及び M2.6.5.9）。ラットの血漿試料は MTD 及び 7 日間反復経口投与用量設定毒性試験（試験番号 00201）、サルの血漿試料は単回投与 PK 試験（試験番号 00208）及び 5 日間反復経口投与 PK 試験（試験番号 00212）で採取したものを用いた。ラット及びサルの血漿中で、Repotrectinibが主要な薬物関連化合物であった。過去に同定した代謝物に加えて、複数の微量代謝物も検出された。以上より、Repotrectinibは以下3種の反応を含む複数の代謝経路を介して代謝された。

1) Repotrectinib のエーテル酸素及びアミド態窒素原子間のリンカー部分の酸化並びにそれに続く脱水素化又は脱水反応並びにグルクロン酸抱合
2) C13位置におけるフルオロベンジン及びメチル基を含む部分構造の水酸化並びにそれに続くグルクロン酸抱合
3) アミド加水分解・酸化的開環並びにそれに続くグルクロン酸抱合

ラット及びサルでは、代謝プロファイルに雌雄差は認められなかった。

要約すると、in vitro 及び in vivo における代謝物プロファイリングの結果から、ラット及びサルを毒性試験の評価に用いることの妥当性が確認された。ラット、サル及びヒトにおける代謝プロファイルの相違については、以下の 5.3 項の ADME 試験に示す。

5.3 ラット、サル及びヒトの血漿中、尿中、糞中及び胆汁中の代謝物プロファイル

Repotrectinib 及びその代謝物のマスバランス、吸収、代謝及び排泄について、雌雄 Sprague Dawley ラット及びカニクイザル並びにヒト男性被験者に[^{14}C]-Repotrectinib を単回投与し、評価した（試験番号 00403、試験番号 00402、試験番号 TPX-0005-09 及び M2.6.5.9）。

Repotrectinib 及びその代謝物について、ヒト、サル及びラットでプールした血漿、尿及び糞、ラット及びサルの個別の測定時点でプールした血漿並びにラットの胆汁試料中の Repotrectinib とその代謝物を、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、液体シンチレーションカウンター又は LC-AMS（ヒト血漿）を用いて定量した。代謝物の構造は、質量分析のフラグメンテーションのパターンより推定した。

血漿中代謝物：

ラット、サル及びヒトの血漿中で同定及び定量された薬物関連化合物を Table 5.3-1 に要約する。

ラット、サル及びヒトの血漿中総放射能の主たる化合物は Repotrectinib であった。ヒト血漿において、未変化体の $AUC_{0\text{-}72h}$ は薬物関連化合物の 84.3%に相当し、代謝物はいずれも循環血中の総放射能の 10%未満であったことから、ヒトで主要な代謝物がないことが示された。さらに、Repotrectinib の血漿中の PK プロファイルは血漿中の総放射能のそれと類似していたことから、長期間血中に滞留する代謝物がないことが示唆された。ヒトの循環血中で二次代謝物として M1、M2 及び M3（酸化又は水和代謝物のグルクロン酸抱合体、合わせて総放射能 AUC の約 6%に相当）並びに M5 及び M9（一酸化代謝物、それぞれ総放射能 AUC の約 2.7%及び約 2.6%に相当）が認められた。ラット及びサル血漿中で M1、M2 及び M3 は LLOQ 未満であったものの、いずれの代謝物もサルの尿中に認められ、M2 はラットの胆汁中に認められた。加えて、M5（M1、M2 及び M3 の推定前駆体）はラット、サル及びヒト血漿中、M9 はラット及びヒト血漿中並びに M11（一酸化代謝物のグルクロン酸抱合体）はサル血漿中のみで認められた。これらの結果から、ヒトの循環血中で主要な代謝物やヒト特有の代謝物は認められなかった。

Table 5.3-1: **[^{14}C]-Repotrectinib 単回投与後のラット、サル及びヒトの血漿中の Repotrectinib 及び代謝物の曝露量**

Metabolite	m/z	Description	% of Circulating Radioactivity				
			Rat[a]		Monkey[b]		Human[c]
			Male	Female	Male	Female	Male
Repotrectinib	356	Parent drug	75.1	58.4	45.0	60.8	84.3
M1/M3	550	Glucuronides of M+O+2H	ND	ND	ND	ND	6.01[d]
M2	548	Glucuronide of M+O	ND	ND	ND	ND	
M5	372	M+O	17.6	21.3	33.5	18.0	2.71
M9	372	M+O	ND	D[e]	ND	ND	2.63
M11	548	Glucuronide of M+O	ND	ND	17.8	16.4	ND

Abbreviations: D: detected; ND: not detected.

[a] Source: Study 00403 (Tables 14 and 16). Rat data are from Hamilton $AUC_{0\text{-}24h}$-pooled plasma for each sex.
[b] Source: Study 00402 (Tables 11 and 13). Monkey data are from Hamilton $AUC_{0\text{-}24h}$-pooled plasma for each sex.
[c] Source: Study TPX-0005-09. Human data are from cross-subject Hamilton $AUC_{0\text{-}72h}$-pooled plasma.
[d] In human plasma, secondary glucuronide metabolites, M1, M2 and M3 coeluted on the HPLC and together comprised 6.01% of the radioactivity in human AUC-pooled plasma sample.
[e] M9 was not detected in the AUC-pooled samples from male and female rat, but represented 3.24% and 2.53% of the plasma total radioactivity $AUC_{0\text{-}24h}$ as calculated from the radiochromatograms at individual timepoints 2, 4, 6, 8 12, and 24 hour (Study 00403, Table 13).

<u>尿中代謝物：</u>

ラット、サル及びヒトの尿中で同定及び定量された薬物関連化合物を Table 5.3-2 に要約する。

ラット、サル及びヒトで尿中に排泄された総放射能は低く、投与量の約 6%以下であった。ラット、サル及びヒトの尿中から回収された未変化体は投与量の約 1%以下であったことから、尿中排泄は主要な消失経路でないことが示唆された。

Table 5.3-2: ラット、サル及びヒトの尿中の薬物関連化合物

			Urine (% of dose)				
			Rat[a]		Monkey[b]		Human[c]
Metabolite	**m/z**	**Description**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**
M1	550	Glucuronide of M+O+2H	ND	ND	0.18[d]	0.38[d]	2.77[d]
M2	548	Glucuronide of M+O					
M3	550	Glucuronide of M+O+2H					
M4	374	M+O+2H	ND	ND	0.02[e]	0.04[e]	ND
M12	548	Glucuronide of M+O	ND	ND			ND
M5	372	M+O	1.13	1.15	ND	ND	ND
M6	374	M+O+2H	ND	ND	0.01	0.01	ND
M7	372	M+O	ND	ND	0.03	0.06	0.69
M8	372	M+O	ND	ND	< 0.01	0.01	0.17
M9	372	M+O	ND	ND	ND	ND	ND
M10	372	M+O	ND	ND	ND	ND	0.04
Repotrectinib	356	Parent drug	< 0.01	0.03	0.1	0.10	0.56
M18	316	loss of C_3H_4	0.09	0.08	ND	ND	ND
M20	372	M+O	0.03	0.06	ND	ND	ND

Abbreviation: ND = not detected.

[a] Study 00403, Tables 19 and 21. Values represent the mean from n=3 animals in the report of urine intervals of 0-48 hours.

[b] Study 00402, Tables 20 and 22. The average values from n=3 animals in the report were calculated and presented in the table above. For individual animals, the urine intervals selected for analysis ranged from 0-96 to 0-144 hours.

[c] Study 8442748 (DMPK Report), Table 11.2. Values represent the mean from the analysis of individual subjects' radioprofiles. For individual subjects, the urine intervals selected for analysis ranged from 0-96 to 0-168 hours; selection of these intervals were made to include the majority of urine radioactivity while maintaining a concentrated sample for analysis.

[d] In human and monkey urine, metabolites M1, M2, and M3 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of all 3 metabolites.

[e] In monkey urine, M4 and M12 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of both metabolites.

糞中代謝物：

ラット、サル及びヒトの糞中で同定及び定量された薬物関連化合物を Table 5.3-3 に要約する。

雄性及び雌性ラット、雄性及び雌性サル並びにヒトの糞中から、総放射能がそれぞれ投与量の 94.0% ± 14%及び 84.4% ± 9.2%、62.9% ± 19.3%及び 65.5% ± 23%並びに約 80%以上が回収されたことから、放射能の主要な消失経路は糞中排泄であることが示された。ラット、サル及びヒトの糞中の主要な薬物関連化合物はいずれも Repotrectinib であり、投与量の 51%～78%に相当し、大部分は吸

収されずに排泄されたと考えられた。ラットの糞中では Repotrectinib のみが検出された。サルの糞中では、M4 及び M5（雄及び雌で、それぞれ合算 2.0%及び 3.2%）並びに M6（雌のみで 0.45%）も認められた。ヒトの糞中では、Repotrectinib の他に M4（13.04%）、M5（7.11%）、M6（5.96%）、M7（0.96%）及び M9（0.52%）が認められた。

Table 5.3-3:　　ラット、サル及びヒトの糞中の薬物関連化合物

Metabolite	m/z	Description	Feces (% of dose)				
			Rat[a]		Monkey[b]		Human[c]
			Male	Female	Male	Female	Male
M4	374	M+O+2H	ND	ND	2.0[d]	3.26[d]	13.04
M5	372	M+O					7.11
M6	374	M+O+2H	ND	ND	ND	0.45	5.96
M7	372	M+O	ND	ND	ND	ND	0.96
M9	372	M+O	ND	ND	ND	ND	0.52
Repotrectinib	356	Parent drug	78.44	75.91	56.5	56.7	50.58

Abbreviation: NA = not applicable; ND = not detected.

[a] Study 00403; Table 25. Values represent the mean from n=3 animals in the report of feces intervals of 0-48 hours.
[b] Study 00402; Table 24. The average values from n=3 animals in the report were calculated and presented in the table above. For individual animals, the feces intervals selected for analysis ranged from 0-48 to 0-96 hours.
[c] Study 8442748 (DMPK Report), Table 11.4. Values represent the mean from the analysis of individual subjects' radioprofiles; subject 1007 was excluded from the calculation of the mean due to poor recovery. For individual subjects, the feces intervals selected for analysis ranged from 24-120 hours to 24-216 hours; selection of these intervals were made to include the majority of fecal radioactivity while maintaining a concentrated sample for analysis.
[d] In monkey feces, metabolites M4 and M5 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of both metabolites.

<u>ラット胆汁中代謝物：</u>

ラットの胆汁中に同定された化合物を Table 5.3-4 に示す。

雄及び雌において、胆汁中にそれぞれ投与放射能の 10.04%及び 5.41%が回収されたことから、ラットで胆汁中排泄は主要な消失経路でないことが示された。雄及び雌の胆汁中で回収された未変化体は微量であり、それぞれ投与量の 0.36%及び 0.52%に相当した。検出された薬物関連化合物の多くは一水酸化及び二水酸化代謝物並びにそれらのグルクロン酸抱合体であり、それぞれ投与量の最大 2.15%回収された。

Table 5.3-4: ラットの胆汁中の薬物関連化合物

Metabolite	m/z	Description	Rat Bile[a] (% of dose) (0-48h)	
			Male	Female
TPX-0005	356	Parent drug	0.36	0.52
M13	508	Glucuronide of hydroxlated ring cleavage product	0.45	0.12
M14	564	Glucuronide of M+2O	0.99	0.24
M2/M15/M16	548/548/564	Glucuronide of M+O (M2/M15) and Glucuronide of M+2O (M16)	2.15[b]	0.66[c]
M17	548	Glucuronide of M+O	0.79	0.83
M5/M19	372/548	M+O (M5) and Glucuronide of M+O (M19)	0.67[d]	0.48[d]
M20	372	M+O	0.11	0.30

[a] Study 00403, Tables 29 and 31.
[b] In male rat bile, metabolites M2/M15/M16 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of all 3 metabolites.
[c] In female rat bile, M2/M16 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of both metabolites. M15 was not detected in female rat bile.
[d] In rat bile, M5/19 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of both metabolites.

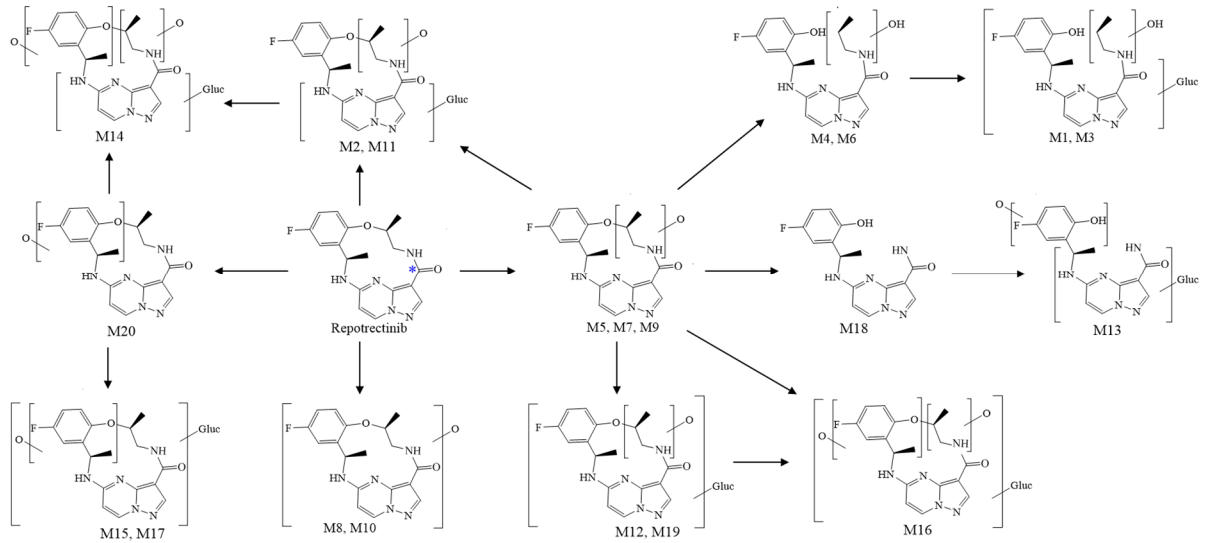
ラットの尿中及び胆汁中の Repotrectinib 濃度が低値であったことから、吸収された薬物は広範に代謝されることが示された。また、ラットの尿中及び胆汁中の Repotrectinib 及び代謝物濃度が低く、糞中の Repotrectinib 濃度が高いことから、ラットでは消化管からの吸収は多くないことが示唆された。

5.4 ラット、サル及びヒトにおける推定代謝経路

ADME 試験及びヒト組換え CYP を用いた CYP 分子種同定試験に基づくと、Repotrectinib の主要な代謝反応は CYP3A4 による酸化（5.1.3 項参照）であり、次いでその酸化代謝物のグルクロン酸抱合であると考えられる。

推定代謝経路を Figure 5.4-1 に示す。

Figure 5.4-1: **ラット、サル及びヒトにおける Repotrectinib の推定代謝経路**



* denotes the location of the [^{14}C]-radiolabel.
Human metabolites: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10.
Monkey metabolites: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M11, M12.
Rat metabolites: M2, M5, M9, M10. M13, M14, M15, M16, M17, M18, M19, M20.

5.5 代謝のまとめ

In vitro 及び in vivo 代謝試験の結果から、非臨床動物種及びヒトにおいて、吸収された Repotrectinib は広範に代謝されることが示唆された。動物及びヒトにおける主要な代謝反応は、酸化又は水和に続くグルクロン酸抱合であった。ヒトで生成される代謝物はラット又はサルでも生成され、これら動物種を用いた非臨床安全性評価の妥当性が確認された。ヒトに[^{14}C]-Repotrectinib を単回投与した結果、未変化体が主要な薬物関連化合物であり、プール血漿における $AUC_{0\text{-}72h}$ は総放射能の 84.3%に相当した。いずれの代謝物も薬物関連曝露量の 10%未満であったことから、ヒトで主要代謝物は認められないことが示された。さらに、投与後 168 時間にわたる Repotrectinib の濃度推移は、総放射能活性の推移と類似していたことから、長期にわたり滞留する代謝物がないことが示唆された。循環血中に酸化代謝物及びそれらのグルクロン酸抱合体も少量認められたが、少量であることや未変化体と構造が異なることから、これら微量代謝物は Repotrectinib の薬理作用に寄与しないと考えられた。

6 排泄

6.1 ラットにおける排泄及びマスバランス

Repotrectinib の排泄及びマスバランスについて、無処置又は胆管カニューレ挿入（BDC）Sprague Dawley ラットに[^{14}C]-Repotrectinib を単回経口投与した後、尿、胆汁及び糞を採取し、液体シンチレーションカウンターを用いて評価した。

無処置ラットに[^{14}C]-Repotrectinib を 30 mg/kg（約 100 μCi/kg）の用量で投与した（試験番号 00273 及び M2.6.5.13）。その結果、投与後 168 時間にわたる総放射能回収率の平均値は雄で 93%及び雌で 91%であった。薬物関連放射能は主に糞中より回収され、雄及び雌でそれぞれ投与量の 86%及び 87%であった。放射能の大部分は投与後 48 時間以内に排泄された。投与後 168 時間に尿中から回収された放射能は雄及び雌でそれぞれ投与量の 6%及び 3%であったことから、尿中排泄は主要な排泄経路でないことが示唆された。最終測定時点（投与後 168 時間）において、Repotrectinib はほぼ完全に排泄されたものの、糞中及び尿中で放射能は検出可能であり、屍体中から投与量の 1%未満の放射能が回収された。ケージ水洗浄液、ケージリン酸三ナトリウム洗浄液及びケージ拭き取り中から回収された放射能の総回収率の平均値は、雄及び雌でそれぞれ 1.2%未満及び 0.3%未満であった。

続いて実施した試験で、無処置ラットに[^{14}C]-Repotrectinib を 50 mg/kg（約 200 μCi/kg）の用量で投与した（試験番号 00403 及び M2.6.5.13）。その結果、投与後 168 時間にわたって回収された総放射能の平均値は雄で 97%及び雌で 86%であった。投与後 168 時間に屍体から回収された放射能は少量（回収率の平均値は雄で 0.30%及び雌で 0.11%）であったことから、試料採取終了時点で排泄がほぼ完了していることが示された。放射能は主に糞中から検出され、投与後 0～168 時間にわたる回収率の平均値は、雄及び雌でそれぞれ投与量の 94%及び 84%であった。尿中排泄は主要な排泄経路でなく、雄及び雌の尿中から投与量の約 2%が回収され、ケージ洗浄液中からさらにそれぞれ投与量の 0.14%及び 0.11%が回収された。

放射能は速やかに排泄され、投与後 24 時間にわたる尿中、糞中及びケージ洗浄液中の総放射能回収率の平均値は、雄及び雌でそれぞれ 89%及び 80%であった。雄及び雌の呼気中から回収された放射能はごく少量であり、総放射能回収率の平均値はそれぞれ 0.04%及び 0.01%であったことから、[^{14}C]-Repotrectinib は代謝的に安定な箇所で放射標識されていることが示唆された。

同試験において、BDC ラットに[^{14}C]-Repotrectinib を 50 mg/kg（約 200 μCi/kg）の用量で単回経口投与した結果、投与後 72 時間にわたる総放射能回収率の平均値は雄及び雌でそれぞれ 95%及び 96%であったことから、ほぼ完全に消失したことが示唆された。雄及び雌の胆汁中からそれぞれ投与量の 10%及び 6%の放射能が回収されたことから、胆汁中排泄は主要な消失経路でないことが示された。放射能は主に糞中から検出され、雄及び雌でそれぞれ投与量の 81%及び 87%が回収された。雄及び雌の BDC ラットの尿中でそれぞれ投与量の約 4%が回収され、ケージ洗浄液からそれぞれ投与量の 0.14%及び 0.17%が回収された。放射能は速やかに排泄され、投与後 24 時間までに雄及び雌の BDC ラットの胆汁中、尿中及び糞中から回収された放射能の総回収率はそれぞれ約 89%及び約 91%であった。雄及び雌の BDC ラットにおける消化管からの吸収率は、胆汁中及び尿中排泄の合算値からそれぞれ約 14%以上及び約 9%以上と推定された。

6.2 サルにおける排泄及びマスバランス

Repotrectinib の排泄及びマスバランスについて、カニクイザルに[^{14}C]-Repotrectinib を 100 mg/kg（約 200 μCi/kg）の用量で単回経口投与した後、尿及び糞を採取し、液体シンチレーションカウンターを用いて評価した（試験番号 00402 及び M2.6.5.13）。

投与後 168 時間にわたる総放射能回収率の平均値は雄で 82%及び雌で 84%であり、投与後 144～168 時間に回収された総放射能回収率の平均値は投与量の約 4%であった。一般的に糞残渣由来と考えられるケージ屑中からは、雄及び雌でそれぞれ 17%及び 16%の放射能が回収された。雄及び雌の尿中からそれぞれ投与量の 0.43%及び 0.82%の放射能が回収され、ケージ洗浄液からさらに約 1%～2%の放射能が回収されたことから、尿中排泄の寄与率は非常に低いことが示唆された。

以上の結果から、Repotrectinib 及び代謝物の主要な排泄経路は糞中排泄であることが示され、尿中排泄による消失の寄与は小さいと考えられた。

6.3 ヒトにおける排泄及びマスバランス

ヒトの ADME 試験で、7 名の健康男性被験者に Repotrectinib（160 mg、100 μCi [^{14}C]-Repotrectinib）を投与し、液体シンチレーションカウンターを用いて Repotrectinib の排泄経路及びマスバランスについて評価した（試験番号 TPX-0005-09 及び M2.6.5.13）。

尿中及び糞中における、投与後 672 時間にわたる総放射能回収率の平均値は、93.7%であった。回収された放射能の大部分は、投与後 216 時間までに排泄された（91.0%）。

各被験者における回収率は 91%～97%であった。主要な排泄経路は糞中排泄（投与量の 89%）で、尿中排泄の寄与は限定的であった（投与量の 4.8%）。

結論として、男性被験者のマスバランスを評価した結果、薬物関連化合物の主要な排泄経路は糞中排泄であった。ヒトにおける Repotrectinib 関連薬物成分の排泄は、ラット及びサルに類似していることが示された。

6.4 乳汁移行

乳汁移行を検討する試験は実施しなかった。

6.5 排泄のまとめ

ラット、サル及びヒトで、Repotrectinib 及び代謝物の主要な消失経路は糞中排泄であり、尿中排泄は主要な消失経路でないことが示唆された。

7 薬物動態学的薬物相互作用

7.1 CYP 阻害

7.1.1 可逆的阻害

Repotrectinib が 7 種の CYP（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5）分子種に対する可逆的阻害作用の可能性について、男女ドナーよりプールしたヒト肝ミクロソーム及び CYP のプローブ基質を用いて評価した（試験番号 00221 及び M2.6.5.12）。

Repotrectinib は CYP1A2、CYP2B6、CYP2D6 及び CYP3A4/5（ミダゾラム）を可逆的に阻害しなかった（IC_{50}：50 μM 超）。Repotrectinib は、高濃度で CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5（テストステロン）を阻害した（IC_{50}：5.72 μM 以上）。

可逆的 CYP 阻害による DDI が生じる可能性について、厚生労働省の DDI ガイドライン「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」（薬生薬審発 0723 第 6 号、2018 年）、FDA の DDI ガイダンス「In Vitro Drug Interaction Studies - Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions Guidance for Industry」（2020 年）、欧州医薬品庁（EMA）の DDI ガイドライン「Guideline on the investigation of drug interactions」（2012 年）及び医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン「薬物相互作用試験（案）」（ICH M12、2022 年）に記載されている basic model を用いて評価した。K_i 推定値（IC_{50} の 1/2 の値）並びに臨床第 1 相試験（試験番号 TPX-0005-01）の非絶食条件下の定常状態 C_{max} 平均値 747 ng/mL（約 2.10 μM、分子量 355 kDa）又は 160 mg、1 日 1 回（QD）で反復投与したときの $C_{max,u}$ 値 0.096 μM に基づくと、R_1 値は 1.02 未満であった。Repotrectinib が循環血中で CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 を阻害することで DDI を引き起こす可能性は低いが、消化管内で CYP3A4/5 を阻害する可能性が示唆された（Table 7.1.1-1）。CYP2C8 及び CYP2C9 の R_1 値はいずれもガイドラインで提唱されているカットオフ値の 1.02 を上回ったため、これら CYP が DDI を引き起こす可能性が示唆された。

Table 7.1.1-1: ヒト肝ミクロソームにおける CYP 活性阻害に関する R_1 算出値

Basic (R_1) model	CYP	K_i (μM)[a]	$I_{max,u}$ (μM)[b]	I_{gut} (μM)[c]	R value for Systemic Interaction $1+(I_{max,u}/Ki)$[d]	R value for Gut Interaction $1+(I_{gut}/Ki)$[e]
Systemic	CYP1A2	25.0	0.096	-	1.004	-
	CYP2B6	25.0	0.096	-	1.004	-
	CYP2C8	4.68	0.096	-	1.021	-
	CYP2C9	2.86	0.096	-	1.034	-
	CYP2C19	6.29	0.096	-	1.015	-
	CYP2D6	25.0	0.096	-	1.004	-
	CYP3A4/5	6.15	0.096	-	1.016	-
Intestinal	CYP3A4/5	6.15	-	1801	-	**294 (> 11)**

[a] K_i values were calculated as experimental IC_{50} values divided by 2.
[b] $I_{max,u}$ values were calculated by multiplying the mean steady state/fed plasma C_{max} at 160 mg QD (~747 ng/mL, ~2.10 μM), by the in vitro fu plasma (0.0459).
[c] I_{gut} was calculated by dividing the dose administered (160 mg, ~450 μM) by 250 mL.
[d] R values greater than ≥ 1.02 indicate potential for systemic drug interaction (MHLW DDI Guideline 2018, FDA In vitro DDI Guidance 2020, EMA DDI Guideline 2012 and ICH M12 Draft Guideline 2022).
[e] R values >11 indicated potential for a gut-based interaction (EMA DDI Guideline 2012 and ICH M12 Draft Guideline 2022).

7.1.2 時間依存的阻害

Repotrectinib の CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 時間依存的阻害能［β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）依存的及び非依存的阻害能］について、男女ドナーよりプールしたヒト肝ミクロソームを用いて評価した（試験番号 00222 及び M2.6.5.12）。

Repotrectinib を NADPH 存在下又は非存在下で 30 分間プレインキュベーションした結果、いずれの条件下においても CYP 活性の変動（IC_{50} シフト）はごく軽微又は認められなかったことから、Repotrectinib はこれら CYP の時間依存的阻害剤でないことが示された。

7.2 CYP 誘導

7.2.1 PXR 活性化

Repotrectinib が PXR を活性化する可能性について、ヒト又はラット PXR 並びにルシフェラーゼレポーター遺伝子発現 HEK293 細胞で評価した（試験番号 00099 及び M2.6.5.12）。その結果、Repotrectinib は最高 10 μM の濃度までヒト及びラット PXR を活性化しなかった［50%有効濃度（EC_{50}）：10 μM 超］。一方、陽性対照として用いたリファンピシン及びプレグネノロン-16α-カルボニトリルは、10 μM の濃度でそれぞれヒト及びラット PXR を約 19 倍及び 51 倍活性化した。

7.2.2 ヒト肝細胞における CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 誘導

Repotrectinib（0.3、1、3、10、30 及び 75 μM）が CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の発現（mRNA レベル）誘導能について、3 名の被験者由来の培養ヒト肝細胞（HC10-23、HC5-24 及び HC7-12）を用いて評価した（試験番号 00250 及び M2.6.5.12）。陽性対照として、オメプラゾール、フェノバルビタール及びリファンピシンを用いた。それぞれの CYP 分子種の mRNA 発現及び活性変動について、3 パラメータのシグモイド関数及び 3 パラメータの Hill 関数を用いて E_{max} 及び EC_{50} を算出した。

最高 10 μM の Repotrectinib を処置した培養肝細胞は正常な形状を保持していたが、高濃度（30 及び 75 μM）の Repotrectinib 存在下では、細胞膜の変性、細胞質の凝縮、空胞の増加及び密集度の減少など細胞毒性を示唆する変化が認められた。

Repotrectinib（最高 75 μM）は、CYP1A2 にほとんど影響を及ぼさなかったが（2 倍未満の変動）、3 種の肝細胞培養中 1 種において 30 μM の濃度で 2.14 倍の変動を示した（陽性対照における反応の 1.28%）。

3 種の肝細胞すべてにおいて、Repotrectinib（最高 10 又は 30 μM）による CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA レベルの濃度依存的な増加（2 倍超）を示したことから、これら CYP を誘導する可能性が示唆された。

CYP2B6 の mRNA は、HC10-23、HC5-24 及び HC7-12 でそれぞれ最大 11.1 倍、49.3 倍及び 8.25 倍の増加を示し（Repotrectinib 濃度：それぞれ 30、30 及び 10 μM）、陽性対照であるフェノバルビタールの反応のそれぞれ 83.6%、462%及び 76.0%に相当した。

CYP3A4 の mRNA は、HC10-23、HC5-24 及び HC7-12 でそれぞれ最大 16.0 倍、34.9 倍及び 7.81 倍の増加を示し（Repotrectinib 濃度：それぞれ 30、30 及び 10 μM）、陽性対照であるリファンピシンの反応のそれぞれ 34.9%、54.1%及び 24.8%に相当した。

7.2.3 ヒト肝細胞における CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 誘導

最初に実施した肝細胞における誘導試験において、CYP2B6 及び CYP3A4 の誘導が認められたため（7.2.2 項）、Repotrectinib が CYP2C を誘導する可能性について評価する追加試験を実施した。Repotrectinib（0.025～30 μM）が CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 の mRNA 発現及び酵素活性の変動による誘導の可能性について、3 種の初代培養凍結ヒト肝細胞（HC10-49、HC10-50 及び HC10-52）を用いて評価した（試験番号 00494 及び M2.6.5.12）。陽性及び陰性対照として、それぞれリファンピシン及びフルマゼニルを用いた。それぞれの CYP 分子種の mRNA 発現及び活性変動について、3 パラメータのシグモイド関数及び 3 パラメータの Hill 関数を用いて E_{max} 及び EC_{50} を算出した。

最高 7.5 μM の Repotrectinib を処置した培養肝細胞は正常な形状を保持していたが、高濃度（25 及び 30 μM）の Repotrectinib 存在下では、細胞膜の変性、細胞質の凝縮及び空胞の増加など細胞毒性を示唆する変化が認められた。

CYP2C8 の mRNA は、HC10-49 及び HC10-50 でそれぞれ最大 3.10 及び 3.12 倍の濃度依存的な増加を示し、陽性対照の反応のそれぞれ 88.4%及び 64.3%に相当した。HC10-52 を最高 30 μM の Repotrectinib で処置した結果、CYP2C8 の mRNA 発現に対して軽微又は無影響であったが（2 倍未満の変動）、この肝細胞における最大変動（1.5 倍）は、陽性対照の反応の 27.8%に相当した。

さらに、HC10-49、HC10-50 及び HC10-52 において、CYP2C8 の酵素活性はそれぞれ最大 5.63、3.78 及び 2.54 倍増加したことから、Repotrectinib による CYP2C8 誘導の可能性が示唆された。

CYP2C9 の mRNA は、HC10-49 及び HC10-50 でそれぞれ最大 6.35 及び 5.30 倍の増加を示し、陽性対照の反応のそれぞれ 326%及び 211%に相当した。リファンピシンは中等度の CYP2C9 mRNA 誘導剤であり、最大 3.04 倍の増加しか示さなかったことから、陽性対照に対する Repotrectinib の反応の比が過大評価されている可能性が考えられる。HC10-52 を Repotrectinib で処置した結果、CYP2C9 の mRNA 発現に対して軽微又は無影響であった（2 倍未満の変動）。HC10-49、HC10-50 及び HC10-52 において、CYP2C9 の酵素活性は軽微又は無影響であったが（2.17 倍以下の変動）、mRNA の変動がみられることから、CYP2C9 を誘導する可能性が示唆された。

CYP2C19 の mRNA は、HC10-49 及び HC10-50 でそれぞれ最大 2.13 及び 2.96 倍の増加を示し、陽性対照の反応のそれぞれ 96.5%及び 65.8%に相当した。HC10-52 を Repotrectinib で処置した結果、CYP2C19 の mRNA 発現に対して軽微又は無影響であったが（2 倍未満の変動）、同細胞に陽性対照を処置したときの反応（最大 1.50 倍の変動）の 24.4%に相当した。リファンピシンは中等度の CYP2C19 mRNA 誘導剤であることから、陽性対照に対する Repotrectinib の反応の比が過大評価されている可能性が考えられる。HC10-49 及び HC10-50 において、CYP2C19 の酵素活性はそれぞれ 3.64 及び 2.29 倍の増加を示し、HC10-52 において軽微又は無影響であった。これらの結果から、Repotrectinib が CYP2C19 の mRNA を誘導する可能性が示唆された。

7.3 UGT 阻害

Repotrectinib（0.1～100 μM）による UGT 阻害能について、UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9 及び UGT2B7 発現 Supersomes^{TM} を用いて評価した（試験番号 00237 及び M2.6.5.12）。Repotrectinib は UGT1A1 を阻害し、IC_{50} 値は 1.60 μM であった。臨床的に関連する濃度において、Repotrectinib は評価したその他の UGT を阻害しなかった。

厚生労働省の DDI ガイドライン、FDA の DDI ガイダンス、EMA の DDI ガイドライン及び ICH M12 ガイドラインを用いて、in vitro 試験結果から得られた K_i 推定値（IC_{50} の 1/2 の値）並びに臨床第 1 相試験（試験番号 TPX-0005-01）の 160 mg QD 反復投与後の定常状態平均 C_{max} 値 747 ng/mL（2.10 μM）又は $C_{max,u}$ 値 0.096 μM に基づき、UGT 阻害による DDI の可能性について評価した。その結果、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9 及び UGT2B7 の R_1 値はいずれもガイドラインのカットオフ値の 1.02 未満であり、Repotrectinib が、UGT1A1 を除くその他の UGT を阻害し DDI を引き起こす可能性は低いことが示された。一方で、Repotrectinib は UGT1A1 の阻害剤である可能性が示唆され

た（Table 7.3-1）。さらに、Repotrectinib は CYP3A4 の誘導剤であることから、ヒト PXR を介して UGT1A1 を誘導する可能性も示唆された。

Table 7.3-1: Repotrectinib の UGT 活性阻害に関する R_1 計算値

Basic (R_1) Model	UGT	K_i (μM)[a]	$I_{max,u}$ (μM)[b]	R value for Systemic Interaction $1+(I_{max,u}/K_i)$[c]
Systemic	UGT1A1	0.8	0.096	**1.12**
	UGT1A3	50.0	0.096	1.002
	UGT1A4	14.5	0.096	1.007
	UGT1A6	23.2	0.096	1.004
	UGT1A9	17.9	0.096	1.005
	UGT2B7	24.4	0.096	1.004

Abbreviation: UGT = uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.

[a] K_i values were calculated as experimental IC_{50} values divided by 2.
[b] $I_{max,u}$ values were calculated by multiplying the mean steady state/fed plasma C_{max} at 160 mg QD (~747 ng/mL, ~2.10 μM), by the in vitro fu plasma (0.0459).
[c] R values greater than ≥ 1.02 indicate potential for systemic drug interaction (MHLW DDI Guideline 2018, FDA In vitro DDI Guidance 2020, EMA DDI Guideline 2012 and ICH M12 Draft Guideline 2022).

7.4 薬物トランスポーターとの相互作用

7.4.1 消化管トランスポーター

Repotrectinib と P-gp 又は BCRP の相互作用の可能性について、P-gp 発現 Madin-Darby イヌ腎（MDCK-MDR1）細胞又は BCRP を発現した Caco-2 細胞を用いて評価した（試験番号 00227 及び M2.6.5.14）。Repotrectinib は高濃度で P-gp 又は BCRP を介したプローブ基質の輸送を阻害し、IC_{50} はそれぞれ 16.7 及び 6.9 μM であった。

7.4.2 肝トランスポーター

OCT1、OATP1B1 及び OATP1B3 発現ヒト胎児腎（HEK）293 細胞を用いて、各トランスポーター阻害剤存在下及び非存在下における Repotrectinib の OCT1、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質性を評価した（試験番号 00453 及び M2.6.5.14）。また、BSEP 発現ベシクルを用いて Repotrectinib の BSEP の基質性を評価した。Repotrectinib は OCT1、OATP1B1 及び BSEP の基質ではなく、Repotrectinib は 1 及び 3 μM の濃度で OATP1B3 の基質ではなかった。

Repotrectinib のヒト肝取込みトランスポーター阻害能について、OATP1B1 及び OATP1B3 発現 HEK293 細胞を用いて評価した（試験番号 00238 及び M2.6.5.14）。Repotrectinib は OATP1B1 及び OATP1B3 を介したプローブ基質の輸送を阻害し、IC_{50} はそれぞれ 2.35 及び 25.3 μM であった。

7.4.3 腎トランスポーター

OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K 発現 HEK293 細胞並びにこれらのトランスポーターの阻害剤を用いて、Repotrectinib がこれらのヒト腎トランスポーターの基質となる可能性について評価した（試験番号 00453 及び M2.6.5.14）。Repotrectinib は OCT2 の基質でなかった。Repotrectinib は 1 μM の濃度で、OAT1、OAT3 及び MATE1 の基質でなかったが、MATE2-K の基質である可能性が示唆された。しかしながら、Repotrectinib の尿中からの排泄がわずかであることから（1%未満、5.3 項参照）、MATE2-K 阻害剤と併用投与したとき、Repotrectinib の曝露量に臨床的に意義のある影響が認められる可能性は低いと考えられた。

Repotrectinib のヒト腎取込みトランスポーター阻害能についても、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K 発現 HEK293 細胞を用いて評価した（試験番号 00238 及び M2.6.5.14）。その結果、Repotrectinib は OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K を介したプローブ基質の輸送を阻害し、IC_{50} は 0.726～50.7 μM であった。

7.4.4 トランスポーター阻害能の評価

厚生労働省の DDI ガイドライン、FDA の DDI ガイダンス、EMA の DDI ガイドライン及び ICH M12 ガイドラインを用いて、in vitro 試験結果から得られた IC_{50} 値並びに臨床第 1 相試験（試験番号 TPX-0005-01）の 160 mg QD 反復投与後の定常状態平均 C_{max} 値 747 ng/mL（2.10 μM）又は $C_{max,u}$ 値 0.096 μM に基づき、Repotrectinib のトランスポーター阻害による DDI の可能性について評価した。その結果、$[I]_1$ 又は $[I]_{1,u}$ に対する IC_{50} の比は、OAT1、OAT3、OCT2 は EMA ガイドラインのカットオフ値である 0.02 未満であったが、P-gp、BCRP、MATE1 及び MATE2-K はカットオフ値（P-gp 及び BCRP：0.1、MATE：0.02）を上回ったことから、Repotrectinib は臨床的に関連する濃度で P-gp、BCRP、MATE1 及び MATE2-K と DDI を引き起こす可能性が示唆された。

Repotrectinib と OATP1B1 及び OATP1B3 との DDI の可能性は、R 値を算出し評価した。肝門脈内濃度（$[I]_{in,max}$）は吸収速度定数（ka：1.6 h^{-1}）、消化管バイオアベイラビリティ［消化管非代謝率（Fg）×消化管からの吸収率（Fa）：約 0.5］、血液／血漿比（R_B：0.56）及び肝血流速度（Qh：87 L/h）を用いて推定した。R 値を算出した結果、OATP1B3 は EMA ガイドラインのカットオフ値である 1.04 未満であったが、OATP1B1 は 1.04 超であったことから、Repotrectinib は OATP1B1 と DDI を引き起こす可能性が示唆された。

消化管内における DDI の可能性について、$[I]_2/IC_{50}$ を算出して評価した。$[I]_2$ は 1801 μM と推定された［管腔内での予測最高濃度（1 回に投与される最大投与量 160 mg を 250 mL で除して算出）］。P-gp 及び BCRP の $[I]_2/IC_{50}$ はいずれもガイドラインのカットオフ値である 10 超であったことから、Repotrectinib は消化管内で P-gp 及び BCRP を阻害する可能性が示唆された。

これらのトランスポーターを介した DDI の予測について、Table 7.4.4-1 に要約する。In vitro 試験の結果並びに厚生労働省の DDI ガイドライン、FDA の DDI ガイダンス、EMA の DDI ガイドライン及

び ICH M12 ガイドラインに記載されている評価に基づくと、Repotrectinib は OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 阻害による DDI を引き起こす可能性は低いが、臨床的に関連する濃度で P-gp 及び BCRP（循環血中及び消化管内）並びに OATP1B1、MATE1 及び MATE2-K を阻害する可能性が示唆された。Repotrectinib はヒト PXR を介して CYP3A4 を誘導すると考えられることから、OATP1B1 及び P-gp を誘導する可能性があると考えられた。

Table 7.4.4-1: トランスポーターを介した Repotrectinib の DDI 評価

Basic Model	Transporter	IC_{50} (μM)	$[I]_1$ (μM)[a]	$[I]_{1,u}$ (μM)[b]	$[I]_2$ (μM)[c]	$[I]/IC_{50}$[d]	R value[e]
Systemic	P-gp	16.7	2.10	-	-	0.13	-
	BCRP	6.9	2.10	-	-	0.30	-
	OATP1B1	2.35	2.10	-	-	-	1.19
	OATP1B3	25.3	2.10	-	-	-	1.02
	OAT1	42.7	-	0.096	-	0.002	-
	OAT3	15.2	-	0.096	-	0.006	-
	OCT2	50.7	-	0.096	-	0.002	-
	MATE1	4.13	-	0.096	-	0.023	-
	MATE2-K	0.726	-	0.096	-	0.132	-
Intestinal	P-gp	16.7	-	-	1801	108	-
	BCRP	6.9	-	-	1801	261	-

Abbreviations: BCRP = breast cancer resistance protein; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; MATE = multidrug and toxin extrusion protein; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein.

[a] $[I]_1$ = Mean steady state/fed plasma C_{max} at 160 mg QD (~747 ng/mL).

[b] $[I]_{1,u}$ values were calculated by multiplying $[I]_1$ by the in vitro fu plasma (0.0459).

[c] $[I]_2$ was calculated by dividing the dose administered (160 mg, ~450 μM) by 250 mL.

[d] $[I]_1/IC_{50}$ values ≥ 0.1 (P-gp and BCRP) or $[I]_{1,u}/IC_{50}$ values ≥ 0.02 (OATs, OCT and MATEs) indicate potential for systemic drug interaction. $[I]_2/IC_{50}$ values ≥ 10 indicate a potential for a gut-level interaction (MHLW DDI Guideline 2018, FDA In vitro DDI Guidance 2020, EMA DDI Guideline 2012 and/or ICH M12 Draft Guideline 2022).

[e] The R values for OATP inhibition were calculated using the equation $R=1+(fu,p*I_{in,max})/IC_{50}$, where $I_{in,max} = I_{max}+(Fa*Fg*ka*dose)/Qh/R_B$. fu plasma = 0.0459; Fa*Fg = 0.5; ka = 1.6 h^{-1}; dose = 160 mg; Qh = 87 L/h; R_B = 0.56. The R value of 1.19 for OATP1B1 indicates potential for systemic drug interaction (per MHLW DDI Guideline 2018, FDA In vitro DDI Guidance 2020 and ICH M12 Draft Guideline 2022 [cutoff ≥ 1.1], and per EMA DDI Guideline 2012 [cutoff ≥ 1.04]).

7.5 薬物動態学的薬物相互作用のまとめ

Repotrectinib は、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5 を軽度かつ可逆的に阻害するが、CYP に対して時間依存的阻害を示さなかった。DDI ガイドラインに基づくと、Repotrectinib は循環血中で CYP2C8 及び CYP2C9 並びに消化管内で CYP3A4/5 を阻害する可能性が示唆された。

Repotrectinib は CYP2B6 及び CYP3A4 を誘導することが示唆され、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 も誘導する可能性が示唆された。

評価した UGT 分子種の内、Repotrectinib は UGT1A1 を阻害した。

Repotrectinib は P-gp の基質であり、BCRP 及び MATE2-K の基質である可能性がある。一方で、Repotrectinib は BSEP、OATP1B1 及び OCT2 の基質でなかった。また、Repotrectinib は P-gp、BCRP、OATP1B1、OAT3、MATE1 及び MATE2-K を阻害した。

EMA の DDI ガイドラインに基づくと、Repotrectinib は OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 阻害による DDI を引き起こす可能性は低いが、臨床的に関連する濃度で P-gp 及び BCRP（循環血中及び消化管内）並びに OATP1B1、MATE1 及び MATE2-K を阻害する可能性が示唆された。

8 その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

9 考察及び結論

Repotrectinib の PK 特性並びに DDI 発現の可能性について、in vitro 及び in vivo 試験により評価した。

ラット及びサルに Repotrectinib を単回静脈内投与したとき、Repotrectinib の CL は低度から中等度（肝血流量の約 10%～41%[1]）であり、V_{dss} は検討したすべての動物種で体内総水分量（約 0.6～0.7 L/kg[1]）より大きく、組織中へ広範に分布することが示唆された。絶対的バイオアベイラビリティは、雄性ラット、雌性ラット及び雌性サルでそれぞれ 45%、61%及び 14%であった。サルを用いたクロスオーバー試験では、Repotrectinib のカプセル剤を単回経口投与したときの曝露量は、懸濁剤を単回経口投与したときと比較して約 40%高かった。イヌを用いた同様の試験では、カプセル剤及び懸濁剤の曝露量は同程度であった。

ラットに Repotrectinib を単回及び反復経口投与したとき、曝露量に性差が認められ、雌では雄の約 2 倍の高値であった。これは in vitro 代謝安定性試験で観察された性差と一致しており、代謝の性的二形性によるものと考えられる。Repotrectinib の曝露量は概ね用量比を下回って増加した。反復投与による蓄積は用量に依存し、反復投与後の曝露量は 5～30 mg/kg/day の用量範囲では初回投与時の約 2～4 倍に増加したが、100 mg/kg/day 以上の用量では、曝露量の減少傾向が認められた。サルに Repotrectinib を反復経口投与したとき、曝露量は用量比を下回って増加し、明らかな性差は認められなかった。また、反復投与による蓄積は認められなかった。

マウスに Repotrectinib を単回及び反復経口投与したとき、限定的な脳内移行性が認められ、血漿中濃度に対する脳内濃度の割合は約 5%以下であった。雌性幼若ラットに Repotrectinib を単回経口投与したとき、血漿中曝露量に対する脳内曝露量の割合は 1%以下であった。Long Evans ラットに [^{14}C]-Repotrectinib を単回経口投与し、QWBA により組織分布を評価した結果、投与 1 時間後までに薬物由来の放射能はほとんどの組織で検出され、これは動物の V_{dss} が体内総水分量を上回った結果

と一致しており、[^{14}C]-Repotrectinib は組織中へ広範に分布することが示唆された。雌雄ラットともに薬物由来の放射能の曝露量が最も高かった組織は、有色皮膚、ぶどう膜、肝臓、腎皮質及び腎臓であった。また、CNS 組織への移行はわずかで、マウス及び幼若ラットを用いた脳内移行性試験の結果と一致した。薬物由来の放射能は投与後 168 時間以内にほぼすべての組織から消失して LLOQ 未満となり、メラニン含有組織に結合しないことが示唆された。総じて、雌雄ラットにおける放射能濃度の組織分布パターンは同様であった。

動物及びヒトにおける Repotrectinib の血漿蛋白結合率は同程度で高く（動物：92.1%～95.8%、ヒト：95.4%）、動物及びヒトにおける fu の差は 2 倍未満であった。また、Repotrectinib は、ヒト AGP（7.6%～10.5%）と比べてヒト HSA（95.2%～96.0%）と高い結合率を示した。In vitro のヒト血漿に対する血中濃度比は 0.55 であり、血球移行性は限定的であった。

代謝安定性試験で、サル肝ミクロソームにおいて CL_{int} 値は最も高値を示した。ラットの肝ミクロソームでは性差が認められ、雌の肝ミクロソームの CL_{int} 値は雄と比べて低値を示した。肝ミクロソームにおける結果と同様に、Repotrectinib の代謝回転率はサルの肝細胞で最も高値を示した。

In vitro 及び in vivo で、Repotrectinib の代謝物が複数同定された。[^{14}C]-Repotrectinib を用いた ADME 試験で、ヒト及び非臨床動物種において Repotrectinib は主に肝代謝を介して消失することが示唆された。ヒトにおいて生成された代謝物は、ラット又はサルでも生成されたことから、非臨床安全性試験においてこれらの動物種を用いることの妥当性が確認された。ヒトに[^{14}C]-Repotrectinib を単回投与した結果、未変化体が主要な薬物関連化合物であり、プール血漿における AUC は総放射能の 84.3%に相当した。いずれの代謝物も薬物関連曝露量の 10%未満であったことから、ヒトで主要代謝物は認められないことが示された。さらに、投与後 168 時間にわたる Repotrectinib の濃度推移は、総放射能活性の推移と類似していたことから、長期にわたり滞留する代謝物がないことが示唆された。循環血中に酸化代謝物及びそれらのグルクロン酸抱合体も少量認められたが、少量であることや未変化体と構造が異なることから、これら微量代謝物は Repotrectinib の薬理作用に寄与しないと考えられた。

ヒトでは、Repotrectinib の酸化反応に主に CYP3A4 が寄与した。Repotrectinib の CYP3A による代謝について、臨床 DDI 試験で詳細に検討した。Repotrectinib とイトラコナゾール又はリファンピシンを併用投与した結果、Repotrectinib の全身曝露量は Repotrectinib 単剤投与時の曝露量のそれぞれ約 630%超又は約 8%であった（試験番号 TPX-0005-10）。

ラット、サル及びヒトで、Repotrectinib 及び代謝物の主要な消失経路は糞中排泄であり、尿中排泄は主要な消失経路でないことが示唆された。

Repotrectinib は、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5（テストステロン）を軽度に阻害した一方で（IC_{50}：5.72 μM 以上）、CYP に対して時間依存的阻害を示さなかった。可逆的 CYP 阻害による DDI が生じる可能性について、DDI ガイドラインに記載されている basic model を用いて評価

した結果、Repotrectinib が循環血中で CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 を阻害することで DDI を引き起こす可能性は低いが（R_1 値：カットオフ値の 1.02 未満）、消化管内で CYP3A4/5 を阻害する可能性が示唆された（$R_{1,gut}$ 値：カットオフ値の 11 超）。CYP2C8 及び CYP2C9 の R_1 値はそれぞれ 1.021 及び 1.034 であったことから、これら CYP が DDI を引き起こす可能性が示唆された。

評価した UGT 分子種の内、Repotrectinib は UGT1A1 を阻害し（IC_{50}：1.60 μM）、R_1 値は 1.12 であり、カットオフ値の 1.02 を上回った。UGT1A1 阻害に加え、Repotrectinib はヒト PXR を介して CYP3A4 を誘導すると考えられることから、UGT1A1 を誘導する可能性があると考えられた。

ヒト肝細胞を用いた試験の結果から、Repotrectinib は CYP2B6 及び CYP3A4 を誘導することが示唆され、さらに CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 も誘導する可能性が示唆された。Repotrectinib の CYP3A4 誘導能について評価するため、プローブ基質としてミダゾラムを用いた臨床 DDI 試験を実施した。Repotrectinib とミダゾラムを併用投与した結果、ミダゾラムの AUC 及び C_{max} はミタゾラムを単剤投与時の曝露量のそれぞれ約 31%及び約 52%であった。この結果から、Repotrectinib は CYP3A4 の中等度の誘導剤であることが示唆された（試験番号 TPX-0005-01）。

Repotrectinib は P-gp の基質であり、BCRP 及び MATE2-K の基質である可能性がある。一方、Repotrectinib は評価したその他のヒトトランスポーターの基質でなかった。Repotrectinib の尿中排泄が限定的（1%未満）であることから、MATE2-K 阻害剤と併用投与したときに Repotrectinib の曝露量に臨床的に意義のある影響は認められないと考えられた。

Repotrectinib は P-gp 及び BCRP（IC_{50}：6.9 μM 以上）、OATP1B1（IC_{50}：2.35 μM）、OAT3（IC_{50}：15.2 μM）、MATE1（IC_{50}：4.13 μM）並びに MATE2-K（IC_{50}：0.726 μM）を阻害した。

EMA の DDI ガイドラインに記載されている評価に基づくと、Repotrectinib は OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2 阻害による DDI を引き起こす可能性は低いが、臨床的に関連する濃度で P-gp 及び BCRP（循環血中及び消化管内）並びに OATP1B1、MATE1 及び MATE2-K を阻害する可能性が示唆された。さらに、Repotrectinib はヒト PXR を介して CYP3A4 を誘導すると考えられることから、OATP1B1 及び P-gp を誘導する可能性があると考えられた。

Repotrectinib の PK 特性及び DDI 発現の可能性を詳細に検討した。その結果、Repotrectinib は薬理及び毒性評価に用いた非臨床動物種において適切な PK 特性が確認され、DDI の検討結果は臨床薬理評価の有益な情報として利用された。

10 参考文献

[1] Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res. 1993;10:1093-5.

Table of Contents

1 薬物動態試験：一覧表 2
2 分析方法及びバリデーション試験 8
3 薬物動態試験：吸収：単回投与 9
4 薬物動態試験：吸収：反復投与 13
5 薬物動態試験：分布 20
6 薬物動態試験：蛋白結合 25
7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 27
8 薬物動態試験：その他の分布試験 28
9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 29
10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 52
11 薬物動態試験：推定代謝経路 56
12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 57
13 薬物動態試験：排泄 67
14 薬物動態試験：薬物相互作用 72
15 薬物動態試験：その他 77

1 薬物動態試験：一覧表

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)

Type of Study	Test System	Method of Admin.	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Analytical Methods and Validation					
Absolute stereochemistry of TPX-0005 and chiral purity determination for reference standard	NA	NA	[redacted] USA [redacted], USA	00232	4.2.2.1-1
Using achiral chromatography for chiral TPX-0005 Bioanalytical Analyses	NA	NA	[redacted], USA	00233	4.2.2.1-2
Validation of an LC-MS/MS assay for TPX-0005 in rat plasma with K_2EDTA[a]	NA	NA	[redacted], USA (previously [redacted], USA)	00213 Amendment	4.2.2.1-3
Validation of an LC-MS/MS assay for TPX-0005 in monkey plasma with K_2EDTA[a]	NA	NA	[redacted], USA (previously [redacted], USA)	00214 Amendment	4.2.2.1-4
Absorption					
Bioavailability and single dose Pharmacokinetics (PK)	Mouse, ICR	Oral[b] Intravenous	[redacted], China	00100	4.2.2.2-1
	Rat, Sprague Dawley	Oral[b] Intravenous	[redacted], USA	00209	4.2.2.2-2
	Dog, Beagle	Oral[b] Intravenous	[redacted], USA	00203	4.2.2.2-3
	Monkey, Cynomolgus	Oral[b] Intravenous	[redacted], USA	00208	4.2.2.2-4

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)

Type of Study	Test System	Method of Admin.	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Single dose crossover oral PK study comparing capsule vs. suspension	Dog, Beagle	Oral[b]	[redacted], USA	00396 and Amendment	4.2.2.2-5
	Monkey, Cynomolgus	Oral[b]	[redacted], USA	00234	4.2.2.2-6
Repeat dose toxicokinetics (TK) – 7 days	Rat, Sprague Dawley	Oral[b]	[redacted],USA [redacted], USA	00201	4.2.3.1-1
Repeat dose TK – 28 days[c]	Rat, Sprague Dawley	Oral[b]	[redacted], USA (previously [redacted], USA)	00219 and Amendment	4.2.3.2-2
Repeat dose TK – 91 days[c]	Rat, Sprague Dawley	Oral[b]	[redacted], USA (previously [redacted], USA)	00272 and Amendment	4.2.3.2-3
Repeat dose PK – 5 days	Monkey, Cynomologus	Oral[b]	[redacted], USA	00212	4.2.2.2-7
Repeat dose TK – 7 days	Monkey, Cynomolgus	Oral[b]	[redacted], USA (previously [redacted], USA)	00211 and Amendment	4.2.3.1-2
Repeat dose TK – 28 days[c]	Monkey, Cynomolgus	Oral[b]	[redacted], USA (previously [redacted], USA)	00229, Amendment 01 and Amendment 02	4.2.3.2-5
Repeat dose TK – 91 days[c]	Monkey, Cynomolgus	Oral[b]	[redacted], USA (previously [redacted], USA)	00357 and Amendment	4.2.3.2-6
Permeability and transporter assay	Caco-2 cells	In vitro	[redacted], USA	00106	4.2.2.6-1
	Caco-2 cells	In vitro	[redacted], USA	00493	4.2.2.6-2

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)

Type of Study	Test System	Method of Admin.	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Distribution					
Brain penetration	Mouse, ICR	Oral[b] Intravenous	[redacted], China	00100	4.2.2.2-1
Brain penetration	Mouse, CD-1	Oral[b]	[redacted], USA [redacted], USA [redacted] USA	00226	4.2.2.3-1
Brain penetration	Rat, Sprague Dawley juvenile	Oral[b]	[redacted], USA	00390 and Amendment 01	4.2.2.3-2
Quantitative whole-body autoradiography	Rat, Long Evans	Oral[b]	[redacted], USA	00273	4.2.2.2-8
Plasma protein binding	Human, mouse, rat, dog and monkey plasma	In vitro	[redacted], China	00101	4.2.2.3-3
Binding to human serum albumin and alpha-1-acid glycoprotein	Human serum albumin and alpha-1-acid glycoprotein	In vitro	[redacted], USA	00455	4.2.2.3-4
Distribution into red blood cells	Pooled human blood	In vitro	[redacted], Japan	00485 and Amendment	4.2.2.3-5
Metabolism					
Metabolite profiling and identification	Rat, Sprague Dawley plasma, urine, feces, bile	Oral[b]	[redacted] UK	00403	4.2.2.4-1
Metabolite profiling and identification	Monkey, Cynomolgus, plasma, urine and feces	Oral[b]	[redacted] UK	00402	4.2.2.4-2

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)

Type of Study	Test System	Method of Admin.	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Metabolite profiling and identification	Human, healthy male subjects	Oral	[redacted] USA [redacted], USA [redacted], USA [redacted] [redacted] UK	TPX-0005-09	5.3.3.1-1
Metabolic stability	Liver microsomes and hepatocytes from human, rat, dog and monkey	In vitro	[redacted] [redacted] USA [redacted] [redacted] USA [redacted], USA	00216	4.2.2.4-3
Metabolite profiling and identification	Hepatocytes from mouse, rat, dog, monkey and human	In vitro and in vivo	[redacted] [redacted] USA [redacted], USA	00207	4.2.2.4-4
CYP enzyme identification	Supersomes™ expressing recombinant human CYP enzymes	In vitro	[redacted], USA	00217	4.2.2.4-5
Excretion					
Excretion and mass balance	Rat, Sprague Dawley	Oral[b]	[redacted], USA	00273	4.2.2.2-8
Excretion and mass balance	Rat, Sprague Dawley	Oral[b]	[redacted] [redacted] UK	00403	4.2.2.4-1
Excretion and mass balance	Monkey, Cynomolgus	Oral[b]	[redacted] [redacted] UK	00402	4.2.2.4-2

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)

Type of Study	Test System	Method of Admin.	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Excretion and mass balance	Human, healthy male subjects	Oral	[redacted] USA [redacted], USA [redacted], USA [redacted] [redacted] UK	TPX-0005-09	5.3.3.1-1
Pharmacokinetic Drug Interactions					
CYP inhibition – reversible	Human liver microsomes	In vitro	[redacted] [redacted] USA	00221	4.2.2.4-6
CYP inhibition – metabolism-dependent	Human liver microsomes	In vitro	[redacted] [redacted] USA	00222	4.2.2.4-7
CYP induction – nuclear receptor PXR activation	HEK293 cells expressing human or rat PXR and a luciferase reporter gene	In vitro	[redacted], USA	00099	4.2.2.4-8
CYP induction (CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4)	Human hepatocytes	In vitro	[redacted], USA	00250	4.2.2.4-9
CYP induction (CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19)	Human hepatocytes	In vitro	[redacted], USA	00494	4.2.2.4-10
UGT inhibition	Supersomes™ expressing recombinant human UGT enzymes	In vitro	[redacted], USA	00237	4.2.2.4-11
ABC and SLC transporter substrate assays	Vesicles and HEK293 cells expressing human ABC and SLC membrane transporters	In vitro	[redacted], USA	00453	4.2.2.6-3

Table 2.6.5.1: Pharmacokinetics Overview（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)

Type of Study	Test System	Method of Admin.	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
P-gp and BCRP inhibition assays	MDCK-MDR1 and Caco-2 epithelial cell monolayers	In vitro	[redacted], USA	00227	4.2.2.6-4
SLC transporter inhibition assays	HEK293 cells expressing human SLC membrane transporters	In vitro	[redacted], USA [redacted], UK	00238	4.2.2.6-5
Other					
No other pharmacokinetic studies were conducted.					

Abbreviations: ABC = ATP-binding cassette transporter; BCRP = breast cancer resistance protein; CYP = cytochrome P450; GLP = Good Laboratory Practice; HEK = human embryonic kidney; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR1 = multi-drug resistance 1; NA = not applicable; P-gp = P-glycoprotein; PXR = pregnane X receptor; SLC = solute carrier; UGT = uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.

[a] Method validation successfully conducted at [redacted] GLP facility.
[b] Oral gavage.
[c] These TK assessments are part of a GLP toxicity study.

2 分析方法及びバリデーション試験

生体試料中薬物濃度分析法バリデーションの要約を Module 2.6.4, Section 2 に示す。

3 薬物動態試験：吸収：単回投与

Table 2.6.5.3.A: Oral Bioavailability Studies in Mice and Rats

				Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)			
Study No. / Location in CTD:	00100 / 4.2.2.2-1			00209 / 4.2.2.2-2			
Species:	Mouse, ICR			Rat, Sprague Dawley			
Sex (M/F)/Number of animals:	M/9	M/9	M/9	M/3	F/3	M/3	F/3
Method of Administration:	IV	Oral (gavage)	Oral (gavage)	IV	IV	Oral (gavage)	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	1	30	100	1	1	20	20
Feeding condition:	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	10% Solutol HS-15, 10% DMA, 80% saline	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water	20% DMA, 20% PEG400, 60% saline	20% DMA, 20% PEG400, 60% saline	0.5% CMC in deionized water	0.5% CMC in deionized water
Sample:	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	TPX-0005	TPX-0005	TPX-0005	TPX-0005	TPX-0005	TPX-0005	TPX-0005
PK Parameters:							
C_{max} or C_0 (ng/mL)	ND	1930	2750	284	493	1260	1970
T_{max} (h)	NA	2.0	4.0	NA	NA	4.0	4.0
$t_{1/2}$ (h)	2.4	3.9	3.4	12	7.1	4.3	4.9
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	609	6990	19700	654	798	6820	10700
AUC_{0-inf} (ng·h/mL)	618	7070	19800	763	853	6890	10900
CL (mL/h/kg)	1620	NA	NA	1360	1204	NA	NA
V_{dss} (L/kg)	3.00	NA	NA	21.4	12.5	NA	NA
F (%)	NA	38	32	NA	NA	45	61

Abbreviations: AUC_{0-inf} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity; AUC_{0-t} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; CL = plasma clearance; CMC = carboxymethylcellulose; C_{max} = maximum plasma concentration (oral studies); C_0 = plasma concentration back-extrapolated to time 0 (IV studies); DMA = dimethylacetamide; F = bioavailability; IV = intravenous; NA = not applicable; ND = not determined; PEG = polyethylene glycol; $t_{1/2}$ = elimination half-life; T_{max} = time to C_{max}; V_{dss} = volume of distribution at steady-state.
Note: Data are mean values for rats.

Table 2.6.5.3.B: Oral Bioavailability Studies in Beagle Dogs and Cynomolgus Monkeys

				Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD:	00203 / 4.2.2.2-3		00208 / 4.2.2.2-4	
Species:	Dog, Non-naïve Beagle		Monkey, Non-naïve Cynomolgus	
Sex (M/F)/Number of animals:	M/3	M/2[a]	F/3	F/3
Method of Administration:	IV	Oral (gavage)	IV	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	2	20	2	20
Feeding condition:	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	20% DMA, 20% PEG400, 60% saline	0.5% CMC in deionized water	20% DMA, 20% PEG400, 60% saline	0.5% CMC in deionized water
Sample:	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	TPX-0005	TPX-0005	TPX-0005	TPX-0005
PK Parameters:				
C_{max} or C_0 (ng/mL)	9830	1680	2190	723
T_{max} (h)	NA	4.0	NA	2.0
$t_{1/2}$ (h)	9.7	10	11	29
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	8330	22000	2370	2680
AUC_{0-inf} (ng·h/mL)	9090	23000	2760	3740
CL (mL/h/kg)	223	NA	252	NA
V_{dss} (L/kg)	3.0	NA	11.4	NA
F (%)	NA	25	NA	14

Abbreviations: AUC_{0-inf} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity; AUC_{0-t} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; CL = plasma clearance; CMC = carboxymethylcellulose; C_{max} = maximum plasma concentration (oral studies); C_0 = plasma concentration back-extrapolated to time 0 (IV studies); DMA = dimethylacetamide; F = bioavailability; IV = intravenous; NA = not applicable; PEG = polyethylene glycol; $t_{1/2}$ = elimination half-life; T_{max} = time to C_{max}; V_{dss} = volume of distribution at steady-state.
Note: Data are mean values.

[a] One animal had an unusual plasma concentration, this animal was classified as an outlier and excluded from trend analysis.

Table 2.6.5.3.C: PK Comparison of TPX-0005 Oral Suspension and Capsule Formulations in Dogs

					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)		
					Study No. / Location in CTD: 00396 / 4.2.2.2-5		
Species:	Dog, Non-naïve Beagle						
Sex (M/F)/Number of animals:	M/6 (3 per group)						
Feeding condition:	Fed						
Method of Administration:	Oral capsule / Suspension (oral syringe)						
Vehicle/Formulation:	Hard gelatine capsule (40 mg TPX-0005): inactive ingredients are microcrystalline cellulose, sodium lauryl sulfate, croscarmellose, colloidal silicon dioxide Suspension (32 mg/mL TPX-0005): inactive ingredients are trisodium citrate dihydrate, citric acid monohydrate, sodium benzoate, sucrose, glycerin, sodium lauryl sulfate, xanthan gum, cherry flavor, water						
Dose:	40 mg (one capsule or 1.25 mL of the suspension)						
Sample:	Plasma (K_2EDTA anticoagulant)						
Analyte/Assay:	TPX-0005/LC-MS/MS						
Test Article	**Dose Event**	**Animal No.**	**C_{max} (ng/mL)**	**AUC_{0-t} (ng·h/mL)**	**AUC_{0-inf} (ng·h/mL)**	**T_{max} (h)**	**$t_{1/2}$ (h)**
Capsule	1 (Day 1)	3771718	819	14900	16400	2.0	15.8
		3772714	944	12000	12700	2.0	11.5
		3802559	1020	14000	14900	2.0	12.4
	2 (Day 8)	3602410	816	11000	11700	4.0	12.4
		3622500	667	9600	10700	4.0	14.7
		3633196	651	9150	9730	2.0	12.5
	Mean ± SD:		**820 ± 147**	**11800 ± 2330**	**12700 ± 2540**	**2.67 ± 1.03**	**13.2 ± 1.66**
Suspension	1 (Day 1)	3602410	891	15700	16700	2.0	11.6
		3622500	502	11400	12000	4.0	11.1
		3633196	545	8090	8510	2.0	11.5
	2 (Day 8)	3771718	1680	19600	20800	2.0	12.0
		3772714	793	10600	11600	4.0	15.2
		3802559	702	11200	12100	4.0	13.6
	Mean ± SD:		**852 ± 431**	**12800 ± 4140**	**13600 ± 4380**	**3.00 ± 1.10**	**12.5 ± 1.58**

Abbreviations: AUC_{0-inf} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity; AUC_{0-t} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; C_{max} = maximum plasma concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; SD = standard deviation; T_{max} = time to C_{max}; $t_{1/2}$ = elimination half-life.
Note: C_{max} and AUC values were similar after capsule or suspension administration of TPX-0005 to non-naïve male dogs at comparable doses.

Table 2.6.5.3.D: PK Comparison of TPX-0005 Oral Suspension and Capsule Formulations in Cynomolgus Monkeys

							Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)			
							Study No. / Location in CTD:	00234 / 4.2.2.2-6			
Species:		Monkey, Non-naïve Cynomolgus									
Sex (M/F)/Number of animals:		M/4									
Feeding condition:		Fasted									
Method of Administration:		Oral									
Vehicle/Formulation:		Suspension (20 mg/mL TPX-0005): 0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water Capsules (10 mg TPX-0005 per capsule): inactive ingredients are microcrystalline cellulose, sodium lauryl sulfate, croscarmellose, silicon dioxide									
Dose:		30 mg (three capsules or 1.5 mL liquid suspension formulation)									
Sample:		Plasma (sodium heparin anticoagulant)									
Analyte/Assay:		TPX-0005/LC-MS/MS									
Animal No.	**Animal Weight (kg)**	**C_{max} (ng/mL)**			**AUC_{0-t}(ng·h/mL)**			**T_{max} (h)**		**$t_{1/2}$ (h)**	
		C	**S**	**C/S Ratio**	**C**	**S**	**C/S Ratio**	**C**	**S**	**C**	**S**
AD170H	8.3	32	27.1	1.18	770	521	1.48	8.0	4.0	31	48
FD8D	5.2	42.9	26.6	1.61	544	386	1.41	8.0	12	17	39
42228	5.7	50	28.1	1.78	910	509	1.79	4.0	0.5	21	35
G015[a]	5.6	20.4	20.1	1.01	447	425	1.05	5.0	2.0	25	15
Mean:		NC	NC	1.40	NC	NC	1.43	6.3	4.6	23	34

Abbreviations: AUC_{0-t} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; C_{max} = maximum plasma concentration; C = capsule; S = suspension; CMC = carboxymethylcellulose; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NC = not calculated due to the reduced dose level in animal #G015, mean values were calculated for parameters that may be independent of dose level; $t_{1/2}$ = elimination half-life; T_{max} = time to C_{max}.

Notes: C_{max} and AUC values were approximately 40% higher after capsule administration compared with suspension administration of TPX-0005 to non-naïve male monkeys at comparable doses.

[a] Animal G015 regurgitated one capsule during dosing; therefore, the suspension dose for this animal was reduced to 20 mg.

4 薬物動態試験：吸収：反復投与

Table 2.6.5.4.A: 7-Day Repeat Oral Dose Toxicokinetics in Rats

					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)	
					Study No. / Location in CTD: 00201 / 4.2.3.1-1	
Species:	Rat, Sprague Dawley, CD [Crl:CD (SD)]					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water					
Method of Administration:	Oral (gavage)					
Sample:	Plasma (K_2EDTA anticoagulant)					
Analyte/Assay:	TPX-0005/ LC-MS/MS					
Dose (mg/kg):	**100**		**300**		**1000**	
Sex (M/F)/Number of animals:	**M/6**	**F/6**	**M/6**	**F/6**	**M/6**	**F/6**
TK Parameters:						
Day 1						
T_{max} (h)	2.0	4.0	2.0	4.0	2.0	4.0
C_{max} (ng/mL)	1990	3790	2290	4600	2530	4340
AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	17200	41200	25400	62000	40500	80700
AUC_{0-inf} (ng·h/mL)	ND	ND	28800	ND	ND	ND
Day 7						
T_{max} (h)	8.0	4.0	2.0	4.0	4.0	4.0
C_{max} (ng/mL)	1590	2950	1630	2150	1640	1880
AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	19100	33100	18400	29900	24800	27500
AUC_{0-inf} (ng·h/mL)	19900	33300	ND	31200	28100	ND

Abbreviations: AUC_{0-24h} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{0-inf} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity; C_{max} = maximum plasma concentration; CMC = carboxymethylcellulose; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; ND = not determined ($R^2 < 0.85$ or insufficient data in the terminal phase); T_{max} = time to C_{max}.

Notes: Systemic exposures (AUC_{0-24h}) to TPX-0005 increased in a less than dose-proportional manner on Days 1 and 7. For Day 7, exposures over the dose range were slightly decreased from Day 1. Over the dose range of 100 to 1000 mg/kg/day, there appears to be no potential for TPX-0005 accumulation in the plasma with repeat dosing for 7 consecutive days. There were sex-related differences in plasma exposure to TPX-0005, such that C_{max} and AUC_{0-24h} were higher in females than in males at comparable doses. Plasma exposure of the hydroxylated metabolite (M3) was measured and found to be less than 10% compared to TPX-0005 based on mass ion response ratio.

Table 2.6.5.4.B: 28-Day Repeat Oral Dose Toxicokinetics in Rats

				Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)	
				Study No. / Location in CTD:	00219 / 4.2.3.2-2	
Species:	Rat, Sprague Dawley, CD [Crl:CD (SD)]					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water					
Method of Administration:	Oral (gavage)					
Sample:	Plasma (K_2EDTA anticoagulant)					
Analyte/Assay:	TPX-0005/ LC-MS/MS					
Sex (M/F)/Number of animals:	**Male/6**			**Female/6**		
Dose (mg/kg):	**30**	**100/50[a,c]**	**300[b]**	**6**	**20**	**60[b]**
TK Parameters:						
Day 1						
T_{max} (h)	4.2	2.0	2.0	1.0	2.0	2.0
C_{max} (ng/mL)	986	1710	1890	333	1070	1990
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	7040	20600	22300	2140	7280	15600
Day 22[c]						
T_{max} (h)	NA	8	NA	NA	NA	NA
C_{max} (ng/mL)	NA	1910	NA	NA	NA	NA
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	NA	17900	NA	NA	NA	NA
Day 28						
T_{max} (h)	4.0	4.0	NA	1.0	4.0	NA
C_{max} (ng/mL)	1490	1560	NA	775	1800	NA
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	15100	17100	NA	4940	15500	NA

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; CMC = carboxymethylcellulose; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not applicable; T_{max} = time to C_{max}.

Notes: Data are mean values for 3 animals/sex/time point. Male and female rats were administered different dose levels based on previous findings of increased systemic exposures in females compared with males after oral dosing of TPX-0005 at comparable dose levels (Study No. 00201). Following daily oral administration of TPX-0005 to male rats, $AUC_{0\text{-}24h}$ and C_{max} values for TPX-0005 increased in a less than dose-proportional manner from 30 to 300 mg/kg on Day 1 and from 30 to 50 mg/kg on Day 28. Following daily oral administration of TPX-0005 to female rats, $AUC_{0\text{-}24h}$ and C_{max} values for TPX-0005 increased from 6 to 20 mg/kg in an approximately dose-proportional manner on Days 1 and 28, with a less than dose- proportional increase from 20 to 60 mg/kg on Day 1. Systemic exposure to TPX-0005 increased following repeat administration of TPX-0005 to male rats at 30 mg/kg and female rats at 6 and 20 mg/kg (accumulation $AUC_{0\text{-}24h}$ ratios of 2.14, 2.30 and 2.13, respectively). The study report contains a Good Laboratory Practices (GLP)-compliance statement.

[a] due to deaths at a repeat dose of 100 mg/kg/day in the main study, animals in the 100 mg/kg/day group of the toxicokinetic study were placed on a 2-day dosing holiday beginning on Day 20 and dosing was resumed at a reduced dose of 50 mg/kg/day starting on Day 22.

[b] Animals were euthanized on Day 20 due to mortality/morbidity.

[c] Day 22 was the first daily dose in male animals following the dose reduction from 100 to 50 mg/kg/day.

Table 2.6.5.4.C: 91-Day Repeat Oral Dose Toxicokinetics in Rats

				Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)		
				Study No. / Location in CTD: 00272 / 4.2.3.2-3		
Species:	Rat, Sprague Dawley, CD [Crl:CD(SD)]					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water					
Method of Administration:	Oral (gavage)					
Sample:	Plasma (K_2EDTA anticoagulant)					
Analyte/Assay:	TPX-0005/LC-MS/MS					
Sex (M/F)/Number of animals:	**Male/6**			**Female/6**		
Dose (mg/kg):	**5**	**15**	**50/40[a]**	**5**	**15**	**40/30[b]**
TK Parameters:						
Day 1						
T_{max} (h)	4.0	2.0	4.0	1.0	4.0	4.0
C_{max} (ng/mL)	81.1	281	934	120	962	1980
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	637	2170	7980	1050	7140	15600
Day 91						
T_{max} (h)	2.0	4.0	4.0	2.0	2.0	2.0
C_{max} (ng/mL)	352	954	1630	660	2410	2040
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	2710	7190	17300	4300	20500	22000

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; CMC = carboxymethylcellulose; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; T_{max} = time to C_{max}.
Note: The study report contains a Good Laboratory Practices (GLP)-compliance statement.

[a] Beginning on Day 21, males at 50 mg/kg were given a dose holiday. Dosing resumed on Day 25 at 40 mg/kg.
[b] Beginning on Day 18, females at 40 mg/kg were given a dose holiday. Dosing resumed on Day 25 at 30 mg/kg.

Table 2.6.5.4.D: 5-Day Repeat Oral Dose Pharmacokinetics in Male Cynomolgus Monkeys

	Test Article: Repotrectinib (TPX-0005) **Study No. / Location in CTD:** 00212 / 4.2.2.2-7
Species:	Monkey, Non-naïve Cynomolgus
Feeding condition:	Fasted Day 1/ Fed Day 5
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC in water
Method of Administration:	Oral (gavage)
Sample:	Plasma (heparin anticoagulant)
Analyte/Assay:	TPX-0005/LC-MS/MS
Sex (M/F)/Number of animals:	Male/3
Dose (mg/kg):	20
PK Parameters:	
Day 1	
T_{max} (h)	7.3 ± 5.0
C_{max} (ng/mL)	44.6 ± 11.0
$t_{1/2}$ (h)	30 (n=1)
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	829 ± 215
AUC_{0-inf} (ng·h/mL)	2030 (n=2)
Day 5	
T_{max} (h)	2.9 ± 1.2
C_{max} (ng/mL)	99.5 ± 31.5
$t_{1/2}$ (h)	21 ± 10
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	1890 ± 540
AUC_{0-inf} (ng·h/mL)	2530 ± 1250

Abbreviations: AUC_{0-inf} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity; AUC_{0-t} = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; C_{max} = maximum plasma concentration; CMC = carboxymethylcellulose; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; $t_{1/2}$ = elimination half-life; T_{max} = time to C_{max}.
Notes: Data are mean ± standard deviation. Mean C_{max} and AUC_{0-last} values were approximately 2-fold higher after repeat dosing for 5 consecutive days compared with Day 1 values.

Table 2.6.5.4.E: 7-Day Repeat Oral Dose Toxicokinetics in Cynomolgus Monkeys

		Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
		Study No. / Location in CTD:	00211 / 4.2.3.1-2
Species:	Monkey, Cynomolgus		
Sex (M/F)/Number of animals:	M/2, F/2 per dose group		
Feeding condition:	Fed		
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water		
Method of Administration:	Oral (gavage)		
Sample:	Plasma (K_2EDTA anticoagulant)		
Analyte/Assay:	TPX-0005/LC-MS/MS		
Dose (mg/kg):	**100**	**300**	**1000**
TK Parameters:			
Day 1			
T_{max} (h)	2.0[a]	4.0	8.0[b]
C_{max} (ng/mL)	99.1 ± 41.5[a]	376 ± 214	661 ± 67.2[b]
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	1600 ± 8.10[a]	4620 ± 2100	10400 ± 343[b]
Day 7			
T_{max} (h)[c]	4.0	4.0	NA
C_{max} (ng/mL)	490 ± 178	498 ± 60.3	507 ± 103
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	5190 ± 2750	6700 ± 1660	7000 ± 1270

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; CMC = carboxymethylcellulose; C_{max} = maximum plasma concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not applicable; T_{max} = time to C_{max}.

Notes: Data are mean values ± standard deviation (median values for T_{max}). Systemic exposure to TPX-0005 appeared to be independent of sex; therefore, data from males and females were combined for TK analysis. Following daily oral administration of TPX-0005, mean $AUC_{0\text{-}24h}$ and mean C_{max} values for TPX-0005 increased with increasing dose in a less than dose proportional manner on Day 1. Mean $AUC_{0\text{-}24h}$ values for TPX-0005 increased slightly from 100 to 300 mg/kg in a less than dose proportional manner with no increase from 300 to 1000 mg/kg on Day 7. Mean C_{max} values did not increase with dose on Day 7. Systemic exposure to TPX-0005 appeared to increase following repeat administration of TPX-0005 at 100 mg/kg and generally did not appear to change following repeat administration of TPX-0005 at 300 and 1000 mg/kg.

[a] Excluding animal number 108 on Day 1

[b] Excluding animal number 117 on Day 1

[c] Median (minimum – maximum), median value only reported if actual collection interval.

Table 2.6.5.4.F: 28-Day Repeat Oral Dose Toxicokinetics in Cynomolgus Monkeys

				Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)		
				Study No. / Location in CTD: 00229 / 4.2.3.2-5		
Species:	Monkey, Cynomolgus					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water					
Method of Administration:	Oral (gavage)					
Sample:	Plasma (K_2EDTA anticoagulant)					
Analyte/Assay:	TPX-0005/LC-MS/MS					
Dose (mg/kg):	**10**		**30**		**100**	
Sex (M/F)/Number of animals:	**M/4**	**F/4**	**M/4**	**F/4**	**M/6**	**F/6**
TK Parameters:						
Day 1						
T_{max} (h)[a]	4.0	NA	4.0	NA	NA	4.0
C_{max} (ng/mL)	194 ± 226	63.5 ± 28.6	287 ± 303	145 ± 77.3	356 ± 180	396 ± 247
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	1930 ± 1870	962 ± 369	2420 ± 1920	1670 ± 666	4750 ± 2280	3660 ± 1810
Day 28						
T_{max} (h)[a]	2	2	NA	4	2	NA
C_{max} (ng/mL)	212 ± 109	137 ± 52.5	257 ± 115	243 ± 122	259 ± 112	248 ± 95.9
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	2070 ± 956	1560 ± 574	2690 ± 1210	2150 ± 1000	3820 ± 1740	2850 ± 1280

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; CMC = carboxymethylcellulose; C_{max} = maximum plasma concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not applicable; T_{max} = time to C_{max}.
Notes: Data are mean values ± standard deviation (median values for T_{max}). Systemic exposure to TPX-0005 appeared to be independent of sex. Following daily oral administration of TPX-0005, mean $AUC_{0\text{-}24h}$ and mean C_{max} values for TPX-0005 increased with increasing dose in a less than dose proportional manner on Days 1 and 28. Systemic exposure to TPX-0005 generally appeared to increase slightly (< 2-fold) following repeat administration of TPX-0005 at 10 and 30 mg/kg and generally did not appear to change following repeat administration of TPX-0005 at 100 mg/kg.

[a] Median (minimum – maximum), median value only reported if actual collection interval.

Table 2.6.5.4.G: 91-Day Repeat Oral Dose Toxicokinetics in Cynomolgus Monkeys

		Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
		Study No. / Location in CTD:	00357 / 4.2.3.2-6
Species:	Monkey, Cynomolgus		
Feeding condition:	Fed		
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water		
Method of Administration:	Oral (gavage)		
Sample:	Plasma (K_2EDTA anticoagulant)		
Analyte/Assay:	TPX-0005/LC-MS/MS		
Dose (mg/kg):	**5**	**15**	**50**
Sex (M/F)/Number of animals:	**M/4 + F/4**	**M/4 + F/4[a]**	**M/6[b] + F/6[b]**
TK Parameters:			
Day 1			
T_{max}[c] (h)	NA	4.0	4.0
C_{max} (ng/mL)	50.6 ± 19.4	116 ± 62.3	233 ± 142
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	627 ± 205	1300 ± 435	2320 ± 1240
Day 91			
T_{max} (h)	2.0	2.0	2.0
C_{max} (ng/mL)	97.3 ± 39.6	182 ± 57.6	280 ± 87.0
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	946 ± 270	1800 ± 504	3150 ± 1230

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; CMC = carboxymethylcellulose; C_{max} = maximum plasma concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not applicable; T_{max} = time to C_{max}.
Notes: Data are mean values ± standard deviation (median values for T_{max}). Systemic exposure to TPX-0005 appeared to be independent of sex; therefore, data from males and females were combined for TK analysis. Mean C_{max} and $AUC_{0\text{-}24h}$ values increased with increasing dose in a less than dose-proportional manner on Day 1 and Day 91. Systemic exposure generally appeared to increase following repeat administration of TPX-0005 (< 2-fold).

[a] Due to clinical signs of toxicity, one female at 15 mg/kg was euthanized in extremis on Day 72 (number of animals for Day 91 is 7).
[b] Two animals/sex/group for the control group and Group at 50 mg/kg were placed on study for the 28-day recovery period.
[c] Median (minimum – maximum), median value only reported if actual collection interval.

5 薬物動態試験：分布

Table 2.6.5.5.A: Brain Penetration in Mice

				Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)	
				Location in CTD:	4.2.2.3-1	
				Study No.:	00226	
Species:	Mouse, CD-1 IGS					
Sex (M/F)/Number of animals:	F/6 (3 per group)					
Feeding condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC, 1% Tween-80 in water					
Method of Administration:	Oral (gavage)					
Dose (mg/kg):	75					
Analyte/Assay:	TPX-0005/LC-MS/MS					
Sampling time:	2 hours					
Dosing Scheme:	**Mouse ID**	**TPX-0005 Concentration**		**Brain/Plasma Ratio**		
		Plasma (ng/mL)	**Brain (ng/g)**	**Ratio**	**Mean**	**SD**
Single Dose	585	6930	400	0.0577	0.0516	0.0060
	586	9010	464	0.0515		
	587	9010	412	0.0457		
Repeat Dose, QD for 7 days	592	4050	162	0.0400	0.0381	0.0093
	593	5510	155	0.0281		
	594	3540	164	0.0463		

Abbreviations: CMC = carboxymethylcellulose; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; QD = once daily; SD = standard deviation.
Notes: Brain tissue-to-plasma ratio for TPX-0005 was approximately 5.2% and 3.8% after single and repeat dosing, respectively.

Table 2.6.5.5.B: Brain Penetration and Plasma Pharmacokinetic Profiles of TPX-0005 in Juvenile Female Rats

	Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
	Study No. / Location in CTD: 00390 / 4.2.2.3-2
Species:	Rat, Sprague Dawley, CD [Crl:CD (SD)]
Sex (M/F)/Number of animals:	F/36 (18 per group); PND 21 or 45
Feeding condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	20
Analyte/Assay:	TPX-0005/LC-MS/MS
Sampling time:	0.5, 1, 2, 4, 8 and 24 hours post-dose

Group	Administration day	Matrix	PK Parameters								
			C_{max} (ng/mL or ng/g)	**T_{max} (h)**	**T_{last} (h)**	**AUC_{0-t} (ng·h/mL or ng·h/g)**	**AUC_{0-24h} (ng·h/mL or ng·h/g)**	**$t_{1/2}$ (h)**	**Brain: Plasma C_{max} ratio[d]**	**Brain: Plasma AUC_{0-t} ratio[e]**	**Group ratio[f]**
1	PND 21	Plasma	607	2.0	24	5060	5060	3.99	NA	NA	0.655
		Brain	19.9	4.0	4.0	43.9	NA[a]	NA[c]	0.0328	0.00860	NA
2	PND 45	Plasma	1030	4.0	24	7720	7720	NA[c]	NA	NA	NA
		Brain	3.57	2.0	4.0	NA[b]	NA[b]	NA[c]	0.00347	NA	NA

Abbreviations: AUC_{0-24h} = area under the concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{0-t} = area under the concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; C_{max} = maximum concentration; CMC = carboxymethylcellulose; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NA = not applicable; PND = postnatal day; $t_{1/2}$ = elimination half-life; T_{last} = time to the last measurable time point; T_{max} = time to C_{max}.

[a] Not reported due to %AUC extrapolation was > 25%
[b] Not reported due to less than three consecutive quantifiable samples
[c] Secondary parameters ($t_{1/2}$) not reported due to insufficient data (adjusted R^2 was < 0.9)
[d] Brain:Plasma C_{max} ratio = C_{max} Brain ÷ C_{max} Plasma
[e] Brain:Plasma AUC_{0-t} ratio = AUC_{0-t} Brain ÷ AUC_{0-t} Plasma
[f] Group ratio = AUC_{0-24h} Group 1 ÷ AUC_{0-24h} Group 2

Table 2.6.5.5.C: Organ Distribution (Quantitative Whole-Body Autoradiography) in Long Evans Rats

	Test Article: Repotrectinib (TPX-0005) **Study No. / Location in CTD:** 00273 / 4.2.2.2-8
Species:	Rat, Long Evans
Sex (M/F)/Number of Animals:	M/8; F/8 (1 animal/sex/time point)
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose:	30 mg/kg (100 µCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]-TPX-0005
Specific Activity:	3.32 µCi/mg
Analyte/Assay:	^{14}C/QWBA
Sampling Time:	1, 4, 8, 24, 72 and 168 hours post dose

Tissues/Organs	**Pharmacokinetic Parameters**									
	AUC_{0-t} (ng-eq·h/g)		**AUC_{0-inf} (ng-eq·h/g)**		**C_{max} (ng-eq/g)**		**T_{max} (h)**		**$t_{1/2}$ (h)**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Adrenal gland(s)	39300	156000	58300	159000	9270	14100	1.0	4.0	4.4	4.3
Arterial wall	25300	52200	32300	66600	5920	9660	1.0	4.0	3.4	2.8
Bile	NC	NC	NC	NC	60700	39200	1.0	8.0	NC	NC
Blood (LSC)	20600	35600	21700	36200	2350	4030	1.0	4.0	23	14
Blood (QWBA)	8000	18100	NC	NC	1680	3460	1.0	4.0	NC	NC
Bone	NC	1510	NC	8130	NC	464	NC	1.0	NC	12
Bone marrow	10200	27600	12900	33100	2280	5440	1.0	4.0	3.4	2.3
Brain cerebellum	NC	564	NC	NC	NC	376	NC	4.0	NC	NC
Brain cerebrum	NC	515	NC	NC	NC	343	NC	4.0	NC	NC
Brain medulla	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Brain olfactory lobe	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Bulbo-urethral gland	33200	NA	88200	NA	3590	NA	1.0	NA	43	NA
Cecum	67800	155000	139000	323000	3660	8720	4.0	4.0	24	24
Diaphragm	58400	108000	67800	116000	6760	9980	1.0	4.0	8.6	6.1
Epididymis	11800	NA	12900	NA	2340	NA	4.0	NA	1.7	NA

Table 2.6.5.5.C: Organ Distribution (Quantitative Whole-Body Autoradiography) in Long Evans Rats（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00273 / 4.2.2.2-8

Tissues/Organs	Pharmacokinetic Parameters									
	AUC_{0-t} (ng-eq·h/g)		AUC_{0-inf} (ng-eq·h/g)		C_{max} (ng-eq/g)		T_{max} (h)		$t_{1/2}$ (h)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Esophagus	156000	65200	159000	71400	12300	6160	8.0	4.0	3.8	6.6
Exorbital lacrimal gland	15100	44700	18100	53000	3390	8800	1.0	4.0	3.0	2.3
Eye lens	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Eye uveal tract	91000	145000	122000	177000	3630	17500	4.0	4.0	38	10
Eye(s)	5520	28300	10500	33900	847	2960	4.0	4.0	6.3	8.3
Fat (abdominal)	215	2820	NC	NC	430	1290	1.0	4.0	NC	NC
Fat (brown)	10600	36200	14300	42500	2270	7120	1.0	4.0	3.9	2.2
Harderian gland	19200	88500	26000	91000	4060	12500	1.0	4.0	4.0	4.4
Intervertebral ligament(s)	36000	152000	42900	160000	7080	14100	4.0	4.0	2.3	5.3
Intra-orbital lacrimal gland	16700	68600	24700	70800	3590	8460	1.0	4.0	4.5	4.6
Kidney cortex	229000	141000	260000	145000	31700	15800	1.0	4.0	38	4.6
Kidney medulla	75100	115000	78600	117000	17800	14300	1.0	4.0	6.1	4.2
Kidney(s)	203000	137000	228000	141000	26300	15600	1.0	4.0	35	4.5
Large intestine	57100	55200	NC	60600	2810	6110	24	4.0	NC	6.5
Liver	461000	344000	489000	401000	28600	27400	1.0	4.0	50	43
Lung(s)	13700	30600	23200	36500	2670	5940	1.0	4.0	5.7	2.3
Lymph node(s)	11200	28400	15000	35600	2370	5330	1.0	4.0	3.9	2.7
Muscle	70800	153000	109000	163000	5500	8940	1.0	4.0	16	18
Myocardium	35700	78200	39000	81600	4300	9820	1.0	4.0	6.9	4.9
Nasal turbinates	6950	21000	12500	45100	1200	1840	1.0	4.0	6.6	30
Ovary(ies)	NA	20800	NA	26300	NA	4100	NA	4.0	NA	2.7
Pancreas	18500	49500	24600	58000	4010	9750	1.0	4.0	3.8	2.2
Pituitary gland	20000	70900	25000	73300	4340	9280	1.0	4.0	3.4	4.6
Plasma (LSC)	17200	38800	20000	39600	2540	4210	1.0	4.0	8.8	14
Preputial gland	147000	696000	158000	801000	6850	39600	4.0	4.0	19	65
Prostate gland	15200	NA	23000	NA	2340	NA	4.0	NA	4.4	NA

Table 2.6.5.5.C: Organ Distribution (Quantitative Whole-Body Autoradiography) in Long Evans Rats（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00273 / 4.2.2.2-8

Tissues/Organs	Pharmacokinetic Parameters									
	AUC_{0-t} (ng-eq·h/g)		AUC_{0-inf} (ng-eq·h/g)		C_{max} (ng-eq/g)		T_{max} (h)		$t_{1/2}$ (h)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Salivary gland(s)	20100	50300	25600	59300	4520	9540	1.0	4.0	3.5	2.2
Seminal vesicle(s)	10800	NA	31800	NA	1680	NA	4.0	NA	11	NA
Skin (nonpigmented)	30600	79200	82000	86300	2100	5240	1.0	4.0	35	6.1
Skin (pigmented)	87800	451000	260000	554000	4310	13800	4.0	8.0	39	28
Small intestine	75400	88600	77700	95400	4940	9790	8.0	4.0	4.3	5.9
Spinal cord	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Spleen	13600	38800	18100	46500	2850	7470	1.0	4.0	3.8	2.3
Stomach	24800	72900	50900	75800	4780	7890	1.0	4.0	7.4	5.3
Testis(es)	1510	NA	NC	NA	551	NA	4.0	NA	NC	NA
Thymus	11100	29300	15100	35400	2260	5720	1.0	4.0	4.1	2.4
Thyroid	18600	38000	23900	61400	4410	5970	1.0	4.0	3.5	4.8
Urinary bladder	16900	38800	31500	43400	2880	2380	1.0	1.0	7.0	8.2
Urine	NC	NC	NC	NC	96200	20700	8.0	8.0	NC	NC
Uterus	NA	40800	NA	43900	NA	3360	NA	4.0	NA	6.2

Abbreviations: AUC_{0-inf} = area under the concentration vs. time curve from time 0 extrapolated to infinity; AUC_{0-t} = area under the concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point; CMC = carboxymethylcellulose; C_{max} = maximum concentration; NA = not applicable; NC = not calculated; QWBA = quantitative whole-body autoradiography; $t_{1/2}$ = elimination half-life; T_{max} = time to C_{max}.

6 藥物動態試驗：蛋白結合

Table 2.6.5.6.A: Plasma Protein Binding of TPX-0005

				Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
				Location in CTD:	4.2.2.3-3
				Study No.:	00101
Target entity, Test system and method:	Protein binding in plasma of various species using an equilibrium dialysis method, analyzed by LC-MS/MS detection; 6 hours incubation at 37ºC				
Study System:	Human, mouse, rat, dog, and monkey plasma (pooled)				
Species	**Conc. Tested (µM)**	**% Unbound**	**% Bound**	**% Recovery**	**% Stability**
Human	2	4.59	95.41	90.4	103
Mouse, ICR	2	4.23	95.77	93.1	97.4
Rat, Sprague Dawley	2	5.08	94.92	100	102
Dog, Beagle	2	7.93	92.07	96.6	99.1
Monkey, Cynomolgus	2	7.35	92.65	97.6	108

Abbreviations: LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry.
Notes: Protein binding of TPX-0005 was high in pooled plasma from all species tested (range from 92.07% to 95.77% bound). Plasma protein binding of high and low binding control compounds (warfarin and ranitidine, respectively) was consistent with historical data.

Table 2.6.5.6.B: Protein Binding of TPX-0005 to Human Serum Albumin and Human Alpha-1-acid Glycoprotein

			Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
			Location in CTD:	4.2.2.3-4
			Study No.:	00455
Target entity, Test system and method:	Protein binding of TPX-0005 to human serum albumin and human alpha-1-acid glycoprotein at 0.3 or 2 µM, analyzed by LC-MS/MS detection; 4 hours incubation at 37ºC in triplicate			
Study System:	Human serum albumin (40 mg/mL) and human alpha-1-acid glycoprotein (0.5 mg/mL)			
Protein	**Compound**	**Theoretical Conc. (µM)**	**% Bound Average**	**% Recovery**
Human Serum Albumin (40 mg/mL)	Propranolol	2	54.1	116
	TPX-0005	0.3	96.0	97
		2	95.2	95
Human Alpha-1-acid Glycoprotein (0.5 mg/mL)	Propranolol	2	21.1	118
	TPX-0005	0.3	10.5	98
		2	7.6	105

Abbreviations: LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry.
Notes: There is no significant concentration dependence on the binding of TPX-0005 to human serum albumin and human alpha-1-acid glycoprotein at concentration of 0.3 and 2 µM. The results suggest that TPX-0005 has a strong binding affinity to human serum albumin and a low binding affinity to human alpha-1-acid glycoprotein. The reference compound propranolol behaved as expected.

7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

妊娠動物及び授乳動物を用いた試験は実施していない。

8 薬物動態試験：その他の分布試験

Table 2.6.5.8.A: Distribution into Human Red Blood Cell

				Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
				Location in CTD:	4.2.2.3-5
				Study No.:	00485
Target entity, Test system and method:		Definitive assessments of the blood-to-plasma ratio of TPX-0005; 15 min incubation at 37ºC; LC-MS/MS detection			
Study System:		Fresh and pooled (three) human (Mongoloid) blood samples			
Test article	**Species**	**Concentration (µM)**	**Hematocrit value (%)**	**Red blood cell partitioning (%) Mean ± SD**	**Blood-to-plasma ratio Mean ± SD**
TPX-0005	Human	0.1	46	8.4 ± 14.1	0.60 ± 0.09
		1	46	2.8 ± 7.6	0.56 ± 0.04
		10	46	-8.9 ± 6.5	0.50 ± 0.03
Chloroquine	Human	0.1	46	72.7 ± 0.7	1.97 ± 0.05

Abbreviations: LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; SD = standard deviation.
Notes: The mean percent distribution of TPX-0005 to human blood cells at the final concentrations of 0.1, 1 and 10 µM was 8.4%, 2.8% and 0% (-8.9%) for human. The in vitro mean blood-to-plasma ratio of TPX-0005 at the final concentrations of 0.1, 1 and 10 µM was 0.60, 0.56 and 0.50, respectively. From these results, preferential accumulation of TPX-0005 inside human blood cells was determined to be minimal. The results of Chloroquine as positive control were as expected and indicated the validity of the assay.

9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

Table 2.6.5.9.A: In Vivo and In Vitro Metabolite Identification for Selection of Preclinical Toxicological Species

	Test Article: Repotrectinib (TPX-0005) **Study No. / Location in CTD:** 00207 / 4.2.2.4-4
Species/Test System:	Human hepatocyte cultures, rat and monkey plasma samples from early toxicology or pharmacokinetic studies
Experimental conditions:	Human hepatocyte cultures from three individual donors were incubated withTPX-0005 (1 μM) or positive controls (midazolam or tolbutamide, 1 μM) for 0, 2, 6, 8, 24, 48 and 72 hours at 37°C. Plasma samples from rats (Day 1 and Day 7; Study 00201) and monkeys (Day 1 and Day 5; Study 00208 and Study 00212) that received single and repeat oral administration of TPX-0005 were processed and analyzed for metabolites.
Method of administration:	In vitro/Oral (gavage)

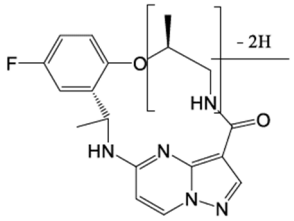
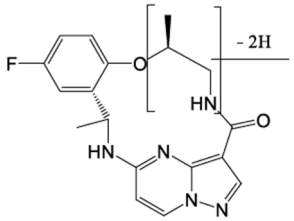
Component Identifier	**Identification**	**Retention Time (min)[a]**	**$[M+H]^+$ (m/z)**	**Proposed Structure**	**In vitro**	**In vivo**	
					Human hepatocyte	**Rat plasma**	**Cynomolgus Monkey plasma**
M354_1	Dehydrogenation product of TPX-0005 or dehydration products of M372_1	22.8	354		Yes	Yes	Yes
M354_2	Dehydrogenation product of TPX-0005 or dehydration products of M372_1	19.8	354		Yes	Yes	Yes

Table 2.6.5.9.A: In Vivo and In Vitro Metabolite Identification for Selection of Preclinical Toxicological Species（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00207 / 4.2.2.4-4

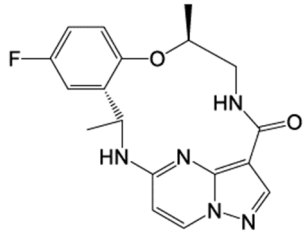
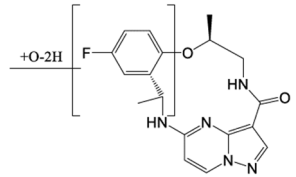
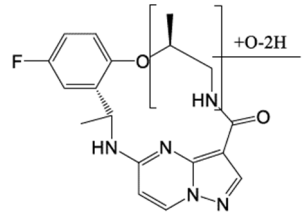
Component Identifier	Identification	Retention Time (min)[a]	$[M+H]^+$ (m/z)	Proposed Structure	In vitro	In vivo	
					Human hepatocyte	Rat plasma	Cynomolgus Monkey plasma
TPX-0005	Parent	23.2	356		Yes	Yes	Yes
M370_1	Oxidation of TPX-0005	20.8[b]	370		No	Yes	Yes
M370_2	Oxidation of TPX-0005	22.3[b]	370		Yes	Yes	Yes

Table 2.6.5.9.A: In Vivo and In Vitro Metabolite Identification for Selection of Preclinical Toxicological Species（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)

Study No. / Location in CTD: 00207 / 4.2.2.4-4

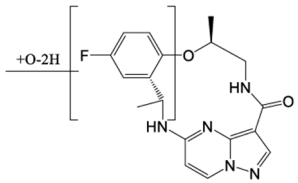
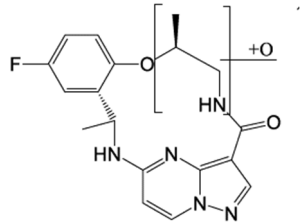
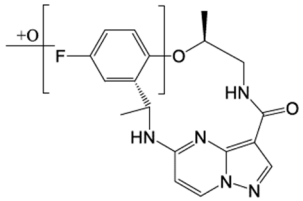
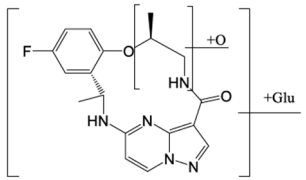
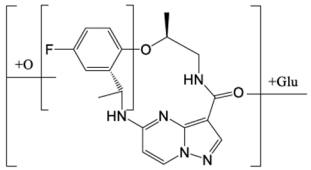
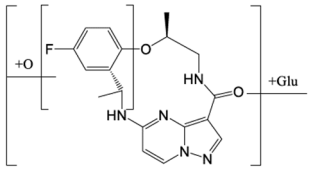
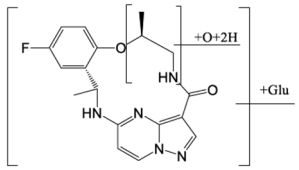
Component Identifier	Identification	Retention Time (min)[a]	$[M+H]^+$ (m/z)	Proposed Structure	In vitro	In vivo	
					Human hepatocyte	Rat plasma	Cynomolgus Monkey plasma
M370_3	Oxidation of TPX-0005	24.4[b]	370		Yes	Yes	Yes
M372_1 (M3)	Oxidation of TPX-0005	18.6	372		Yes	Yes	Yes
M372_2 (M5)	Oxidation of TPX-0005	25.1	372		Yes	Yes	Yes
M548_1 (M1)	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	14.2	548		Yes	Yes	Yes

Table 2.6.5.9.A: In Vivo and In Vitro Metabolite Identification for Selection of Preclinical Toxicological Species（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)

Study No. / Location in CTD: 00207 / 4.2.2.4-4

Component Identifier	Identification	Retention Time (min)[a]	$[M+H]^+$ (m/z)	Proposed Structure	In vitro	In vivo	
					Human hepatocyte	Rat plasma	Cynomolgus Monkey plasma
M548_2	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	14.9[b]	548		No	Yes	No
M548_3 (M4)	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	15.8[b]	548		No	Yes	Yes
M550 (M2)	Glucuronidation of the amide hydrolysis/oxidative ring opening product of TPX-0005	14.3	550		Yes	No	Yes

[a] Retention time in human hepatocytes
[b] Retention time in rat plasma

Table 2.6.5.9.B: Comparison of Metabolite Profiles Identified in Rat, Cynomolgus Monkey and Human Plasma, Urine, Feces and Bile (Rat only) in the definite ^{14}C-ADME Studies

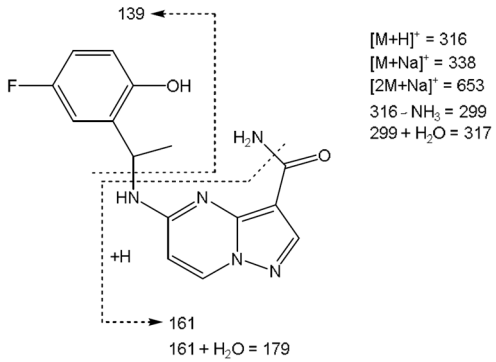
					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)				
Study No. / Location in CTD:		00403 / 4.2.2.4-1		00402 / 4.2.2.4-2			TPX-0005-09 / 5.3.3.1-1		
Species/Test System:		Rat, Sprague Dawley		Monkey, Cynomolgus			Healthy male subjects		
Vehicle/Formulation:		0.5% (w/v) CMC, 1% (v/v) Tween-80 in water		0.5% (w/v) CMC, 1% (v/v) Tween-80 in water			Oral suspension		
Method of administration:		Oral (gavage)		Oral (gavage)			Oral		
Dose:		50 mg/kg (200 µCi/kg)		100 mg/kg (200 µCi/kg)			160 mg (100 µCi)		
Radionuclide:		[^{14}C]-TPX-0005		[^{14}C]-TPX-0005			[^{14}C]-TPX-0005		
Specific Activity:		Intact rats: ~3.91 µCi/mg Bile duct cannulated rats: ~4.09 µCi/mg		~2.04 µCi/mg			~0.69 µCi/mg		
Component Identifier	**Type of Metabolite**	**Retention Time (min)**	**[M+H]$^+$ (m/z)**	**Proposed Structure and Fragmentation Pathway**		**Plasma**	**Urine**	**Feces**	**Bile**
M18	loss of C_3H_4	28.1[a]	316.1204			-	Rat	-	-

Table 2.6.5.9.B: Comparison of Metabolite Profiles Identified in Rat, Cynomolgus Monkey and Human Plasma, Urine, Feces and Bile (Rat only) in the definite ^{14}C-ADME Studies（続き）

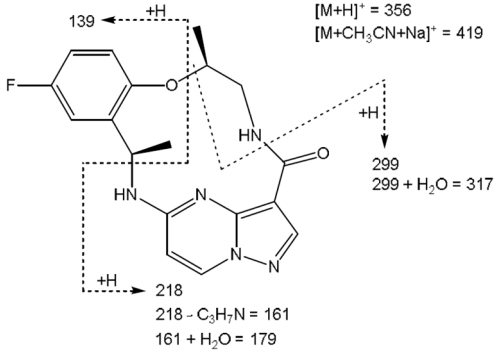
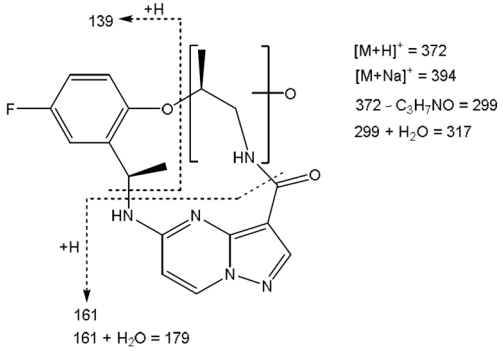
					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)			
Component Identifier	**Type of Metabolite**	**Retention Time (min)**	**$[M+H]^+$ (m/z)**	**Proposed Structure and Fragmentation Pathway**	**Plasma**	**Urine**	**Feces**	**Bile**
TPX-0005	Parent	45.9[b,c]	356.1517		Rat Monkey Human	Human	Rat Monkey Human	Rat
M5	Oxidation of TPX-0005	30.6[b,d]	372.1466		Rat Monkey Human	Rat	Monkey Human	Rat

Table 2.6.5.9.B: Comparison of Metabolite Profiles Identified in Rat, Cynomolgus Monkey and Human Plasma, Urine, Feces and Bile (Rat only) in the definite ^{14}C-ADME Studies（続き）

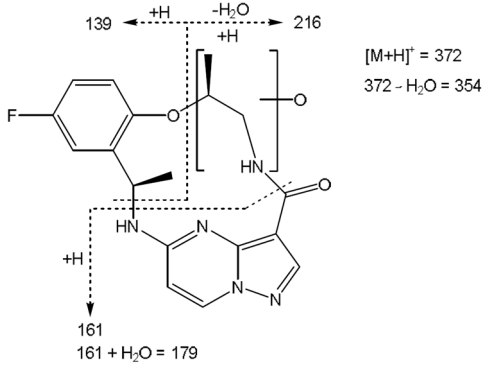
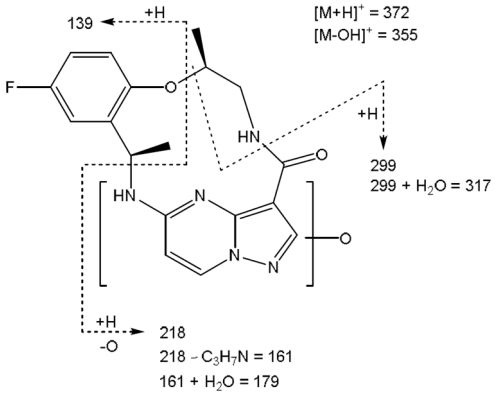
					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)			
Component Identifier	**Type of Metabolite**	**Retention Time (min)**	**$[M+H]^+$ (m/z)**	**Proposed Structure and Fragmentation Pathway**	**Plasma**	**Urine**	**Feces**	**Bile**
M7	Oxidation of TPX-0005	32.7	372.1466		-	Monkey Human	Human	-
M8	Oxidation of TPX-0005	33.97	372.1466		-	Monkey Human	-	-

Table 2.6.5.9.B: Comparison of Metabolite Profiles Identified in Rat, Cynomolgus Monkey and Human Plasma, Urine, Feces and Bile (Rat only) in the definite ^{14}C-ADME Studies（続き）

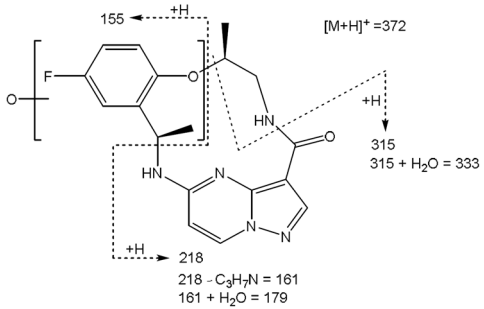
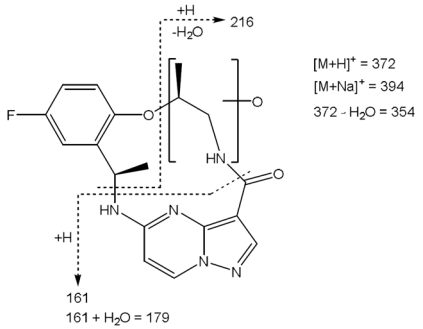
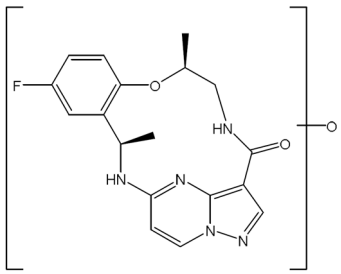
					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)			
Component Identifier	**Type of Metabolite**	**Retention Time (min)**	**$[M+H]^+$ (m/z)**	**Proposed Structure and Fragmentation Pathway**	**Plasma**	**Urine**	**Feces**	**Bile**
M20	Oxidation of TPX-0005	35.5[b]	372.1466		-	Rat	-	Rat
M9	Oxidation of TPX-0005	44.7	372.1466		Rat Human	-	Human	Rat
M10	Oxidation of TPX-0005	46.3	372.1466		Rat	Human	-	-

Table 2.6.5.9.B: Comparison of Metabolite Profiles Identified in Rat, Cynomolgus Monkey and Human Plasma, Urine, Feces and Bile (Rat only) in the definite ^{14}C-ADME Studies（続き）

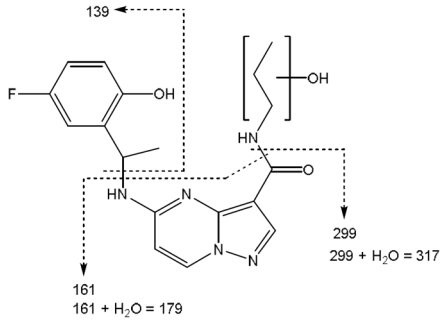
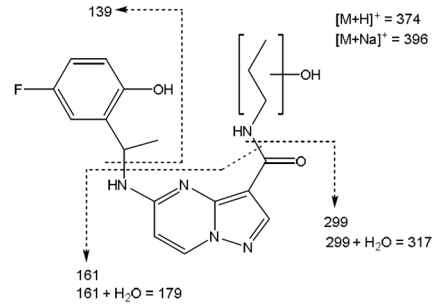
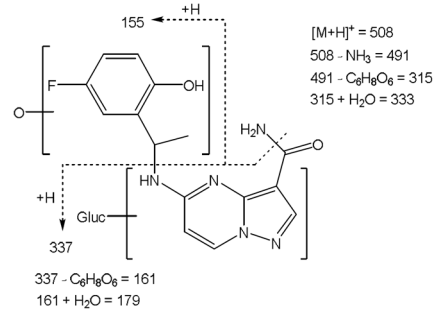
					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)			
Component Identifier	**Type of Metabolite**	**Retention Time (min)**	**$[M+H]^+$ (m/z)**	**Proposed Structure and Fragmentation Pathway**	**Plasma**	**Urine**	**Feces**	**Bile**
M4	Oxidative ring opening of TPX-0005	30.0	374.1623		-	Monkey	Monkey Human	-
M6	Oxidative ring opening of TPX-0005	31.2	374.16234		-	Monkey	Monkey Human	-
M13	Oxidative ring opening and glucuronidation of TPX-0005	18.2	508.1474		-	-	-	Rat

Table 2.6.5.9.B: Comparison of Metabolite Profiles Identified in Rat, Cynomolgus Monkey and Human Plasma, Urine, Feces and Bile (Rat only) in the definite ^{14}C-ADME Studies（続き）

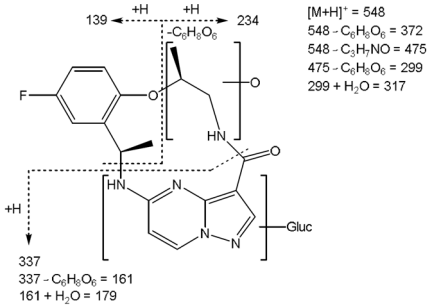
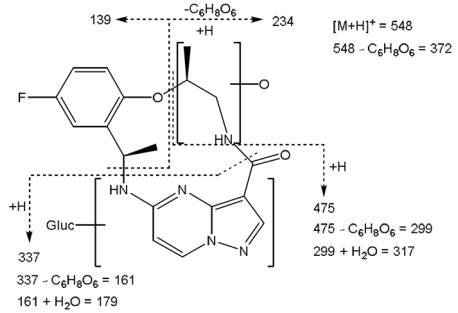
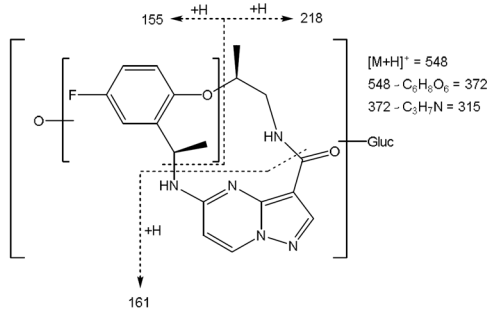
					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)			
Component Identifier	**Type of Metabolite**	**Retention Time (min)**	**$[M+H]^+$ (m/z)**	**Proposed Structure and Fragmentation Pathway**	**Plasma**	**Urine**	**Feces**	**Bile**
M11	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	20.5[c]	548.1787		Monkey	-	-	-
M2	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	21.9 (Rat) 21.8 (Monkey)	548.1787		Human	Monkey Human	-	Rat
M15	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	22.2	548.1787		-	-	-	Rat

Table 2.6.5.9.B: Comparison of Metabolite Profiles Identified in Rat, Cynomolgus Monkey and Human Plasma, Urine, Feces and Bile (Rat only) in the definite ^{14}C-ADME Studies（続き）

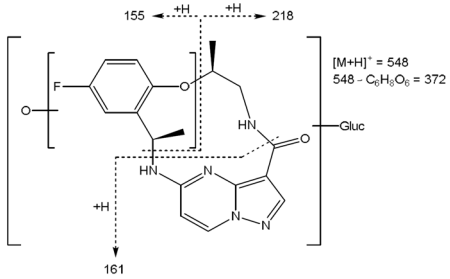
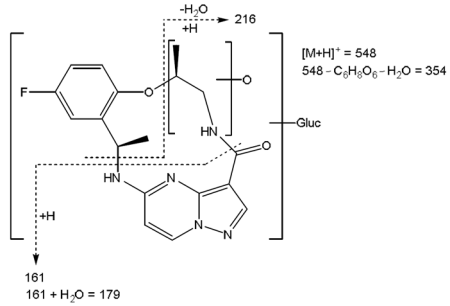
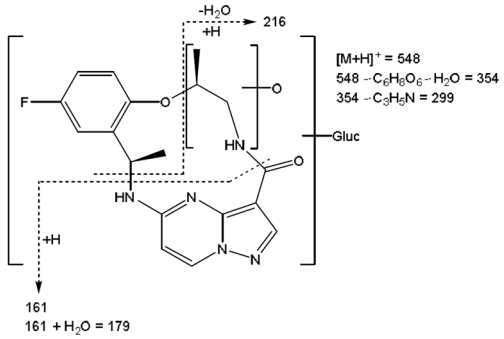
					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)			
Component Identifier	**Type of Metabolite**	**Retention Time (min)**	**$[M+H]^+$ (m/z)**	**Proposed Structure and Fragmentation Pathway**	**Plasma**	**Urine**	**Feces**	**Bile**
M17	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	24.9	548.1787		-	-	-	Rat
M12	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	30.1	548.1787		-	Monkey	-	-
M19	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	30.2	548.1787		-	-	-	Rat

Table 2.6.5.9.B: Comparison of Metabolite Profiles Identified in Rat, Cynomolgus Monkey and Human Plasma, Urine, Feces and Bile (Rat only) in the definite ^{14}C-ADME Studies（続き）

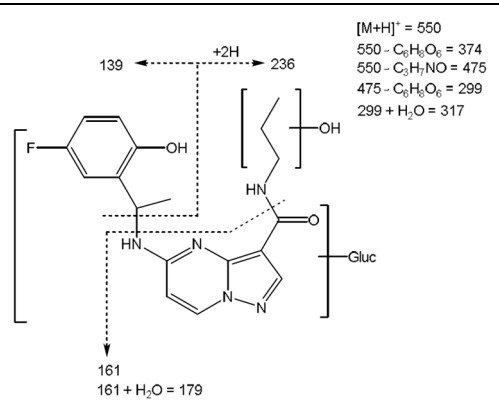
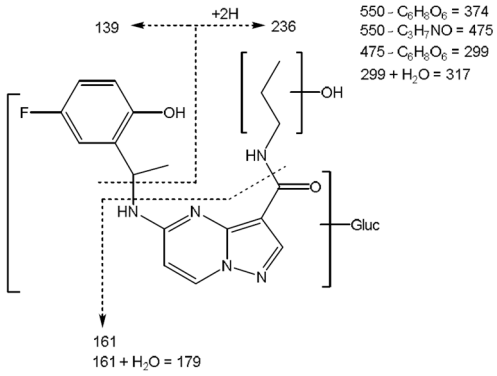
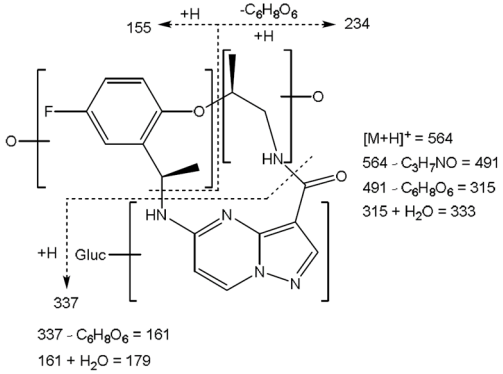
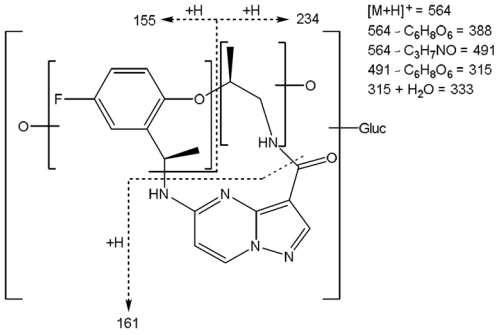
					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)			
Component Identifier	**Type of Metabolite**	**Retention Time (min)**	**$[M+H]^+$ (m/z)**	**Proposed Structure and Fragmentation Pathway**	**Plasma**	**Urine**	**Feces**	**Bile**
M1	Oxidative ring opening and glucuronidation of TPX-0005	21.8	550.1944		Human	Monkey Human	-	-
M3	Oxidative ring opening and glucuronidation of TPX-0005	22.0	550.1944		Human	Monkey Human	-	-

Table 2.6.5.9.B: Comparison of Metabolite Profiles Identified in Rat, Cynomolgus Monkey and Human Plasma, Urine, Feces and Bile (Rat only) in the definite ^{14}C-ADME Studies（続き）

					Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)			
Component Identifier	**Type of Metabolite**	**Retention Time (min)**	**$[M+H]^+$ (m/z)**	**Proposed Structure and Fragmentation Pathway**	**Plasma**	**Urine**	**Feces**	**Bile**
M14	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	19.6	564.1736		-	-	-	Rat
M16	Oxidation and glucuronidation of TPX-0005	22.4	564.1736		-	-	-	Rat

Abbreviations: - = not detected; ADME = absorption, distribution, metabolism and excretion; CMC = carboxymethylcellulose.

[a] Retention time obtained from Group 2 female rats urine 0–24 h pool
[b] Retention time obtained from Group 2 female rats bile 0–24 h pool
[c] Retention time in minutes obtained from female monkeys plasma 6 h
[d] Retention time in minutes obtained from 511F monkey feces 0–96 h

Table 2.6.5.9.C: Metabolite Profiling in Rat Plasma, Urine, Bile and Feces

	Test Article: Repotrectinib (TPX-0005) **Study No. / Location in CTD:** 00403 / 4.2.2.4-1
Species/Strain:	Rat, Sprague Dawley
Sex/Number of Animals:	Plasma: M/12, F/12 (2 animals/sex/timepoint); Urine and Feces: M/3, F/3; Bile: M/3, F/3
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) CMC, 1% (v/v) Tween-80 in water
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose:	50 mg/kg (200 µCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]-TPX-0005
Specific Activity:	Intact rats: ~3.91 µCi/mg; Bile duct cannulated rats: ~4.09 µCi/mg
Methods of Analysis:	Metabolites in plasma, urine, bile, and feces were separated by HPLC and the column eluate was fractionated. Fractions were measured using offline radioactivity counting.

Metabolite	**Type of Metabolite**	**PLASMA % of Radioactive Sample**													
		2 hours		**4 hours**		**6 hours**		**8 hours**		**12 hours**		**24 hours**		**Pseudo AUC[a]**	
		M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
M5	hydroxylated TPX-0005	8.2	7.9	12.7	ND	10.3	6.6	7.8	4.3	25.3	14.1	24.5	17.3	17.6	21.3
M9	hydroxylated TPX-0005	4.9	ND	4.3	6.1	5.4	3.9	ND	ND	6.2	2.6	12.3	ND	ND	ND
TPX-0005	unchanged drug	86.1	91.2	72.6	91.9	82.7	88.5	87.8	90.9	54.0	80.3	39.7	73.6	75.1	58.4
Remainder[b]		0.8	0.9	10.4	2.0	1.6	1.0	4.4	4.8	14.5	3.0	23.5	9.1	7.3	20.3
Total		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Abbreviations: CMC = carboxymethylcellulose; HPLC = high performance liquid chromatography; ND = not detected.

[a] Hamilton $AUC_{0\text{-}24h}$-pooled sample

[b] Remainder: Accounts for unidentified radioactive component (U21) and areas on radiochromatogram which sum above zero but contain no discrete area of radioactivity.

Table 2.6.5.9.C: Metabolite Profiling in Rat Plasma, Urine, Bile and Feces（続き）

				Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
				Study No. / Location in CTD:	00403 / 4.2.2.4-1
Metabolite	**Type of Metabolite**	**URINE % Dose**			
		Intact Rats		**Bile Duct Canulated Rats**	
		Male (0-48 hours)	**Female (0-48 hours)**	**Male (0-48 hours)**	**Female (0-24 hours)**
M5	hydroxylated TPX-0005	1.13	1.15	1.98	1.77
M18	loss of C_3H_4	0.09	0.08	0.39	0.45
M20	hydroxylated TPX-0005	0.03	0.06	ND	0.27
TPX-0005	unchanged drug	<0.01	0.03	0.09	0.12
Remainder[a]		<0.71	<0.37	1.07	0.74
Total		1.94	1.69	3.53	3.35

[a] Remainder: Accounts for unidentified radioactive components and areas on radiochromatogram which sum above zero but contain no discrete area of radioactivity.

Table 2.6.5.9.C: Metabolite Profiling in Rat Plasma, Urine, Bile and Feces（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00403 / 4.2.2.4-1

Metabolite	Type of Metabolite	FECES % Dose					
		Intact Rats				Bile Duct Canulated Rats	
		0-24 hours		0-48 hours		0-24 hours	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
TPX-0005	unchanged drug	75.20	70.14	78.44	75.91	73.94	78.06
	Remainder[a]	2.57	3.08	4.30	2.35	1.51	2.66
	Total	77.77	73.22	82.74	78.26	75.45	80.72

[a] Remainder: Accounts for unidentified radioactive component (U18) and areas on radiochromatogram which sum above zero but contain no discrete area of radioactivity.

Table 2.6.5.9.C: Metabolite Profiling in Rat Plasma, Urine, Bile and Feces（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00403 / 4.2.2.4-1

Metabolite	Type of Metabolite	BILE - % Dose			
		Bile Duct Canulated Rats			
		0-24 hours		0-48 hours	
		Male	Female	Male	Female
M2/M16[a]	glucuronide conjugates of hydroxylated TPX-0005 (M2) or dihydroxylated TPX-0005 (M16)	1.96	0.56	2.15	0.66
M15[a]	glucuronide conjugate of hydroxylated TPX-0005		ND		ND
M5/M19[b]	hydroxylated TPX-0005 (M5)/ glucuronide conjugate of hydroxylated TPX-0005 (M19)	0.61	0.43	0.67	0.48
M13	glucuronide conjugate of hydroxlated ring cleavage product	0.38	0.10	0.45	0.12
M14	glucuronide conjugate of dihydroxylated TPX-0005	0.88	0.20	0.99	0.24
M17	glucuronide conjugate of hydroxylated TPX-0005	0.69	0.75	0.79	0.83
M20	hydroxylated TPX-0005	0.10	0.26	0.11	0.30
TPX-0005	unchanged drug	0.32	0.48	0.36	0.52
Remainder[c]		4.06	1.90	4.52	2.26
Total		9.00	4.68	10.04	5.41

Abbreviations: HPLC = high performance liquid chromatography; ND = not detected.

[a] In male rat bile, metabolites M2/M15/M16 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of all 3 metabolites. In female rat bile, M2/M16 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of both metabolites. M15 was not detected in female rat bile.

[b] In male and female rat bile, M5/19 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of both metabolites.

[c] Remainder: Accounts for unidentified radioactive components and areas on radiochromatogram which sum above zero but contain no discrete area of radioactivity.

Table 2.6.5.9.D: Metabolite Profiling in Cynomolgus Monkey Plasma, Urine and Feces

	Test Article: Repotrectinib (TPX-0005) **Study No. / Location in CTD:** 00402 / 4.2.2.4-2
Species/Strain:	Monkey, Cynomolgus
Sex/Number of Animals:	M/3; F/3
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) CMC, 1% (v/v) Tween-80 in water
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose:	100 mg/kg (200 µCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]-TPX-0005
Specific Activity:	~2.04 µCi/mg
Methods of Analysis:	Metabolites in plasma, urine, and feces were separated by HPLC and the column eluate was fractionated. Fractions were measured using offline radioactivity counting.

Metabolite	**Type of Metabolite**	**PLASMA % of Radioactive Sample**													
		1 hour		**2 hours**		**4 hours**		**6 hours**		**8 hours**		**12 hours**		**Pseudo AUC[a]**	
		M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
M5	hydroxylated TPX-0005	23.2	23.1	23.0	21.2	23.8	12.7	23.4	18.7	22.1	37.5	31.1	17.7	33.5	18.0
M11	glucuronide conjugate of hydroxylated TPX-0005	30.9	20.3	23.7	18.0	26.5	21.6	19.3	19.6	15.0	8.3	19.3	11.8	17.8	16.4
TPX-0005	unchanged drug	38.1	53.5	46.8	55.9	42.6	61.4	50.3	56.3	54.0	51.8	33.1	63.1	45.0	60.8
	Remainder[b]	7.8	3.1	6.5	4.9	7.1	4.3	7.0	5.4	8.9	2.4	16.5	7.4	3.3	4.8
	Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration vs. time curve; CMC = carboxymethylcellulose; HPLC = high performance liquid chromatography.

[a] Hamilton $AUC_{0\text{-}24h}$-pooled sample

[b] Remainder: Accounts for areas on radiochromatogram which sum above zero but contain no discrete area of radioactivity.

Table 2.6.5.9.D: Metabolite Profiling in Cynomolgus Monkey Plasma, Urine and Feces（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00402 / 4.2.2.4-2

Metabolite	Type of Metabolite	URINE % Dose					
		Male			Female		
		193M (0-120 hours)	194M (0-144 hours)	195M (0-144 hours)	511F (0-96 hours)	509F (0-144 hours)	510F (0-144 hours)
M1/M2/M3[a]	glucuronides of hydroxylated (M2) or hydrated (M1/M3) TPX-0005	0.15	0.27	0.13	0.42	0.39	0.33
M4/M12[b]	hydrated TPX-0005/ glucuronide conjugate of hydroxylated TPX-0005	0.02	0.02	0.02	0.03	0.04	0.04
M6	hydrated TPX-0005	<0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01
M7	hydroxylated TPX-0005	0.02	0.04	0.04	0.06	0.08	0.05
M8	oxidized metabolite of TPX-0005	<0.01	0.01	<0.01	0.01	0.02	0.01
TPX-0005	unchanged drug	0.03	0.15	0.11	0.01	0.12	0.17
Remainder[c]		<0.07	0.09	<0.06	0.16	0.16	0.15
Total		0.27	0.59	0.35	0.70	0.83	0.76

Abbreviations: HPLC = high performance liquid chromatography.

[a] In monkey urine, metabolites M1, M2, and M3 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of all 3 metabolites.
[b] In monkey urine, M4 and M12 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of both metabolites.
[c] Remainder: Accounts for unidentified radioactive components and areas on radiochromatogram which sum above zero but contain no discrete area of radioactivity.

Table 2.6.5.9.D: Metabolite Profiling in Cynomolgus Monkey Plasma, Urine and Feces（続き）

					Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)	
					Study No. / Location in CTD:	00402 / 4.2.2.4-2	
Metabolite	**Type of Metabolite**	**FECES % Dose**					
		Male			**Female**		
		193M (0-48 hours)	**194M (0-72 hours)**	**195M (0-72 hours)**	**509F (0-72 hours)**	**510F (0-72 hours)**	**511F (0-96 hours)**
M4/M5[a]	hydrated / hydroxylated TPX-0005	2.02	2.74	1.26	2.56	2.47	4.76
M6	hydrated TPX-0005	ND	ND	ND	ND	ND	1.34
TPX-0005	unchanged drug	74.27	56.54	38.72	59.61	35.12	75.47
	Remainder[b]	1.40	1.52	0.82	0.31	1.04	1.92
	Total	77.69	60.80	40.80	62.48	38.63	83.49

Abbreviations: HPLC = high performance liquid chromatography; ND = not detected.

[a] In monkey feces, metabolites M4 and M5 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of both metabolites.

[b] Remainder: Accounts for unidentified radioactive component (U9) and areas on radiochromatogram which sum above zero but contain no discrete area of radioactivity.

Table 2.6.5.9.E: Metabolite Profiling in Human Plasma, Urine and Feces

		Test Article: Repotrectinib (TPX-0005) **Study No. / Location in CTD:** TPX-0005-09 / 5.3.3.1-1
Species:	Healthy male subjects	
Sex/Number:	Male/7 healthy human subjects	
Method of Administration:	Oral (single dose; oral suspension)	
Dose:	160 mg dose of [^{14}C]-TPX-0005 containing approx. 100 µCi of [^{14}C]-radiolabeled material	
Radionuclide:	[^{14}C]-TPX-0005	
Methods of Analysis:	Metabolites in plasma, urine and feces were separated by HPLC and the column eluate was fractionated. Fractions were measured by Accelerator Mass Spectrometry for plasma samples and by offline radioactivity counting for excreta samples.	

Metabolite	**Type of Metabolite**	**PLASMA (AUC)[a] % of Radioactive Sample**
		Healthy Male Human Subjects
		Mean
M1/M2/M3[a]	glucuronides of hydroxylated (M2) or hydrated (M1/M3) TPX-0005	6.01
M5	hydroxylated TPX-0005	2.71
M9	hydroxylated TPX-0005	2.63
TPX-0005	unchanged drug	84.3

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration vs. time curve; HPLC = high performance liquid chromatography.

[a] Hamilton $AUC_{0\text{-}72h}$-pooled sample

Table 2.6.5.9.E: Metabolite Profiling in Human Plasma, Urine and Feces（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: TPX-0005-09 / 5.3.3.1-1

Metabolite	Type of Metabolite	URINE % Administered Dose							
		Healthy Male Human Subjects							
		Subject 1001 (0-168 h)	Subject 1002 (0-144 h)	Subject 1003 (0-168 h)	Subject 1004 (0-120 h)	Subject 1005 (0-96 h)	Subject 1006 (0-144 h)	Subject 1007 (0-168 h)	Mean
M1/M2/M3[a]	glucuronides of hydroxylated (M2) or hydrated (M1/M3) TPX-0005	2.12	2.54	2.31	4.31	1.62	2.65	3.85	2.77
M7	hydroxylated TPX-0005	0.79	0.89	0.68	0.63	0.54	0.53	0.74	0.69
M8	oxidized TPX-0005	0.11	0.13	0.34	0.27	ND	0.21	0.15	0.17
TPX-0005	unchanged drug	0.52	0.35	1.04	0.63	0.48	0.47	0.41	0.56
M10	oxidized TPX-0005	ND	ND	ND	0.10	ND	0.10	0.10	0.04
Remainder[b]		0.27	0.35	0.24	0.72	0.10	0.39	0.44	0.28
Total (% Dose in pool)		3.81	4.26	4.62	6.66	2.74	4.35	5.70	4.59

Abbreviations: HPLC = high performance liquid chromatography; ND = not detected.

[a] In human urine, metabolites M1, M2, and M3 coeluted on the HPLC. The reported contribution represents the sum of all 3 metabolites.
[b] Remainder: Accounts for unidentified radioactive components and sample radioactivity not accounted for by the specified discrete components.

Table 2.6.5.9.E: Metabolite Profiling in Human Plasma, Urine and Feces（続き）

						Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)		
						Study No. / Location in CTD:	TPX-0005-09 / 5.3.3.1-1		
Metabolite	**Type of Metabolite**	**FECES % Administered Dose**							
		Healthy Male Human Subjects							
		Subject 1001 (24-144 h)	**Subject 1002 (24-120 h)**	**Subject 1003 (24-216 h)**	**Subject 1004 (24-120 h)**	**Subject 1005 (48-144 h)**	**Subject 1006 (48-168 h)**	**Subject 1007 (72-240 h)**	**Mean[a]**
M4	hydrated TPX-0005	11.86	12.27	16.63	14.15	9.79	13.57	3.51	13.04
M5	hydroxylated TPX-0005	8.24	7.19	6.79	12.76	3.18	4.49	2.52	7.11
M6	hydrated TPX-0005	4.46	6.43	5.93	7.53	3.43	7.99	2.48	5.96
M7	hydroxylated TPX-0005	ND	1.69	2.11	1.96	ND	ND	0.65	0.96
M9	hydroxylated TPX-0005	ND	ND	1.02	2.13	ND	ND	ND	0.52
TPX-0005	unchanged drug	55.19	51.78	44.27	38.61	60.93	52.68	8.75	50.58
	Remainder[b]	4.37	5.25	1.33	4.66	4.24	4.49	1.92	4.06
	Total (% Dose in pool)	84.13	84.60	78.08	81.81	81.56	83.23	19.83	82.24

Abbreviations: ND = not detected.

[a] Subject 1007 excluded from calculation of mean.

[b] Remainder: Sample radioactivity not accounted for by the specified discrete components.

10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

Table 2.6.5.10.A: Metabolic Stability in Liver Microsomes

			Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
			Location in CTD:	4.2.2.4-3
			Study No.:	00216
Study system:	Female and male human, rat, dog and monkey liver microsomes; incubation up to 60 min at 37ºC; LC-MS/MS detection			
Test Article	**Species**	**Sex**	**$t_{1/2}$ (min)**	**CL_{int} (µL/min/mg protein)**
TPX-0005 (1 µM)	Human	Female	172 ± 26	8.07 ± 1.21
		Male	179 ± 28	7.75 ± 1.19
	Rat, Sprague Dawley	Female	894 ± 696	1.55 ± 1.21
		Male	152 ± 16	9.10 ± 0.97
	Dog, Beagle	Female	361 ± 126	3.84 ± 1.34
		Male	300 ± 43	4.62 ± 0.67
	Monkey, Cynomolgus	Female	30.4 ± 0.9	45.6 ± 1.3
		Male	34.1 ± 1.3	40.7 ± 1.5

Abbreviations: CL_{int} = intrinsic clearance; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; $t_{1/2}$ = elimination half-life.
Notes: Data are shown as mean ± standard error of the mean. CL_{int} for TPX-0005 was higher in monkey liver microsomes relative to the other species. A sex-difference in metabolic stability was observed in rat liver microsomes, with lower CL_{int} values in females compared to males.

Table 2.6.5.10.B: Metabolic Stability in Hepatocytes

				Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)	
				Location in CTD: 4.2.2.4-3	
				Study No.: 00216	
Study system:	Cryopreserved human (mixed sex), mouse (male), rat (male), dog (male) and monkey (male) hepatocytes; incubation up to 240 min at 37ºC; LC-MS/MS detection				
Test Article	**Species**	**Metabolism Rate (pmol/min/10^6 cells)**	**$t_{1/2}$ (min)**	**Remaining at 240 min (%)**	**Hepatocyte Viability (%)**
TPX-0005 (5 μM)	Human	7.0	>240	73	86
	Mouse, CD-1	10	>240	61	93
	Rat, Sprague Dawley	7.0	>240	91	83
	Dog, Beagle	10	>240	64	85
	Monkey, Cynomolgus	56	90[a]	33	92

Abbreviations: LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; $t_{1/2}$ = elimination half-life.
Notes: Data are presented as mean values of duplicate measurements. The turnover rate of TPX-0005 was highest in cynomolgus monkey hepatocytes. Given on its low turnover in human hepatocytes, the metabolic stability of TPX-0005 was further evaluated in plated human hepatocytes from 3 different donors over an extended (72 hours) incubation period. TPX-0005 half-lives were 1830, 3530 and 487 min in plated hepatocytes from donors 1, 2 and 3, respectively (data not shown).

[a] $t_{1/2}$ determined using 0-120 minute time points.

Table 2.6.5.10.C: Metabolite Identification in Hepatocytes

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)

Study No. / Location in CTD: 00207 / 4.2.2.4-4

Study system: Cryopreserved human (mixed sex), mouse (male), rat (male), dog (male) and monkey (male) hepatocytes; 4-hour incubation of suspended hepatocytes at 37ºC; LC-MS/MS detection

Analyte	RT (min)	m/z	Putative Metabolite ID	MS Peak Area in 4-Hour Samples				
				Mouse	Rat	Dog	Monkey	Human
TPX-0005	23.1	356	Parent	910,290	778,060	1,117,900	569,350	1,090,500
M548_1	17.4	548	Hydroxy-glucuronide	ND	ND	626	121,660	20,484
M550	18.0	550	Hydro-hydroxy-glucuronide	ND	ND	ND	29,406	9,257
M372_1	18.4	372	Hydroxy	ND	45,862	139,490	67,135	48,911
M548_3	19.7	548	Hydroxy-glucuronide	ND	ND	ND	18,003	ND
M372_2	21.4	372	Hydroxy	ND	ND	ND	58,100	ND

Abbreviations: LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; MS = mass spectrometry; ND = not detected; RT = retention time.
Notes: M372_1 (hydroxyl metabolite) was detected in hepatocyte incubations of all species except mouse. Additional metabolites found in human hepatocyte incubations (M548_1 and M550; glucuronide derivatives) were also detected in monkey hepatocyte incubations. Based on these results, metabolites in plated human hepatocytes and plasma (in vivo) from TPX-0005-treated rats and monkeys were further assessed (see Section 9) to support the selection of rat and monkey as toxicology species.

Table 2.6.5.10.D: CYP Enzyme Identification

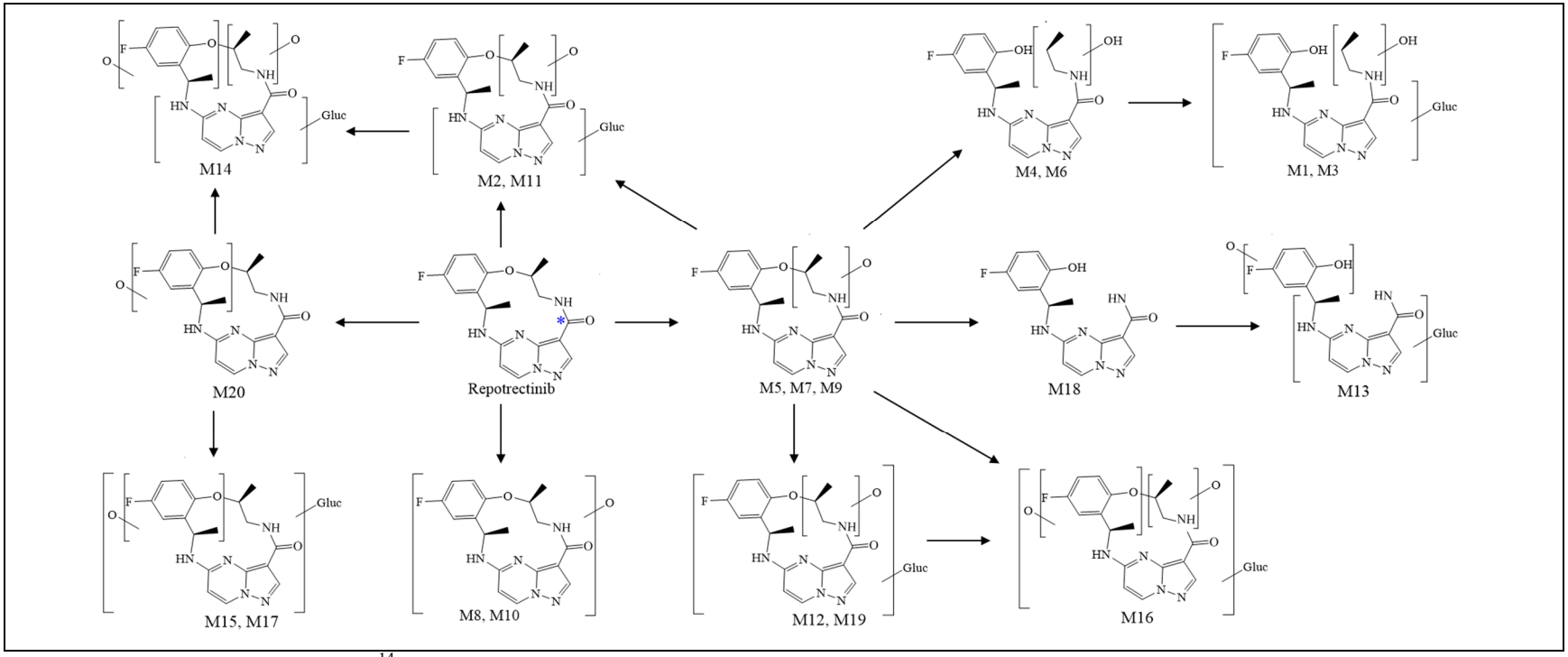
		Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
		Location in CTD:	4.2.2.4-5
		Study No.:	00217
Study system:	Supersomes™ expressing recombinant human CYP enzymes; incubation up to 60 min at 37ºC; LC-MS/MS detection		
Test Article	**CYP Isoform**	**$t_{1/2}$ (min)**	**CL_{int} ($\mu L \cdot min^{-1} \cdot pmol^{-1}$)**
TPX-0005 (1 μM)	CYP1A2	>240	<0.12
	CYP2B6	>240	<0.12
	CYP2C19	209	0.13
	CYP2C8	198	0.14
	CYP2C9	211	0.13
	CYP2D6	182	0.15
	CYP3A4	**3.9**	**7.11**

Abbreviations: CL_{int} = intrinsic clearance; CYP = cytochrome P450; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; $t_{1/2}$ = elimination half-life.
Notes: The metabolism of TPX-0005 was mainly mediated by human CYP3A4 (bolded). Reference substrates behaved as expected.

11 薬物動態試験：推定代謝経路

Table 2.6.5.11.A: Proposed Metabolic Pathways of TPX-0005

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)



Notes: * Denotes the location of the [^{14}C]-radiolabel
Human metabolites: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10
Monkey metabolites: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M11, M12
Rat metabolites: M2, M5, M9, M10. M13, M14, M15, M16, M17, M18, M19, M20

12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

Table 2.6.5.12.A: Reversible Inhibition of CYP Enzymes

		Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
		Study No. / Location in CTD:	00221 / 4.2.2.4-6
Type of study:	Reversible inhibition of CYP in pooled human liver microsomes		
Method:	Reversible inhibition of reference substrate metabolism; LC-MS/MS detection		
CYP isozyme	**Substrate**	**Substrate Concentration (µM)**	**TPX-0005 IC_{50} (µM)**
CYP1A2	Phenacetin	30	>50
CYP2B6	Bupropion	200	>50
CYP2C8	Paclitaxel	2	9.36
CYP2C9	Tolbutamide	100	5.72
CYP2C19	S-Mephenytoin	100	12.6
CYP2D6	Bufuralol	10	>50
CYP3A4/5	Midazolam	5	>50
CYP3A4/5	Testosterone	30	12.3

Abbreviations: CYP = cytochrome P450; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry.
Notes: TPX-0005 (up to 50 µM) did not inhibit CYP1A2, CYP2B6, CYP2D6 or CYP3A4/5 (midazolam) activities (IC_{50} values >50 µM). TPX-0005 weakly inhibited CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4/5 (testosterone) at high concentrations (IC_{50} values ≥5.72 µM). Reference inhibitors behaved as expected in the assay.

Table 2.6.5.12.B: Metabolism-Dependent Inhibition of CYP Enzymes

			Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
			Study No. / Location in CTD:	00222 / 4.2.2.4-7
Type of study:	Metabolism-dependent inhibition of CYP in pooled human liver microsomes			
Method:	Pre-incubation (30 min at 37ºC) of human liver microsomes with TPX-0005 (or CYP isoform-specific control inhibitors) in the absence or presence of 1 mM NADPH; LC-MS/MS detection			
CYP isozyme	**Substrate**	**Substrate Concentration (µM)**	**TPX-0005 IC_{50} (µM)**	
			- NADPH	**+ NADPH**
CYP1A2	Phenacetin	30	>50	>50
CYP2B6	Bupropion	200	>50	>50
CYP2C8	Paclitaxel	2	6.48	8.10
CYP2C9	Tolbutamide	100	9.69	8.72
CYP2C19	S-Mephenytoin	100	9.46	17.4
CYP2D6	Bufuralol	10	>50	>50
CYP3A4/5	Midazolam	5	>50	>50

Abbreviations: CYP = cytochrome P450; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NADPH = beta-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.
Notes: TPX-0005 (up to 50 µM) has minimal metabolism-dependent CYP inhibition potential.

Table 2.6.5.12.C: Induction of CYP Enzymes - PXR Activation in HEK293 Reporter Cells Expressing Human or Rat PXR

		Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
		Study No. / Location in CTD:	00099 / 4.2.2.4-8
Type of study:	PXR activation		
Method:	Evaluation of PXR activation by TPX-0005 or reference compounds in HEK293 reporter cells expressing human or rat PXR and a luciferase reporter gene; incubation performed for 24 hours at 37ºC		

Test Article	**EC_{50} (µM)**	
	Human PXR	**Rat PXR**
TPX-0005	>10	>10
Rifampicin	2.11	ND
Pregnenolone-16α-carbonitrile	ND	1.54

Abbreviations: EC_{50} = 50% effective concentration; HEK = human embryonic kidney; ND = not determined; PXR = pregnane X receptor.
Notes: TPX-0005 did not activate human or rat PXR (EC_{50} >10 µM). Control articles activated human and rat PXR by approximately 19- and 51-fold, respectively, at concentrations of 10 µM.

Table 2.6.5.12.D: CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4 Enzyme Induction in Cryopreserved Primary Human Hepatocytes

	Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
	Study No. / Location in CTD: 00250 / 4.2.2.4-9
Type of study:	CYP enzyme induction in cultures of cryopreserved primary human hepatocytes from three donors
Method:	Three preparations of cultured human hepatocytes from three individual donors were exposed once daily for three consecutive days to DMSO (0.1% v/v, vehicle control), flumazenil (25 µM, negative control), one of six concentrations of TPX-0005 (0.3, 1, 3, 10, 30 or 75 µM) or one of three known human CYP enzyme inducers, namely, omeprazole (50 µM; an AhR activator and CYP1A2 inducer), phenobarbital (750 µM; a CAR activator and CYP2B6 inducer) and rifampin (20 µM; a PXR agonist and inducer of CYP3A4). At the end of the exposure period, cells were harvested, RNA was isolated and analyzed by qRT-PCR to assess the effects of TPX-0005 on mRNA levels.

Enzyme	**Concentration (µM)**	**CYP mRNA fold change**			**CYP mRNA % Positive Control[a]**			**CYP mRNA % Decrease[b]**		
		HC10-23	**HC5-24**	**HC7-12**	**HC10-23**	**HC5-24**	**HC7-12**	**HC10-23**	**HC5-24**	**HC7-12**
CYP1A2	0 (vehicle, DMSO 0.1%)	1.00	1.00	1.00	0	0	0	0	0	0
	0.3	0.907	1.23	1.00	- 0.105	0.593	0.00447	9.30	NA	NA
	1	0.880	1.31	0.923	- 0.136	0.797	- 0.0860	12.0	NA	7.70
	3	0.787	1.04	0.960	- 0.241	0.0993	- 0.0447	21.3	NA	4.00
	10	0.977	0.933	1.52	- 0.0260	- 0.175	0.583	2.30	6.70	NA
	30	**2.14**	0.921	1.15	**1.28**	-0.207	0.172	NA	7.90	NA
	75	0.281	0.0540	0.251	- 0.812	- 2.47	- 0.836	71.9	94.6	74.9
	flumazenil (25 µM)	0.991	0.939	1.09	- 0.0102	- 0.159	0.104	0.900	6.10	NA
	omeprazole (50 µM)	89.5	39.3	90.5	100	100	100	NA	NA	NA
CYP2B6	0 (vehicle, DMSO 0.1%)	1.00	1.00	1.00	0	0	0	0	0	0
	0.3	6.38	5.77	4.46	44.6	45.6	36.3	NA	NA	NA
	1	8.62	16.9	7.94	63.1	152	72.8	NA	NA	NA
	3	9.01	28.9	7.61	66.3	267	69.4	NA	NA	NA
	10	10.1	42.8	8.25	75.5	401	76.0	NA	NA	NA
	30	11.1	49.3	6.30	83.6	462	55.6	NA	NA	NA
	75	4.75	10.4	2.45	31.0	90.2	15.2	NA	NA	NA
	flumazenil (25 µM)	1.18	1.36	1.03	1.52	3.48	0.346	NA	NA	NA
	phenobarbital (750 µM)	13.1	11.5	10.5	100	100	100	NA	NA	NA

Table 2.6.5.12.D: CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4 Enzyme Induction in Cryopreserved Primary Human Hepatocytes（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00250 / 4.2.2.4-9

Enzyme	Concentration (µM)	CYP mRNA fold change			CYP mRNA % Positive Control[a]			CYP mRNA % Decrease[b]		
		HC10-23	HC5-24	HC7-12	HC10-23	HC5-24	HC7-12	HC10-23	HC5-24	HC7-12
CYP3A4	0 (vehicle, DMSO 0.1%)	1.00	1.00	1.00	0	0	0	NA	NA	NA
	0.3	4.50	4.70	3.18	8.12	5.92	7.94	NA	NA	NA
	1	7.36	15.1	6.09	14.8	22.5	18.5	NA	NA	NA
	3	8.08	24.0	7.10	16.5	36.8	22.2	NA	NA	NA
	10	11.4	34.4	7.81	24.2	53.4	24.8	NA	NA	NA
	30	16.0	34.9	6.39	34.9	54.1	19.6	NA	NA	NA
	75	0.856	4.96	2.34	-0.335	6.31	4.88	14.4	NA	NA
	flumazenil (25 µM)	1.13	0.988	1.27	0.305	-0.0192	0.993	NA	1.20	NA
	rifampin (20 µM)	44.0	63.6	28.5	100	100	100	NA	NA	NA

Abbreviations: AhR = aryl hydrocarbon receptor; CAR = constitutive androstane receptor; CYP = cytochrome P450; DMSO = dimethyl sulfoxide; mRNA = messenger ribonucleic acid; NA = not applicable (fold change was > 1); PXR = pregnane X receptor; qRT-PCR = quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction; RNA = ribonucleic acid.
Notes: The single increase of > 2-fold for CYP1A2 mRNA and the corresponding percentage of the positive control response in one of three hepatocyte cultures for CYP1A2 is presented in **bold**. TPX-0005 caused concentration-dependent increases in CYP2B6 and CYP3A4 in all three hepatocyte cultures. The maximal increases were observed at 10 or 30 µM TPX-0005 and were > 2-fold and were >20% of the positive control inducers for CYP2B6 and CYP3A4 in all three donors.

[a] Percent positive control (%) = ([Fold change of test article – 1]/[Fold change of positive control – 1]) × 100
[b] Percent decrease (%) = (Fold change [vehicle control] – Fold change [test article]) × 100

Table 2.6.5.12.D: CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4 Enzyme Induction in Cryopreserved Primary Human Hepatocytes（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00250 / 4.2.2.4-9

Enzyme	Equation	E_{max} (fold change)			EC_{50} (µM)		
		HC10-23	HC5-24	HC7-12	HC10-23	HC5-24	HC7-12
CYP2B6	Hill	12.1 ± 1.8	54.0 ± 1.8	NR	0.202 ± 0.110	2.47 ± 0.25	NR
	Sigmoid	NR	46.2 ± 3.3	NR	NR	2.21 ± 0.49	NR
CYP3A4	Hill	NR	36.8 ± 2.0	7.14 ± 0.48	NR	1.51 ± 0.26	0.343 ± 0.082
	Sigmoid	16.2 ± 1.6	34.5 ± 2.3	7.10 ± 0.41	3.89 ± 1.89	1.81 ± 0.41	0.373 ± 0.138

Abbreviations: CYP = cytochrome P450; EC_{50} = concentration at which there is 50% maximal induction effect; E_{max} = maximal fold induction; NR = not reported due to the high standard error of regression.

Table 2.6.5.12.E: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 Enzyme Induction in Cryopreserved Primary Human Hepatocytes

									Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)				
									Study No. / Location in CTD: 00494 / 4.2.2.4-10				
Type of study:	CYP enzyme induction in cultures of cryopreserved primary human hepatocytes from three donors												
Method:	Human cryopreserved hepatocytes in sandwich configuration were incubated for three days with DMSO (0.1% v/v, vehicle control), one of eight concentrations of TPX-0005 (0.025, 0.075, 0.25, 0.75, 2.5, 7.5, 25 or 30 µM), negative control (flumazenil; 25µM) or the positive control rifampin (20 µM), (a PXR agonist and moderate inducer of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19). CYP activity was measured by LC-MS/MS. CYP mRNA expression was analyzed by qRT-PCR.												
Concentration (µM)	**CYP2C8**												
	mRNA						**Activity**						
	HC10-49		**HC10-50**		**HC10-52**		**HC10-49**		**HC10-50**		**HC10-52**		
	Fold Change	**%PC**	**Fold Change**	**%PC**	**Fold Change**	**%PC**	**Fold Change**	**%PC**	**Fold Change**	**%PC**	**Fold Change**	**%PC**	
0 (vehicle, DMSO 0.1%)	1.00	0	1.00	0	1.00	0	1.00	NA	1.00	0	1.00	0	
0.025	1.18	7.43	1.15	4.53	1.01	0.652	1.02	NA	1.23	4.93	0.968	NR[a]	
0.075	1.03	1.22	1.38	11.5	1.33	18.4	1.13	NA	1.08	1.61	1.44	28.9	
0.25	1.66	27.9	1.77	23.4	1.25	14.1	2.09	NA	1.82	17.3	1.67	44.4	
0.75	1.34	14.3	2.61	48.9	1.50	27.8	3.37	NA	2.77	37.2	2.52	100	
2.5	1.43	18.2	2.73	52.3	1.11	6.31	3.83	NA	3.24	47.3	2.54	101	
7.5	1.04	1.50	2.25	37.8	0.794	NR[a]	5.63	NA	3.78	58.6	2.32	87.0	
25	3.10	88.4	3.07	62.8	0.549	NR[a]	1.68	NA	0.810	NR[a]	1.69	45.6	
30	2.41	59.5	3.12	64.3	0.666	NR[a]	1.21	NA	0.294	NR[a]	1.31	20.7	
25 µM Flumazenil	1.15	6.46	1.39	11.7	1.06	3.35	1.65	NA	1.70	14.7	1.10	6.41	
20 µM Rifampin	3.37	100	4.30	100	2.79	100	1.71	NA	5.74	100	2.52	100	
Sigmoid EC_{50} (µM)	NC		0.309		NC		NR[d]		0.520		0.258		
Sigmoid E_{max} (fold change)			1.78						2.50		1.46		
Hill EC_{50} (µM)	NC		NR[b]		NC		NR[b]		0.537		0.208		
Hill E_{max} (fold change)									2.80		1.50		

Table 2.6.5.12.E: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 Enzyme Induction in Cryopreserved Primary Human Hepatocytes（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00494 / 4.2.2.4-10

Concentration (µM)	**CYP2C9**											
	mRNA						**Activity**					
	HC10-49		**HC10-50**		**HC10-52**		**HC10-49**		**HC10-50**		**HC10-52**	
	Fold Change	**%PC**	**Fold Change**	**%PC**	**Fold Change**	**%PC**	**Fold Change**	**%PC**	**Fold Change**	**%PC**	**Fold Change**	**%PC**
0 (vehicle, DMSO 0.1%)	1.00	0	1.00	0	1.00	NA	1.00	NA	1.00	0	1.00	0
0.025	1.18	11.1	1.08	4.02	1.05	NA	0.959	NA	0.993	NR[a]	0.905	NR[a]
0.075	1.15	9.43	1.29	14.4	1.28	NA	0.853	NA	0.957	NR[a]	0.979	NR[a]
0.25	1.51	31.1	1.64	31.4	1.50	NA	0.852	NA	1.04	1.36	1.14	14.1
0.75	1.70	42.4	2.21	59.2	1.70	NA	1.02	NA	1.15	5.37	1.29	28.5
2.5	2.01	61.5	2.93	94.9	1.73	NA	1.25	NA	1.57	20.4	1.33	32.8
7.5	2.89	115	3.03	99.5	1.45	NA	1.39	NA	2.17	41.9	1.30	30.1
25	6.35	326	5.30	211	1.02	NA	1.08	NA	1.61	22.1	1.32	31.6
30	4.97	242	4.68	181	0.967	NA	0.893	NA	1.25	9.09	1.44	43.7
25 µM Flumazenil	1.09	5.55	1.26	12.9	0.995	NA	1.15	NA	1.34	12.1	1.04	3.76
20 µM Rifampin	2.64	100	3.04	100	1.81	NA	1.86	NA	3.78	100	2.01	100
Sigmoid EC_{50} (µM)	NR[d]				NC		NC		NR[d]		NC	
Sigmoid E_{max} (fold change)												
Hill EC_{50} (µM)	NR[b]								NR[c]			
Hill E_{max} (fold change)												

Table 2.6.5.12.E: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 Enzyme Induction in Cryopreserved Primary Human Hepatocytes（続き）

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00494 / 4.2.2.4-10

Concentration (µM)	CYP2C19											
	mRNA						Activity					
	HC10-49		HC10-50		HC10-52		HC10-49		HC10-50		HC10-52	
	Fold Change	%PC	Fold Change	%PC	Fold Change	%PC	Fold Change	%PC	Fold Change	%PC	Fold Change	%PC
0 (vehicle, DMSO 0.1%)	1.00	0	1.00	0	1.00	0	1.00	0	1.00	0	1.00	0
0.025	1.12	10.2	1.11	3.66	0.992	NR[a]	1.11	0.430	1.08	0.480	1.02	0.646
0.075	1.02	1.57	1.12	3.88	1.11	5.25	1.05	0.182	1.09	0.561	1.10	2.98
0.25	1.09	7.39	1.23	7.74	1.23	11.4	1.62	2.49	1.23	1.35	1.24	7.07
0.75	0.995	NR[a]	1.64	21.5	1.50	24.4	2.22	4.94	1.61	3.67	1.35	10.1
2.5	1.23	19.3	2.07	36.0	1.41	20.0	3.64	10.7	2.00	5.98	1.32	9.22
7.5	1.39	33.3	2.55	51.9	1.41	20.1	3.61	10.5	2.29	7.73	1.11	3.26
25	2.13	96.5	2.92	64.4	1.04	2.01	1.66	2.66	1.73	4.41	0.805	NR[a]
30	2.00	85.5	2.96	65.8	1.02	0.931	1.35	1.42	0.980	NR[a]	0.685	NR[a]
25 µM Flumazenil	1.08	7.19	1.12	4.13	0.943	NR[a]	1.13	0.538	0.828	NR[a]	0.995	NR[a]
20 µM Rifampin	2.17	100	3.99	100	3.04	100	25.8	100	17.7	100	4.43	100
Sigmoid EC_{50} (µM)	NR[d]		2.05		NC		0.778		0.712		NC	
Sigmoid E_{max} (fold change)			1.81				2.63		1.15			
Hill EC_{50} (µM)	NR[b]		2.77				0.760		1.17			
Hill E_{max} (fold change)			2.26				2.83		1.49			

Abbreviations: CYP = cytochrome P450; DMSO = dimethyl sulfoxide; EC_{50} = concentration at which there is 50% maximal induction effect; E_{max} = maximal fold induction; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; mRNA = messenger ribonucleic acid; NA = not applicable; NC = not calculated; NR = not reported; PC = positive control; PXR = pregnane X receptor; qRT-PCR = quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction.
Notes: TPX-0005 caused concentration-dependent increases in CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 that were > 2-fold for 2 of the 3 donors.

[a] Not reported; calculated value is negative
[b] Not reported, high standard error
[c] Not reported; extrapolated E_{max} > 25% of highest observed fold change
[d] Not reported; high degree of uncertainty with curve fitting or with EC_{50} or E_{max} values

Table 2.6.5.12.F: Inhibition of UGT Enzymes

		Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
		Study No. / Location in CTD:	00237 / 4.2.2.4-11
Type of study:	Inhibition of UGT in Supersomes™ expressing human recombinant UGT enzymes		
Method:	Inhibition of probe substrate glucuronidation in test article concentration range of 0.1 to 100 µM; LC-MS/MS detection		
UGT enzyme	**Substrate**	**Substrate Concentration (µM)**	**TPX-0005 IC_{50} (µM)**
UGT1A1	Estradiol	10	1.60
UGT1A3	Sulindac sulfone	50	>100
UGT1A4	Trifluoperazine	2	29.0
UGT1A6	Naphthol	20	46.4
UGT1A9	Propofol	0.02	35.7
UGT2B7	Naloxone	50	48.7

Abbreviations: IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; UGT = uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.
Notes: TPX-0005 significantly inhibited UGT1A1 (IC_{50} = 1.60 µM), but the level of inhibition for other UGT isoforms is not expected to be clinically relevant. Reference inhibitors used as positive controls behaved as expected.

13 薬物動態試験：排泄

Table 2.6.5.13.A: Excretion into Rat Urine and Feces

Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)
Study No. / Location in CTD: 00273 / 4.2.2.2-8

Species:	Rat, Sprague Dawley
Sex (M/F) / Number of Animals:	M/3; F/3
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% CMC, 1% Tween-80 in deionized water
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose:	30 mg/kg (100 µCi/kg)
Analyte/Assay (unit):	^{14}C/liquid scintillation counting (ng Equivalents [^{14}C]-TPX-0005/g)

Sex / No. of Animals	Timepoint (h)	Recovery (% Dose)						
		Urine	Feces	Cage Rinse	Cage wash	Cage Wipe	Carcass	Total
M/3	0 – 8	1.94 ± 0.84	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	0 – 24	4.96 ± 0.53	67.6 ± 17.8	0.15 ± 0.012	ND	ND	ND	ND
	0 – 48	5.33 ± 0.58	83.5 ± 4.45	0.24 ± 0.054	ND	ND	ND	ND
	0 – 72	5.56 ± 0.79	84.8 ± 3.87	0.34 ± 0.16	ND	ND	ND	ND
	0 – 96	5.63 ± 0.82	85.1 ± 3.84	0.43 ± 0.29	ND	ND	ND	ND
	0 – 120	5.68 ± 0.87	85.3 ± 3.81	0.47 ± 0.35	ND	ND	ND	ND
	0 – 144	5.71 ± 0.91	85.4 ± 3.79	0.50 ± 0.39	ND	ND	ND	ND
	0 – 168	5.74 ± 0.92	85.8 ± 3.25	ND	0.38 ± 0.51	0.25 ± 0.29	0.76 ± 0.06	93.4 ± 1.13
F/3	0 – 8	1.69 ± 0.22	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	0 – 24	2.77 ± 0.14	69.1 ± 3.86	0.087 ± 0.030	ND	ND	ND	ND
	0 – 48	3.07 ± 0.17	82.0 ± 3.16	0.14 ± 0.027	ND	ND	ND	ND
	0 – 72	3.17 ± 0.17	85.0 ± 3.41	0.16 ± 0.027	ND	ND	ND	ND
	0 – 96	3.21 ± 0.18	85.8 ± 3.72	0.17 ± 0.028	ND	ND	ND	ND
	0 – 120	3.24 ± 0.18	86.2 ± 3.78	0.18 ± 0.028	ND	ND	ND	ND
	0 – 144	3.26 ± 0.18	86.4 ± 3.79	0.19 ± 0.028	ND	ND	ND	ND
	0 – 168	3.27 ± 0.19	86.6 ± 3.82	ND	0.045 ± 0.019	0.055 ± 0.022	0.83± 0.046	91.0 ± 3.89

Abbreviations: CMC = carboxymethylcellulose; ND = not determined.
Note: Data represent means ± standard deviation.

Table 2.6.5.13.B: Excretion into Bile, Urine and Feces in Intact and Bile Duct Canulated Rats

	Test Article: Repotrectinib (TPX-0005) **Study No. / Location in CTD:** 00403 / 4.2.2.4-1
Species/Strain:	Rat, Sprague Dawley
Sex/Number of Animals:	M/3 and F/3 (Intact rats); M/3 and F/3 (Bile duct cannulated rats)
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) CMC, 1% (v/v) Tween-80 in water
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose:	50 mg/kg (200 µCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]-TPX-0005
Specific Activity:	Intact rats: ~3.91 µCi/mg; Bile duct cannulated rats: ~4.09 µCi/mg
Analyte/Assay (unit):	^{14}C/liquid scintillation counting (ng Equivalents [^{14}C]-TPX-0005/g)
Sampling Time:	***Excretion balance (intact rats):*** **Urine:** Predose, 0-8, 8-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hours post-dose; **Feces:** Predose, 0-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hours post-dose; **Expired air:** 0-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120 hours post-dose; **Cage wash (water; 100 mL):** 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 hours post-dose; **Cage wash (methanol; 100 mL):** 168 hours post-dose ***Biliary excretion (bile duct cannulated rats):*** **Bile:** Predose, 0-4, 4-8, 8-24, 24-48, 48-72 hours post-dose; **Urine:** 0-8, 8-24, 24-48, 48-72 hours post-dose; **Feces:** 0-24, 24-48, 48-72 hours post-dose; **Cage wash (water; 100 mL):** 24, 48, 72 hours post-dose; **Cage wash (methanol; 100 mL):** 72 hours post-dose

Table 2.6.5.13.B: Excretion into Bile, Urine and Feces in Intact and Bile Duct Canulated Rats（続き）

			Test Article: Repotrectinib (TPX-0005) **Study No. / Location in CTD:** 00403 / 4.2.2.4-1	
Matrix	**% Dose (0-168 hours)[a] Mean ± SD Intact Rats**		**% Dose (0-72 hours) Mean ± SD Bile Duct Cannulated Rats**	
	Male (n=3)	**Female (n=3)**	**Male (n=3)**	**Female (n=3)**
Bile	ND	ND	10.27 ± 1.63	5.64 ± 0.48
Urine	2.00 ± 0.90	1.74 ± 0.12	3.61 ± 0.58	3.57 ± 1.45
Feces	94.00 ± 14.08	84.43 ± 9.18	81.31 ± 3.81	86.81 ± 4.42
Cage Wash	0.14 ± 0.07	0.11 ± 0.01	0.14 ± 0.09	0.17 ± 0.12
Expired Air	0.05 ± 0.04	0.01 ± 0.02	ND	ND
Carcass	0.30 ± 0.11	0.11 ± 0.01	ND	ND
Total Recovery	96.50 ± 15.06	86.39 ± 9.06	95.32 ± 1.61	96.20 ± 5.17

Abbreviations: CMC = carboxymethylcellulose; ND = not determined; SD = standard deviation.

[a] The total recovery of radioactivity in intact male rats over 0-24 h was 89.27% [1.89% (urine), 87.21% (feces), 0.13% (cage wash), 0.04% (expired air)]; and in female rats was 79.55% [1.58% (urine), 77.87% (feces), 0.09% (cage wash), 0.01% (expired air)].

Table 2.6.5.13.C: Excretion into Cynomolgus Monkey Urine and Feces

	Test Article: Repotrectinib (TPX-0005) **Study No. / Location in CTD:** 00402 / 4.2.2.4-2
Species/Strain:	Monkey, Cynomolgus
Sex/Number of Animals:	M/3; F/3
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) CMC, 1% (v/v) Tween-80 in water
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose:	100 mg/kg (200 µCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]-TPX-0005
Specific Activity:	~2.04 µCi/mg
Analyte/Assay (unit):	^{14}C/liquid scintillation counting (ng Equivalents [^{14}C]-TPX-0005/g)
Sampling Time:	**Urine:** Predose, 0-4, 4-8, 8-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hours post-dose **Feces:** Predose, 0-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hours post-dose **Cage wash (water; ca 1 L):** 72, 96, 120, 144, 168 hours post-dose **Cage wash (methanol; ca 1 L):** 168 hours post-dose

Matrix	**% Dose (0-168 hours)[a] Total Mean ± SD**	
	Male (n=3)	**Female (n=3)**
Urine	0.43 ± 0.17	0.82 ± 0.06
Feces	62.89 ± 19.32	65.46 ± 23.12
Cage Wash	1.45 ± 0.37	2.31 ± 1.49
Cage Debris[b]	17.05 ± 6.47	15.63 ± 12.37
Total Recovery	81.82 ± 12.94	84.22 ± 10.00

Abbreviations: CMC = carboxymethylcellulose; SD = standard deviation.

[a] Approximately 4% of the dose was recovered in the 144-168 hour-interval post dose for both male and female monkeys, indicating that the elimination of radioactivity was not complete at the end of the study.

[b] Calculated from total radioactivity in cage debris homogenates and tissue wipes extracted in acetonitrile.

Table 2.6.5.13.D: Excretion into Human Urine and Feces

	Test Article: Repotrectinib (TPX-0005) **Study No. / Location in CTD:** TPX-0005-09 / 5.3.3.1-1
Species:	Healthy male subjects
Sex/Number:	Male/7 healthy human subjects
Method of Administration:	Oral (single dose; oral suspension)
Dose:	160 mg dose of [^{14}C]-TPX-0005 containing approx. 100 µCi of [^{14}C]-radiolabeled material
Radionuclide:	[^{14}C]-TPX-0005
Sampling Time:	**Urine:** 0-4, 4-8, 8-12, 12-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168, 168-192, 192-216, 216-240, 240-264, 264-288, 288-312, 312-336, 336-360, 480-504, 648-672 hours post-dose **Feces:** 0-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168, 168-192, 192-216, 216-240, 240-264, 264-288, 288-312, 312-336, 336-360, 480-504, 648-672 hours post-dose

Matrix	**% Dose (0-672 hours [Day 29]) Total Mean ± SD**	
	Cumulative Ae[a] (mg equivalents ± SD) (N = 6[c])	**Cumulative Fe[b] (% ± SD) (N = 6[c])**
Total Radioactivity (Urine)	7.96 ± 2.31	4.84 ± 1.43
Total Radioactivity (Feces)	146 ± 4.10	88.8 ± 2.77
Total Radioactivity (Urine + Feces)	154 ± 3.56	93.7 ± 2.71

Abbreviations: Ae = amount of total radioactivity excreted over the sampling interval; Fe = percentage of total radioactivity excreted over the sampling interval; SD = standard deviations.

Notes: Most of the radioactivity, a total of 91.0% (4.77% in urine and 86.2% in feces) was recovered in the 0-216-hour interval post dose.

[a] Total amount excreted in urine is presented for urine. Total amount excreted in feces is presented for feces.

[b] Total percentage excreted in urine is presented for urine. Total percentage excreted in feces is presented for feces.

[c] Due to low recovery, subject 1007 was excluded from calculation of mean and SD.

14 薬物動態試験：薬物相互作用

Table 2.6.5.14.A: Permeability and P-gp/BCRP Transporter Assays

		Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
		Study No. / Location in CTD:	00106 / 4.2.2.6-1
Type of study:	P-gp and BCRP substrate assays		
Method:	Incubation of test compounds for 2 hours with Caco-2 monolayers in the absence or presence of P-gp inhibitor (verapamil) or BCRP inhibitor (novobiocin); LC-MS/MS detection of test articles		

Test Compound	**P_{app} (10^{-6} cm/s)**		**Efflux Ratio[a]**
	A → B	**B → A**	
Talinolol (10 µM) – P-gp efflux control	0.079	9.9	125
+ 100 µM verapamil	0.59	1.2	2.0
TPX-0005 (10 µM)	5.7	41.4	7.3
+ 100 µM verapamil	15.3	16.3	1.1
Estrone-3-sulfate (10 µM) – BCRP efflux control	0.34	27.9	82.1
+ 50 µM novobiocin	2.0	1.6	0.80
TPX-0005 (10 µM)	5.7	41.4	7.3
+ 50 µM novobiocin	10.0	33.3	3.3

Abbreviations: A = apical; B = basolateral; BCRP = breast cancer resistance protein; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; P_{app} = apparent permeability rate coefficient; P-gp = P-glycoprotein.
Notes: Data shown are mean values. Results suggest that TPX-0005 is a P-gp substrate and likely a BCRP substrate.

[a] Efflux ratio = P_{app} (B → A) / P_{app} (A → B)

Table 2.6.5.14.B: Permeability and P-gp Transporter Assays

		Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
		Study No. / Location in CTD:	00493 / 4.2.2.6-2
Type of study:	P-gp substrate assays		
Method:	Incubation of TPX-0005 for up to 2 hours with Caco-2-cells in the absence or presence of P-gp inhibitor (valspodar at 1 and 10 µM; verapamil at 1, 10 and 60 µM); test article sampling time for donor at 0 min and receiver at 15, 30 and 120 min; LC-MS/MS detection of test articles Positive control substrate: Digoxin (10 µM); sampling time for donor at 0 and 120 min and receiver at 120 min		

Test Compound	**P_{app} (10^{-6} cm/s)**		**Efflux Ratio[a]**
	A → B	**B → A**	
Digoxin (10 µM) – P-gp efflux control	0.826	12.1	14.6
+ 1 µM valspodar	4.98	6.99	1.40
+ 10 µM valspodar	5.52	5.96	1.08
Digoxin (10 µM) + 1 µM verapamil	1.04	12.0	11.6
+ 10 µM verapamil	2.41	9.15	3.79
+ 60 µM verapamil	4.63	7.36	1.59
TPX-0005 (0.2 µM)	4.42	32.3	7.28
TPX-0005 (0.6 µM)	4.71	30.8	6.55
TPX-0005 (2 µM)	5.14	32.4	6.31
TPX-0005 (6 µM)	7.01	32.2	4.59
TPX-0005 (20 µM)	6.90	49.7	7.20
TPX-0005 (60 µM)	12.4	72.3	5.81[b]
TPX-0005 (100 µM)	23.5	69.0	2.93[b]
TPX-0005 (2 µM) + valspodar (1 µM)	16.4	27.4	1.67
TPX-0005 (2 µM) + valspodar (10 µM)	17.1	24.2	1.41
TPX-0005 (2 µM) + verapamil (1 µM)	4.66	30.3	6.50
TPX-0005 (2 µM) + verapamil (10 µM)	6.31	29.4	4.66
TPX-0005 (2 µM) + verapamil (60 µM)	1.75	5.09	2.90

Abbreviations: A = apical; B = basolateral; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; P_{app} = apparent permeability rate coefficient; P-gp = P-glycoprotein; TEER = trans-epithelial electrical resistance.

Notes: Data shown are mean values of triplicate determinations. The efflux ratios for all concentrations of TPX-0005 tested (0.2 to 100 µM) were greater than 2. At 2 µM, the efflux ratio of 6.31 was reduced by > 50% in the presence of inhibitors valspodar (1 and 10 µM) and verapamil (60 µM). TPX-0005 was a substrate for P-gp in Caco-2 cells.

[a] Efflux ratio = P_{app} (B → A) / P_{app} (A → B)

[b] Samples had low post-assay TEER values and increased permeability of lucifer yellow in the Lucifer Yellow assay.

Table 2.6.5.14.C: Human ABC and SLC Transporter Substrate Assays

			Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)		
			Study No. / Location in CTD: 00453 / 4.2.2.6-3		
Type of study:	ABC and SLC Transporter Substrate Potential in Cells and Vesicles				
Method:	Evaluation of transporter substrate potential by measuring TPX-0005 transport in the presence and absence of transporter inhibitors; LC-MS/MS or liquid scintillation counting.				
Transporter	**Test system**	**Experimental design**	**TPX-0005 (µM)**	**Incubation time (min)**	**Potential substrate[a]**
BSEP	Vesicles	Accumulation of test article in vesicles	1, 3, 5 and 10	1, 3 and 10	No
OATP1B1	HEK293 cells	Accumulation of test article in cells			No
OATP1B3					No[b]
OAT1					No[c]
OAT3					No[c]
OCT1					No[c]
OCT2					No
MATE1					No[c]
MATE2-K					Yes[c]

Abbreviations: ABC = ATP-binding cassette transporter; BSEP: bile salt export pump; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; MATE = multidrug and toxin extrusion protein; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; SLC = solute carrier.

[a] Uptake ratio ≥ 2 and reduced by 50% in presence of inhibitor

[b] Conclusions could only be made for the 1 and 3 µM concentrations as at 1 µM uptake ratios > 2 were not reduced by 50% in the presence of inhibitor and at 3 µM uptake ratios were < 2. Conclusions could not be made for the 5 and 10 µM concentrations, even though some uptake ratios were > 2, as these concentrations were not incubated with inhibitor.

[c] Conclusions could only be made for the 1 µM concentration. Conclusions could not be made for the 3, 5 or 10 µM concentration, even though some uptake ratios were > 2, as these concentrations were not incubated with inhibitor.

Table 2.6.5.14.D: P-gp and BCRP Inhibition Assays

			Test Article: Repotrectinib (TPX-0005)	
			Study No. / Location in CTD: 00227 / 4.2.2.6-4	
Type of study:	P-gp and BCRP inhibition			
Method:	Evaluation of the effects of TPX-0005 on probe substrate transport in MDCK-MDR1 (P-gp) or Caco-2 (BCRP) cell monolayers; LC-MS/MS detection of probe substrates			
Assay	**Probe Substrate**	**Test Article**	**Inhibitor Concentration Range (µM)**	**IC_{50} (µM)**
P-gp inhibition in MDCK-MDR1 monolayers	Loperamide (10 µM)	TPX-0005	0.25 - 60	16.7
		Verapamil	0.41 - 100	8.5
BCRP inhibition in Caco-2 monolayers	Estrone-3-sulfate (10 µM)	TPX-0005	0.25 - 60	6.9
		Novobiocin	0.10 - 25	0.58

Abbreviations: BCRP = breast cancer resistance protein; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR1 = multi-drug resistance 1; P-gp = P-glycoprotein.
Notes: TPX-0005 inhibited P-gp- and BCRP-mediated transport of probe substrates in a concentration-dependent manner.

Table 2.6.5.14.E: Human SLC Transporter Inhibition Assays

			Test Article:	Repotrectinib (TPX-0005)
			Study No. / Location in CTD:	00238 / 4.2.2.6-5
Type of study:	Human SLC transporter inhibition			
Method:	Evaluation of the effects of TPX-0005 (concentration range of 0.3 to 100 µM) on probe substrate transport in HEK293 cells expressing human SLC transporters; liquid scintillation counting of probe substrates (radioactivity) in cell lysates			
Transporter	**Probe Substrate**	**Substrate Conc. (µM)**	**Incubation Time (min)**	**TPX-0005 IC_{50} (µM)**
OATP1B1	[^{3}H]-Estradiol 17β-D-glucuronide	0.02	2	2.35
OATP1B3	[^{3}H]-Estradiol 17β-D-glucuronide	0.02	2	25.3
OAT1	[^{3}H]-p-Aminohippuric acid	20	5	42.7
OAT3	[^{3}H]-Estrone 3-sulfate	14.5	3	15.2
OCT2	[^{14}C]-Metformin	100	5	50.7
MATE1	[^{14}C]-Metformin	100	1.5	4.13
MATE2-K	[^{14}C]-Metformin	100	1.5	0.726

Abbreviations: HEK = human embryonic kidney; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; MATE = multidrug and toxin extrusion protein; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; SLC = solute carrier.
Notes: TPX-0005 inhibited probe substrate transport in transfected HEK293 cells mediated via OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 and MATE2-K with IC_{50} values ranging from 0.726 µM (MATE2-K) to 50.7 µM (OCT2). Control inhibitor compounds performed as expected.

15 薬物動態試験：その他

その他の薬物動態試験は実施しなかった。