第 2 部（モジュール 2）
CTD の概要

2.6.4 薬物動態試験の概要文

ネクセラファーマジャパン株式会社

目次

1. まとめ....7
2. 分析法....10
3. 吸収....11
3.1 ダリドレキサントの単回投与薬物動態....11
3.2 血漿クリアランス及び半減期....15
3.3 吸収及びバイオアベイラビリティ....15
3.4 用量比例性....15
3.5 性差....16
3.6 食餌の影響....16
3.7 粒子サイズ....16
3.8 製剤....16
3.9 塩形態....17
3.10 個体間変動....18
3.11 腸肝循環....18
3.12 ダリドレキサントの反復投与薬物動態....18
4. 分布....19
4.1 分布容積....19
4.2 血漿タンパク結合及び血球移行....19
4.2.1 *In vitro* における血漿タンパク結合....19
4.2.2 *Ex vivo* における血漿タンパク結合....21
4.2.3 ヒトの血清アルブミン及び α1-酸性糖タンパクに対する結合....22
4.2.4 血球移行....22
4.3 ラットにおける脳内移行....23
4.4 ラットにおける全身オートラジオグラフィー....24
4.5 乳汁中排泄....24
4.6 薬物消失における輸送過程....25
4.6.1 細胞膜透過性....25
4.6.2 多剤耐性タンパク....25
4.6.2.1 ダリドレキサント....25
4.6.2.2 ダリドレキサントの代謝物....26
4.6.3 乳がん耐性タンパク....26
4.6.3.1 ダリドレキサント....26
4.6.3.2 ダリドレキサントの代謝物....27
4.6.4 有機アニオン輸送ポリペプチド....27
5. 代謝....28
5.1 代謝物の化学構造及び代謝経路....28
5.2 *In vitro* における代謝の種差....30

5.2.1 肝ミクロソームにおける代謝.....30
5.2.2 肝細胞における代謝.....32
5.3 ラットにおける代謝.....32
5.4 マウスにおける代謝.....33
5.5 代謝酵素.....35
5.6 動物におけるチトクローム P450 及びグルクロン酸転移酵素の誘導.....37
6. 排泄.....39
6.1 ラットにおける排泄.....39
7. 薬物動態学的薬物相互作用.....39
7.1 ダリドレキサントの被相互作用薬としての可能性.....39
7.1.1 チトクローム P450 阻害剤及び誘導剤の影響.....39
7.1.2 薬物トランスポーター阻害剤の影響.....39
7.2 ダリドレキサントの相互作用薬としての可能性.....40
7.2.1 チトクローム P450 阻害.....40
7.2.1.1 競合阻害.....40
7.2.1.2 時間依存的阻害.....41
7.2.2 チトクローム P450 誘導.....43
7.2.2.1 ヒトプレグナン X 受容体活性化.....43
7.2.2.2 チトクローム P450 誘導.....43
7.2.3 薬物トランスポーター阻害.....44
7.3 生理学的薬物速度論モデルを用いた薬物相互作用の予測.....45
7.3.1 PBPK モデルの検証.....46
7.3.2 被相互作用薬としての評価.....48
7.3.2.1 CYP3A4 阻害剤.....48
7.3.2.2 CYP3A4 誘導剤.....49
7.3.3 相互作用薬としての評価.....49
8. その他の薬物動態試験.....49
9. 考察及び結論.....49
10. 参考文献.....56

表目次

表 1. ラット及びイヌにダリドレキサント塩酸塩を単回静脈内投与したときのダリドレキサントの薬物動態パラメータ.....12
表 2. ラットにダリドレキサント塩酸塩を単回経口投与したときのダリドレキサントの薬物動態パラメータ.....13
表 3. イヌにダリドレキサント塩酸塩を単回経口投与したときのダリドレキサントの薬物動態パラメータ.....14
表 4. イヌに脂質ベースの溶液製剤及び標準の固形製剤として単回経口投与したときのダリドレ

キサントの薬物動態パラメータ 17
表 5. 雄のラット及びイヌに反復経口投与したときのダリドレキサントの曝露量 19
表 6. マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるダリドレキサント及びその主要代謝物の血漿タンパク非結合型の割合 21
表 7. マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるダリドレキサントの血球移行 23
表 8. ラットにおけるダリドレキサントの脳内移行 23
表 9. ラットにおけるダリドレキサント及びその主要代謝物の乳汁中排泄 25
表 10. MDR1/P-gp を発現した MDCKI 細胞におけるダリドレキサントの主要代謝物の細胞膜透過性 26
表 11. BCRP を発現した MDCKI 細胞におけるダリドレキサントの主要代謝物の細胞膜透過性 27
表 12. 各種の肝ミクロソーム及び肝細胞とインキュベーションしたときのダリドレキサントの代謝プロファイル 31
表 13. ダリドレキサント及びその主要代謝物によるチトクローム P450 の競合阻害 41
表 14. ダリドレキサント及びその主要代謝物によるチトクローム P450 の時間依存的阻害 42
表 15. ダリドレキサント及び M1 による CYP3A4 の時間依存的阻害パラメータ 43
表 16. ダリドレキサント及びその主要代謝物によるヒト PXR 活性化 43
表 17. ダリドレキサント及びその主要代謝物による薬物トランスポーター阻害 45
表 18. 25 及び 50 mg のダリドレキサントの薬物動態に及ぼす CYP3A4 阻害剤及び誘導剤の影響 47
表 19. CYP3A4 基質（ミダゾラム）及び BCRP 基質（ロスバスタチン）の薬物動態に及ぼす 25 及び 50 mg のダリドレキサントの影響 48
表 20. 健康白人被験者の定常状態におけるダリドレキサント及びその主要代謝物の最高血漿中濃度 52

図目次

図 1. ダリドレキサントの推定代謝経路 29
図 2. ダリドレキサントの代謝に関与するチトクローム 450 分子種 36
図 3. 4 週間毒性試験の肝臓検体におけるラット CYP2B1/2、CYP3A1、UGT1A1/6 及び UGT2B1、並びにイヌ CYP3A12 の mRNA 誘導 38

略語

略語	略さない用語	日本語訳
α1-AGP	Alpha 1-acid glycoprotein	α1-酸性糖タンパク
A-B	Apical to basolateral	頂端膜側から基底膜側
ADME	Absorption, distribution, metabolism, elimination	吸収、分布、代謝及び排泄

略語	略さない用語	日本語訳
AUC_{0-24}	Area under the plasma concentration vs time curve from 0 to 24 h	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-inf}	Area under the plasma concentration vs time curve extrapolated to infinity	0 時間から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積
B-A	Basolateral to apical	基底膜側から頂端膜側
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳がん耐性タンパク
C_{9h}	Plasma concentrations at 9 h post dose	投与 9 時間後における血漿中濃度
CAR	Constitutive androstane receptor	構成的アンドロスタン受容体
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450 isomer	チトクローム P450 分子種
DDI	Drug-drug interaction	薬物相互作用
EC_{50}	Concentration that gives half-maximal response	最大効果の 50%の効果をもたらす濃度
E_{max}	Maximal effect	最大誘導作用
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FMO	Flavin-containing monooxygenase	フラビン含有モノオキシゲナーゼ
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
GMR	Geometric mean ratio	幾何平均比
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	Concentration that causes 50% inhibition	50%阻害濃度
K_b	Equilibrium dissociation constant	平衡解離定数
K_I	Inactivation constant	最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす濃度
K_i	Inhibition constant	阻害定数
k_{inact}	Rate constant of enzyme inactivation	最大不活性化速度定数
K_m	Michaelis-Menten constant	ミカエリス定数
LC-MS/MS	Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィーータンデム質量分析
$logD_{7.4}$	Distribution coefficient at pH 7.4	pH 7.4 における分配係数
MAD	Multiple-ascending dose	反復用量漸増投与
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein	多剤・毒性化合物排出タンパク
MDCK	Madin-Darby canine kidney	メイディンーダービーイヌ腎臓
MDR	Multidrug resistance protein	多剤耐性タンパク
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸

略語	略さない用語	日本語訳
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
OX1/2R	Orexin receptor type 1/2	オレキシン 1/2 受容体
P450	Cytochrome P450 enzyme	チトクローム P450 酵素
P_{app}	Apparent absorptive permeability coefficient	みかけの透過係数
PBPK	Physiology-based pharmacokinetic	生理学的薬物速度論
PCR	Polymerase chain reaction	ポリメラーゼ連鎖反応
PEG	Polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
P-gp	Permeability glycoprotein	P-糖タンパク
PXR	Pregnane X receptor	プレグナン X 受容体
RNA	Ribonucleic acid	リボ核酸
SAD	Single-ascending dose	単回用量漸増投与
$t_{1/2}$	Apparent terminal half-life	みかけの最終相半減期
t_{max}	Time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
UGT	Uridine 5’-diphospho-glucuronyltransferase	ウリジン 5’-二リン酸-グルクロン酸転移酵素
V_{max}	Maximum rate of an enzyme	最大速度
V_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積
w/v	Weight/Volume	重量/容量

1. まとめ

睡眠薬の理想的な薬理学的プロファイルは、服薬後の速やかな入眠、一晩を通した睡眠維持及び翌朝まで薬効が残らないことを併せ持つことである。創薬段階において、ダリドレキサントの分布と消失のバランスは適切であることが、薬物固有の特性として明らかになっていた[Treiber 2017]。そこで、非臨床薬物動態試験では、製剤学的に速やかに入眠できる方法を特定することに重点を置いた。この目的のために、ダリドレキサントの吸収に及ぼす粒子サイズ、脂質ベースの製剤及び食餌の影響について詳細に検討した。これらの結果を用いて、初期の生理学的薬物速度論（PBPK）モデルを改良した。また、本 PBPK モデルは、ヒトにおける薬物動態プロファイルを予測するため、及び臨床薬物相互作用（DDI）試験を補完することを目的に、第 3 相臨床試験で用いる最高用量である 50 mg での DDI を予測するために用いた。

ダリドレキサントの非臨床薬物動態試験は、試験実施時に発効されていた、関連するすべての規制ガイドラインに準拠して実施した。また、薬物動態及び毒性試験から得られた血漿検体を分析するために用いる分析法を開発し、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠してバリデーションを実施した。ダリドレキサントの薬物動態プロファイルは、一般毒性試験で用いた動物種及び系統である Wistar ラット及びビーグル犬を用いて検討した。また、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）阻害は、DDI に関する最新の米国食品医薬品局（FDA）ガイドラインに沿って、プレインキュベーション時間を設定して評価した。なお、試験実施時にチトクローム P450 分子種（CYP）の 1 つである CYP3A4 の基質（ミダゾラム）を用いた臨床 DDI 試験結果が得られていたため、CYP2C9 及び CYP3A4 に対するダリドレキサントの主要代謝物の誘導能は、ヒト肝細胞ではなく、プレグナン X 受容体（PXR）活性化のみで評価した。

ダリドレキサントは脂溶性の弱塩基性化合物であり、生理学的条件下では水溶液への溶解度は限定的である。一方、ダリドレキサントの細胞膜透過性は良好であり、排出ポンプである多剤耐性タンパク 1/ P-糖タンパク（MDR1 / P-gp）及び乳がん耐性タンパク（BCRP）の基質ではないため、ヒトにおける経口吸収は受動拡散によると考えられる。ラット及びイヌにおける速やかな吸収は、粒子サイズ、可溶化剤の製剤への添加及び胃内の食餌の有無に依存した。また、両動物種における最高血漿中濃度（C_{max}）は、おおむね投与後 1 時間以内に達し、高用量では吸収が遅延する傾向を示した。イヌにダリドレキサントを摂餌下で投与したとき、ダリドレキサントの吸収は約 30%増加したが、これは、胆汁酸塩の分泌により、薬物の溶解が促進されたことに起因すると考えられる。また、ダリドレキサントの塩酸塩（ACT-541468A）を用いたとき、ラットにおける曝露量は 2.5 倍に増加したが、ダリドレキサント塩酸塩は速やかに溶解するために過飽和状態を引き起こし、その結果、経口吸収が促進されたと考えられる。さらに、ラットにおける代謝試験結果に基づくと、ダリドレキサントはほぼ完全に経口吸収されると考えられる。

ダリドレキサントの血漿タンパク結合率はすべての種で高かったが、非結合型分率は、ウサギ及びヒトでは 0.3～0.5%、ラット、マウス及びイヌでは 2.4～2.8%と、顕著な種差が認められた。また、低濃度で血漿タンパク結合の飽和が認められた。したがって、薬理及び毒性試験の結果を解釈する際には、タンパク結合におけるこれらの種差及び非線形性を考慮に入れる必要がある。また、血漿中非結合型濃度の増加により薬物の組織移行が促進されるため、ラット及びイヌで認められた定常状態における分布容積（V_{ss}）の用量依存的な増加及びみかけの最終相半減期

（$t_{1/2}$）の用量依存的な延長は、血漿タンパク結合の非線形性に起因すると考えられる。*In vitro* において、ダリドレキサントはヒトの血清アルブミン及び α1-酸性糖タンパク（α1-AGP）に結合した。α1-AGP との結合は飽和するため、これが血漿タンパク結合の非線形性の原因であると考えられる。一方、単回用量漸増投与（SAD）試験である AC-078-101 試験から得られた検体を用いた *ex vivo* における血漿タンパク結合率の範囲は 99.7～99.9%と狭く、結合率と血漿中総濃度との間に相関は認められなかった。したがって、*in vitro* におけるヒト血漿タンパク結合で認められた非線形性は、臨床的に意味はないと考えられる。

組織分布の一般的な指標である V_{ss} は総体液量を上回っていたことから、全体的な組織移行は良好であることが示された。また、ダリドレキサントはヒト排出ポンプである MDR1/P-gp 及び BCRP の基質ではなく、取込みトランスポーターである OATP の基質でもなかったことから、脳を含む組織移行は受動拡散によると予想される。これらのことと一致して、白色及び有色ラットを用いた全身オートラジオグラフィー試験において、薬物由来物質は速やかに吸収され、広く分布した。最も高い放射能濃度は、ダリドレキサントの排泄器官である肝臓及び腎臓、並びに副腎、褐色脂肪及び心筋において認められた。一方、白色脂肪、鼻粘膜、骨表面、ブドウ膜/網膜及び脈絡叢における放射能濃度は低かった。また、脳における放射能は投与 0.5 時間後のみに認められ、血液中濃度の 34%であった。さらに、ダリドレキサントはメラニン結合しないことが示唆された。

ラット及びイヌにおける血液クリアランスは、それぞれの肝血流量の 45～65%であり、両動物種において、ダリドレキサントは中程度のクリアランス化合物に分類された。また、血漿クリアランスは、検討した用量範囲でほぼ一定であった。ラットでは、ダリドレキサントは代謝により消失した。また、胆汁中排泄が主排泄経路であり、尿中に排泄された薬物由来物質はわずかであった。さらに、薬物由来物質は、投与後 72 時間の採取期間内にほぼ完全に排泄された。

ヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた試験結果に基づくと、ダリドレキサントは 5 つの経路で代謝された。一次代謝物である M3～M5 は、チトクローム P450 酵素（P450）による触媒反応条件下、肝ミクロソームにおいて認められた。M3 は、ベンゾイミダゾール部分のメチル基が対応するベンジルアルコールに水酸化されて生成したものであり、M4 は、アニソール部分の酸化的脱メチル化により生成したものである。M5 は、最初にピロリジン環の 2 位の水酸化、続いて開環アミノアルデヒドへの加水分解、その後のベンゾイミダゾール部分とアルデヒドの再環化により、最終的にピペリジノール構造を形成したものである。これら 3 種類すべての一次代謝物は、更に代謝された。アルコールである M3 は、酸化されてアルデヒドである中間体の M1 を介して、酸である M2 を生成した。M4 は、水酸化されて M7 を生成するか、若しくはグルクロン酸抱合されて M9 を生成した。M5 は、M7 及び M10 を生成した。肝ミクロソームにおいて、CYP3A4 がダリドレキサントの代謝に関与する主要な酵素であり、*in vitro* における代謝クリアランスの 89%を占めた。CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 も一部関与することが示されたが、いずれも 3%未満であった。M6 及び M8 は肝細胞のみで認められたため、P450 以外の酵素が関与している可能性が考えられる。

ダリドレキサントは、マウス及びラットにおいて代謝された。肝ミクロソーム及び肝細胞で認められた代謝物以外に、*in vitro* では検出されなかった多数の下流代謝物が *in vivo* で認められ

た。また、ラットにおいて別の 2 つの代謝経路が同定されたが、全体的な重要性はともにマイナーであった。

ヒトにおける吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）試験において、M1、M3 及び M10 が主要代謝物として同定された。そこで、ダリドレキサント及びその主要代謝物を同時に測定する分析法を開発し、すべての動物種及びヒトにおいてバリデーションを実施した。その結果、トキシコキネティクスデータから、これらの代謝物は毒性試験で適切に評価されていることが示された。

上述したように、ダリドレキサントは主に CYP3A4 によりほぼ完全に代謝された後、排泄された。また、*in vitro* 試験結果と一致して、ダリドレキサントの薬物動態は CYP3A4 活性の変化によって影響されることが、ジルチアゼム及びエファビレンツを用いた臨床 DDI 試験において示されている。一方、ダリドレキサントは排出ポンプである MDR1/P-gp 及び BCRP の基質ではなく、取込みトランスポーターである OATP の基質でもないため、薬物トランスポーターの阻害剤はダリドレキサントの消失に影響しないことが予想される。

ダリドレキサントは複数の P450 分子種を阻害した。最も強い阻害は CYP3A4 で認められ、阻害定数（K_i）は 4.6～4.8 μmol/L であった。ダリドレキサントは CYP3A4 に対して弱い時間依存的阻害も示した。また、ヒト PXR を活性化し、ヒト肝細胞において CYP3A4 のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）発現を増加させた。さらに、ダリドレキサントは複数のトランスポーターを阻害し、特に BCRP に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）は 3.0 μmol/L であった。これらの *in vitro* 試験結果の臨床上の重要性は、CYP3A4 及び BCRP の基質として、それぞれミダゾラム及びロスバスタチンを用いた臨床 DDI 試験において検討した。25 mg の用量で、ダリドレキサントはミダゾラム及びロスバスタチンの薬物動態に影響を及ぼさなかったことから、25 mg のダリドレキサントは CYP3A4 の阻害剤でも誘導剤でもなく、BCRP の阻害剤でもないことが示唆された。この CYP3A4 に関する結論は、75 mg までの用量でダリドレキサントを反復投与したとき、自己誘導が認められなかったことからも確認されている。

両臨床 DDI 試験の結果から、ダリドレキサントは他の P450 分子種及びトランスポーターの阻害剤でもないと結論づけることができる。ダリドレキサントは、ヒト PXR を活性化したが、ヒト構成的アンドロスタン受容体（CAR）は活性化しなかった。したがって、CYP3A4 を誘導しなかったことから、臨床において、ダリドレキサントは CYP2B6 及び CYP2C9 も誘導しないことが示唆される。さらに、*in vitro* において、ダリドレキサントは CYP1A2 も誘導しなかった。

大部分の臨床 DDI 試験は、ダリドレキサントの 2 つの重要な第 3 相臨床試験に共通の用量である 25 mg で実施した。そこで、臨床 DDI 試験を補完するために、PBPK モデルを用い、50 mg のダリドレキサントが併用する CYP3A4 及び BCRP 基質に及ぼす影響を予測した。PBPK モデルを用いた予測から、ダリドレキサントは 50 mg の用量で、ロスバスタチンの薬物動態には影響を及ぼさないが、ミダゾラムの曝露量をわずかに減少させることが示唆された。また、中程度の CYP3A4 阻害剤及び誘導剤として、それぞれジルチアゼム及びエファビレンツを用いた臨床 DDI 試験を補完するために、弱い、中程度及び強い CYP3A4 阻害剤、並びに中程度及び強い CYP3A4 誘導剤との DDI について予測した。その結果、ダリドレキサントの薬物動態は、CYP3A4 活性の変化に対して影響を受けることが示された。

ダリドレキサントの主要代謝物である M1、M3 及び M10 について、血漿タンパク結合、血液

脳関門に発現する排出ポンプに対する親和性、並びに P450 の阻害又は誘導及び薬物トランスポーターを介した DDI を引き起こす可能性を明らかにした。未変化体であるダリドレキサントと同様に、すべての代謝物の血漿タンパク結合率は高く、顕著な種差を示した。また、主要代謝物はいずれも BCRP の基質ではなかったが、M3 及び M10 は MDR1/P-gp の基質であった。これらの高い血漿タンパク結合率及び MDR1/P-gp の基質性を考慮すると、3 種類すべての代謝物のヒトの脳における血漿中非結合型濃度は、*in vitro* において測定されたオレキシン 2 受容体（OX2R）に対するそれぞれの平衡解離定数（K_b）を下回ると推定され、ダリドレキサントの全体的な睡眠作用に対してこれらの代謝物は寄与していないと考えられる。規制ガイドラインに記載されている標準的な項目について、P450 及び薬物トランスポーターに対するダリドレキサントの代謝物の作用を検討した結果、P450 の阻害及び誘導は、未変化体と比較しておおむね弱く、IC_{50} 及び最大効果の 50%の効果をもたらす濃度（EC_{50}）は、治療用量で認められる非結合型濃度を十分に上回っていた。また、薬物トランスポーターの阻害は、特に M1 による OATP1B1 及び有機カチオントランスポーター（OCT）1 で認められたが、IC_{50} は、ヒトで認められる非結合型濃度より著しく高かった。これらの結果に基づくと、ダリドレキサントの主要代謝物はいずれも、P450 又は薬物トランスポーターを介して消失する併用薬に対して DDI を引き起こす可能性はないと予想される。

2. 分析法

ダリドレキサントを単独又は 3 種類の主要代謝物［M1（ACT-776537）、M3（ACT-776063）及び M10（ACT-1016-3307）］と同時に測定する分析法を開発し、試験実施時に発効されていた規制要件に従ってバリデーションを実施した。マウス、ラット、ウサギ及びイヌの血漿中における未変化体及び代謝物の濃度は、液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）法で測定した。検体の前処理では、安定同位体で標識した内標準物質を含む有機溶媒でタンパクを沈殿させた。

ラット（モジュール 4.2.2.1.1、モジュール 4.2.2.1.8）及びイヌ（モジュール 4.2.2.1.5）の血漿中におけるダリドレキサントを単独で測定する分析法では、1～1000 及び 10～10000 ng/mL の 2 つの濃度範囲でバリデーションを実施した。また、ウサギ（モジュール 4.2.2.1.4）の血漿中における同様の分析法では、10～10000 ng/mL の濃度範囲でバリデーションを実施した。

マウス（モジュール 4.2.2.1.3）、ラット（モジュール 4.2.2.1.2）、ウサギ（モジュール 4.2.2.1.7）及びイヌ（モジュール 4.2.2.1.6）の血漿中におけるダリドレキサント及び 3 種類の主要代謝物を同時に測定する分析法も開発し、10～10000 ng/mL の濃度範囲でバリデーションを実施した。

それぞれの分析法バリデーションの一環として、血漿中ダリドレキサント及びその代謝物の凍結保存安定性を評価したところ、–80 °C で少なくとも 363 日間安定であった。また、検体前処理及び分析条件下でのすべての測定対象物質の安定性も確認した。

参照：モジュール 2.6.5 第 2 項

3. 吸収

3.1 ダリドレキサントの単回投与薬物動態

方法：ダリドレキサントを単回経口及び静脈内投与したときの薬物動態プロファイルは、一般毒性試験で用いた動物種及び系統である Wistar ラット及びビーグル犬を用いて検討した（モジュール 4.2.2.2.1）。通常、試験は雄動物を用いて実施した。また、ダリドレキサントの薬物動態における性差は、雌雄ラットを用いて検討した。さらに、経口吸収の速度と程度に及ぼす粒子サイズ、製剤及び食餌の影響を評価するために、追加の試験を実施した。大部分の薬物動態試験はダリドレキサント塩酸塩を用いて実施したが、脂質ベースの製剤評価は遊離塩基であるダリドレキサントを用いて検討した。なお、本文書に記載しているすべての用量は遊離塩基としての用量であり、塩酸塩への換算係数は 1.08 である。

静脈内投与は、ラットでは 0.1、0.3 及び 1 mg/kg の用量で、イヌでは 0.3、1 及び 3 mg/kg の用量で行った。ダリドレキサント塩酸塩を経口投与したときの薬物動態は、ラットでは 3、10 及び 30 mg/kg の用量で、イヌでは 1、3、10 及び 30 mg/kg の用量で評価した。食餌の影響は、イヌを用いて 10 mg/kg の用量で検討した。静脈内投与では、ダリドレキサント塩酸塩を pH 4.2～4.6 の範囲に調整した 30%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキトリン溶液として、5～15 分かけて短時間インフュージョンした。経口投与では、ダリドレキサント塩酸塩を、ラットでは 0.5%メチルセルロース懸濁液として、イヌでは微粉化した薬物をクロスカルメロースナトリウムとの粉末混合物としてカプセルに充填して投与した。また、ダリドレキサントを脂質ベースの溶液としてイヌに 30 mg の用量で投与し、微粉化していないダリドレキサント塩酸塩、ポロキサマー及びクロスカルメロースナトリウムの粉末混合物を充填した硬ゼラチンカプセルと比較した。試験期間中、ラットは自由摂餌させた。イヌを用いた薬物動態試験は、通常、絶食下で実施した。また、イヌの胃内 pH をヒトの絶食時付近に下げるために、被験物質投与の 20 分前及び 30 分後にペンタガストリンを 6 µg/kg の用量で筋肉内投与した。

ラット及びイヌを用いた薬物動態試験の結果を、主要な試験デザインとともに表 1、表 2 及び表 3 に示した。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

表 1. ラット及びイヌにダリドレキサント塩酸塩を単回静脈内投与したときのダリドレキサントの薬物動態パラメータ

種	Wistar ラット（n = 5、特記しない限り雄）、ビーグル犬（n = 4、雄）				
投与	ラット：5 分間インフュージョン、pH 4.3～4.6 に調整した 30%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキトリン溶液製剤 イヌ：15 分間インフュージョン、pH 4.2～4.3 に調整した 30%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキトリン溶液製剤				
パラメータ	用量 (mg/kg)	ラット		イヌ	
		平均値	範囲	平均値	範囲
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·h/mL)	0.1	23.2	21.2 - 27.0	N/A	N/A
	0.3	77.5	68.1 - 118	523	304 - 1010
	0.3 (f)	102	67.5 - 172	N/A	N/A
	1	226	197 - 257	1740	1080 - 2610
	3	N/A	N/A	5050	3520 - 7630
CL (mL/min/kg)	0.1	72	62 - 79	N/A	N/A
	0.3	65	42 - 73	9.6	5.0 - 16
	0.3 (f)	49	29 - 74	N/A	N/A
	1	74	65 - 85	9.6	6.4 - 15
	3	N/A	N/A	9.9	6.6 - 14
V_{ss} (L/kg)	0.1	1.8	1.1 - 2.6	N/A	N/A
	0.3	3.0	2.5 - 3.3	1.4	0.9 - 2.5
	0.3 (f)	2.5	1.3 - 4.2	N/A	N/A
	1	5.4	3.1 - 18	1.7	1.1 - 3.3
	3	N/A	N/A	2.5	1.7 - 4.6
$t_{1/2}$ (h)	0.1	0.5	0.3 - 0.7	N/A	N/A
	0.3	1.5	1.2 - 1.9	2.5	1.5 - 3.2
	0.3 (f)	1.4	1.0 - 2.9	N/A	N/A
	1	2.1	1.3 - 4.5	3.0	1.9 - 3.9
	3	N/A	N/A	4.1	2.5 - 5.8

$AUC_{0\text{-}inf}$ = 0 時間から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積、CL = 全身血漿クリアランス、f = 雌、n = 例数、N/A = 対象外、$t_{1/2}$ = みかけの最終相半減期、V_{ss} = 定常状態における分布容積

表 2. ラットにダリドレキサント塩酸塩を単回経口投与したときのダリドレキサントの薬物動態パラメータ

種	Wistar ラット（n = 5、特記しない限り雄）		
投与	強制経口、0.5%メチルセルロース懸濁液製剤		
パラメータ	用量 (mg/kg)	平均値 [1)]	範囲
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·h/mL)	3	69.5	48.9 - 88.0
	10	338	207 - 448
	10 (f)	1030	784 - 1190
	10 [3)]	264	204 - 392
	30	1140	891 - 2010
C_{max} (ng/mL)	3	61.4	46.7 - 84.7
	10	387	243 - 509
	10 (f)	606	316 - 866
	10 [3)]	147	116 - 193
	30	721	458 - 1390
t_{max} (h)	3	0.3	0.3 - 0.3
	10	0.3	0.3 - 0.3
	10 (f)	0.3	0.3 - 0.5
	10 [3)]	0.3	0.3 - 4.0
	30	0.3	0.3 - 0.5
F [2)] (%)	3	10	N/A
	10	15	N/A
	10 (f)	30	N/A
	10 [3)]	12	N/A
	30	17	N/A

1) t_{max} は中央値を表す。
2) 経口バイオアベイラビリティは、静脈内投与時の $AUC_{0\text{-}inf}$（雄は 1 mg/kg で 226 ng·h/mL、雌は 0.3 mg/kg で 102 ng·h/mL）を用いて算出した。
3) 遊離塩基であるダリドレキサントを投与した。

$AUC_{0\text{-}inf}$ = 0 時間から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血漿中濃度、f = 雌、F = 経口バイオアベイラビリティ、n = 例数、N/A = 対象外、t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

表 3. イヌにダリドレキサント塩酸塩を単回経口投与したときのダリドレキサントの薬物動態パラメータ

種	ビーグル犬（n = 4、雄）			
投与	特記しない限り、微粉化した被験物質をクロスカルメロースナトリウムとの粉末混合物として充填したカプセル製剤			
パラメータ	用量 (mg/kg)	摂餌状態 [1]	平均値 [2]	範囲
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·h/mL)	1	絶食	547	184 - 1050
	3	絶食	1770	818 - 3040
	10	絶食	7650	3830 - 15800
	10	摂餌	9710	5140 - 23100
	10 [3]	絶食	6940	4440 - 10400
	30 [4]	絶食	28800	15800 - 73200
	30 [4,5]	絶食	22600	14200 - 57900
C_{max} (ng/mL)	1	絶食	169	53.3 - 321
	3	絶食	486	220 - 783
	10	絶食	1060	513 - 1940
	10	摂餌	1410	678 - 2610
	10 [3]	絶食	652	297 - 1110
	30 [4]	絶食	3380	2310 - 5220
	30 [4,5]	絶食	3140	1910 - 4770
t_{max} (h)	1	絶食	1.1	0.8 - 3.0
	3	絶食	0.8	0.3 - 4.0
	10	絶食	2.0	1.0 - 3.0
	10	摂餌	2.5	0.8 - 4.0
	10 [3]	絶食	3.0	3.0 - 4.0
	30 [4]	絶食	0.6	0.5 - 1.5
	30 [4,5]	絶食	1.0	0.5 - 1.0
F (%)	1	絶食	31	17 - 40
	3	絶食	34	23 - 44
	10	絶食	45	33 - 62
	10	摂餌	58	41 - 91
	10 [3]	絶食	41	28 - 62
	30 [4]	絶食	57	41 - 96
	30 [4,5]	絶食	45	30 - 76

1) 絶食状態では、被験物質投与の 20 分前及び 30 分後にペンタガストリンを筋肉内投与した。
2) t_{max} は中央値を表す。
3) 微粉化していない被験物質を投与した。
4) 10% PEG400 を含む 0.5%メチルセルロース懸濁液製剤として投与した。
5) 遊離塩基であるダリドレキサントを投与した。

$AUC_{0\text{-}inf}$ = 0 時間から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血漿中濃度、F = 経口バイオアベイラビリティ、n = 例数、PEG = ポリエチレングリコール、t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

3.2 血漿クリアランス及び半減期

方法：3.1 項

結果：ダリドレキサントの血漿クリアランスは、ラットでは 0.1、0.3 及び 1 mg/kg の用量で、イヌでは 0.3、1 及び 3 mg/kg の用量で、それぞれ静脈内投与して測定した。これらの試験結果を表 1 に示した。両動物種とも、血漿クリアランスは用量に依存しなかった。平均値は、雄ラットでは 65～74 mL/min/kg、イヌでは 9.6～9.9 mL/min/kg であった。血液/血漿中濃度比が、ラットでは 2.07、イヌでは 0.67 であること（4.2.4 項）を考慮すると、血液クリアランスは、雄ラットでは 31～36 mL/min/kg、イヌでは 14～15 mL/min/kg となり、それぞれの肝血流量の 56～65 及び 45～48%であった。したがって、ダリドレキサントは、ラット及びイヌにおいて中程度のクリアランス化合物に分類される。

ダリドレキサントの $t_{1/2}$ は、ラットでは短く、用量の増加とともに 0.5 時間から 2.1 時間に延長した。また、イヌではやや長かったものの、用量の増加とともに 2.5 時間から 4.1 時間に延長した。全身クリアランスは用量に依存しなかったため、$t_{1/2}$ の用量依存性は、血漿タンパク結合の飽和（4.2.1 項）及びそれに伴う組織分布の増加に起因すると考えられる。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

3.3 吸収及びバイオアベイラビリティ

方法：3.1 項

結果：ダリドレキサントの経口吸収は、ラットでは 3～30 mg/kg の用量範囲で、イヌでは 1～30 mg/kg の用量範囲で評価した。ラットにおける経口吸収は速やかであり、C_{max} の平均値はすべての用量で投与 0.3 時間後に達した（表 2）。また、絶食下のイヌにおける経口吸収も速やかであり、C_{max} は 1 及び 3 mg/kg の用量で投与後約 1 時間以内に達したが、10 mg/kg の用量での吸収はやや遅く、最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）の中央値は 2 時間であった（表 3）。

雄ラットにおけるダリドレキサントの経口バイオアベイラビリティは 10～17%の範囲であり、顕著な用量依存性は認められなかった。一方、イヌにおけるダリドレキサントの経口バイオアベイラビリティは、1 及び 3 mg/kg の用量では 31～34%の範囲であったが、10 及び 30 mg/kg の用量では 45～57%に増加した。全身クリアランスは用量に依存しなかったことから（3.2 項）、経口バイオアベイラビリティの増加は、消化管における初回通過代謝の飽和に起因する可能性が考えられる。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

3.4 用量比例性

方法：3.1 項

結果：ラット及びイヌに静脈内投与後、総薬物の 0 時間から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}inf}$）は用量に比例して増加し、血漿クリアランスは検討した用量範囲でほぼ一定であった。一方、V_{ss} 及び $t_{1/2}$ は、それぞれ用量の増加とともに増加及び延長する傾向が見られた。V_{ss} の増加及び $t_{1/2}$ の延長は、血漿タンパク結合の非線形性に起因すると考えられる（4.2.1 項）。

ラットに経口投与後の $AUC_{0\text{-}inf}$ は、1 及び 3 mg/kg の用量間では用量比例性を上回って増加し

たが、3 及び 10 mg/kg の用量間では用量に比例して増加した。ラットでは顕著な初回通過効果が認められたため（6.1 項）、経口吸収されているときの代謝過程の飽和が薬物動態の非線形性に関与している可能性が考えられる。一方、イヌに経口投与後の $AUC_{0\text{-}inf}$ は、1～30 mg/kg の範囲で用量比例性を上回って増加した。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

3.5 性差

方法：3.1 項

結果：ダリドレキサントの薬物動態における性差は、雌雄ラットに 0.3 及び 10 mg/kg の用量でそれぞれ静脈内及び経口投与して検討した。雌ラットにおける血漿クリアランスは雄ラットより低く、雌及び雄ラットでそれぞれ 49 及び 65 mL/min/kg であった。一方、V_{ss} に意味のある性差は認められず、雌及び雄ラットでそれぞれ 2.5 及び 3.0 L/kg であった。また、経口投与後の $AUC_{0\text{-}inf}$ 及び C_{max} は、それぞれ雌ラットの方が 3.0 及び 1.6 倍高かった。その結果、雌ラットにおける経口バイオアベイラビリティは 30%と、雄ラットの約 2 倍であった。

イヌを用いた 4 週間毒性試験において、ダリドレキサントの曝露量に一貫した性差は認められず、曝露量の雌/雄比は、30～300 mg/kg の用量範囲で約 1（範囲：0.5～1.4）であった。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

3.6 食餌の影響

方法：3.1 項

結果：経口吸収の速度と程度に及ぼす食餌の影響は、10 mg/kg の用量で評価した。摂餌下のイヌにおける $AUC_{0\text{-}inf}$ 及び C_{max} の平均値はともに約 30%増加し、経口バイオアベイラビリティの平均値は 45%から 58%に増加した。一方、t_{max} に意味のある影響は認められなかった。ダリドレキサントの水溶液への溶解度は限定的であるため、摂餌後の胆汁分泌が溶解過程を促進し、その結果、経口吸収が高まった可能性が考えられる。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

3.7 粒子サイズ

方法：3.1 項

結果：ダリドレキサントの経口吸収に及ぼす微粉化の影響は、絶食下のイヌを用いて 10 mg/kg の用量で検討した。予想されたように、ダリドレキサント塩酸塩の粉末の平均粒子サイズを小さくすることにより、C_{max} は 63%増加し、t_{max} は 3 時間から 2 時間に短縮した。なお、ダリドレキサントの $AUC_{0\text{-}inf}$ 及び経口バイオアベイラビリティは、ほとんど変わらなかった。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

3.8 製剤

方法：3.1 項

結果：異なる剤形で経口投与したときの薬物動態は、イヌを用いて個体あたり 30 mg（約 2.5 mg/kg 相当）の用量で評価した。遊離塩基であるダリドレキサントは脂質ベースの溶液として調製し、塩酸塩である ACT-541468A をポロキサマー及びクロスカルメロースナトリウムとの粉末

混合物として調製したときと比較した（表 4）。t_{max} は、標準的なカプセル製剤として投与した塩酸塩（1.5 時間）と比較して、脂質ベースの溶液として調製したダリドレキサント製剤（0.5 時間）の方が速やかであった。また C_{max} も、標準的なカプセル製剤（246 ng/mL）と比較して、脂質ベースの溶液（623 ng/mL）の方が顕著に高かった。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

表 4. イヌに脂質ベースの溶液製剤及び標準の固形製剤として単回経口投与したときのダリドレキサントの薬物動態パラメータ

種	ビーグル犬（n = 4、雄、絶食及びペンタガストリン処置）			
投与	経口（カプセル）、30 mg			
パラメータ	被験物質	製剤	平均値 [1)]	範囲
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·h/mL)	ACT-541468A	標準製剤 [2)]	1810	811 - 6200
	ACT-541468	脂質ベース製剤 [3)]	1380	555 - 3810
C_{max} (ng/mL)	ACT-541468A	標準製剤 [2)]	246	134 - 587
	ACT-541468	脂質ベース製剤 [3)]	623	300 - 1210
t_{max} (h)	ACT-541468A	標準製剤 [2)]	1.5	0.8 - 2.0
	ACT-541468	脂質ベース製剤 [3)]	0.5	0.3 - 1.0
F (%)	ACT-541468A	標準製剤 [2)]	42	29 - 75
	ACT-541468	脂質ベース製剤 [3)]	32	19 - 45

1) t_{max} は中央値を表す。
2) 微粉化していないダリドレキサント塩酸塩をポロキサマーびクロスカルメロースナトリウムとの粉末混合物として硬ゼラチンカプセルに充填して投与した。
3) 遊離塩基であるダリドレキサントを溶液として硬ゼラチンカプセルに充填して投与した。

ACT-541468 = ダリドレキサント（遊離塩基）、ACT-541468A = ダリドレキサント塩酸塩、$AUC_{0\text{-}inf}$ = 0 時間から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血漿中濃度、F = 経口バイオアベイラビリティ、n = 例数、t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

3.9 塩形態

方法：3.1 項

結果：遊離塩基であるダリドレキサント及びダリドレキサント塩酸塩の経口曝露量を、ラットでは 10 mg/kg の用量で、イヌでは 30 mg/kg の用量で比較した。各被験物質は 0.5%メチルセルロース懸濁液として投与し、イヌでは 10%ポリエチレングリコール（PEG）400 を添加した。経口曝露量（$AUC_{0\text{-}inf}$ 及び C_{max}）は、ラットではダリドレキサント塩酸塩の方がそれぞれ 1.3 及び 2.6 倍高かったが（表 2）、イヌではわずかな違いしか認められなかった（表 3）。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

3.10 個体間変動

方法：3.1 項

結果：血漿中曝露量は、イヌでは個体間で顕著に変動したが（表 3）、ラットでは大きな変動は見られなかった（表 2）。イヌにおけるダリドレキサントの血漿クリアランスに同様の個体間変動が認められたため（表 1）、この変動は経口吸収によるものではなく、代謝能の個体差に起因すると考えられる。また、脂質ベースの溶液として経口投与したとき、ダリドレキサントの曝露量の個体間変動は減少しなかった（表 4）。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

3.11 腸肝循環

ダリドレキサントの腸肝循環に関する特別な試験は実施していない。ダリドレキサントは代謝された後に排泄され、ラットの胆汁中に未変化体は認められなかった（5.3 項）。したがって、ダリドレキサントが腸肝循環することはないと考えられる。

参照：モジュール 2.6.5 第 9 項、モジュール 4.2.2.2.1

3.12 ダリドレキサントの反復投与薬物動態

方法：ダリドレキサント塩酸塩を反復経口投与したときの薬物動態プロファイルは、ラット（モジュール 4.2.3.2.5）及びイヌ（モジュール 4.2.3.2.9）を用いた 2 つの 4 週間毒性試験において検討した。Day 1 及び 28 における曝露量［0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24}$）］を、曝露量比とともに表 5 に示した。

結果：雄ラットの Day 28 におけるダリドレキサントの曝露量は、Day 1 と比較して、300 及び 1000 mg/kg の用量では約 50%減少したが、100 mg/kg の用量ではほとんど変わらなかった。一方、雄イヌにおけるダリドレキサントの曝露量は、30 及び 100 mg/kg の用量では 4 週間の投与期間で約 2 倍に増加したが、200 mg/kg の用量ではそれほど顕著ではなく、累積率は 1.4 倍であった。

参照：モジュール 2.6.5 第 4 項

表 5. 雄のラット及びイヌに反復経口投与したときのダリドレキサントの曝露量

種	用量 (mg/kg)	$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL)		Day 28/Day 1 比
		Day 1	Day 28	
ラット	100	10.9	12.2	1.1
	300	61.1	32.1	0.5
	1000	171	78.1	0.5
イヌ	30	20.6	41.5	2.0
	100	95.1	184	1.9
	200 [1)]	221	301	1.4

ラット（n = 3/時点）は平均血漿中濃度から算出し、イヌは平均値（30 及び 100 mg/kg 群は n = 3、200 mg/kg 群は n = 5）を表す。

1) 忍容性の問題のため、用量を 300 mg/kg から 200 mg/kg に減量した［Day 1 は Week 2（200 mg/kg の初回投与時）の値を表す］。

$AUC_{0\text{-}24}$ = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、n = 例数

4. 分布

4.1 分布容積

方法：3.1 項

結果：組織分布の一般的な指標であるダリドレキサントの V_{ss} を、ラットでは 0.1～1 mg/kg の用量範囲で、イヌでは 0.3～3 mg/kg の用量範囲で、それぞれ静脈内投与して測定した。両動物種とも V_{ss} は総体液量を大きく上回り、ラットでは 1.8 L/kg から 5.4 L/kg に、イヌでは 1.4 L/kg から 2.5 L/kg に、それぞれ用量の増加とともに増加した。血漿中非結合型濃度が高くなると組織移行が促進され、分布容積が増加するため、V_{ss} の増加は、α1-AGP に対するダリドレキサントの結合が飽和することに起因すると考えられる（4.2.3 項）。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1

4.2 血漿タンパク結合及び血球移行

4.2.1 *In vitro* における血漿タンパク結合

方法：平衡透析法を用い、マウス、ラット、イヌ及びヒトではダリドレキサント及び 3 種類の主要代謝物［M1（ACT-776537）、M3（ACT-776063）及び M10（ACT-1016-3307）］の血漿タンパク結合率を、ウサギではダリドレキサントのみの血漿タンパク結合率を、それぞれ測定した（モジュール 4.2.2.3.1、モジュール 4.2.2.3.2）。ダリドレキサントについては、ダリドレキサントの ^{14}C 標識体である ACT-541468E を用い、0.5～200 μg/mL の濃度範囲で行った。平衡透析は、分画分子量が 12～14 kDa の透析膜を用い、50 mmol/L のリン酸緩衝生理食塩水（pH 7.4）に対して 37 ℃ で 6 時間行った。両透析チャンバーにおける総放射能は、液体シンチレーション計測法で測定した。代謝物については、0.5～15.0 μg/mL の範囲で 3 つの濃度で行った。迅速平衡透析は、分画分子量が 8 kDa の透析膜を用い、150 mmol/L の塩化ナトリウムを含む 100 mmol/L のリン酸緩衝生理食塩水（pH 7.4）に対して 37 ℃ で 3.5 時間行った。両透析チャンバーにおける代謝物濃度は、安定同位体で標識した内標準物質を用い、LC-MS/MS 法で測定した。試験結果を表

6 に示した。

結果：ダリドレキサントの血漿タンパク結合率はすべての種で高かったが、非結合型分率に顕著な種差が認められた。すなわち、0.5 µg/mL の濃度での非結合型分率は、マウス、ラット及びイヌでは 2.4～2.8%の範囲であったが、ウサギ及びヒトではそれぞれ 0.5 及び 0.3%と低かった。さらに、ダリドレキサントの血漿タンパク結合はすべての種において低濃度で飽和が認められたが、種特異性も示した。すなわち、非結合型分率は、マウスでは 15 µg/mL の濃度までほぼ一定であったが、ウサギ及びイヌでは増加した。また、ヒトでは 5 µg/mL の濃度まで 0.3～0.5%の狭い範囲でほぼ一定であった。

未変化体であるダリドレキサントと同様に、3 種類すべての代謝物の血漿タンパク結合率にも顕著な種差が認められ、ヒトにおける血漿タンパク結合率は、いずれの動物種よりおおむね高かった。また、一部では、高濃度で飽和が認められた。

参照：モジュール 2.6.5 第 6 項

表 6. マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるダリドレキサント及びその主要代謝物の血漿タンパク非結合型の割合

濃度 (μg/mL)	マウス (%)	ラット (%)	ウサギ (%)	イヌ (%)	ヒト (%)
ダリドレキサント					
0.5	2.6	2.8	0.5	2.4	0.3
1.5	3.0	2.8	1.4	3.0	0.3
5	2.5	3.3	2.7	4.3	0.5
15	2.9	4.2	3.1	5.0	1.6
50	3.6	4.1	3.4	5.4	2.3
200	4.2	4.8	4.4	5.4	2.9
M1 (ACT-776537)					
0.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.1
1.5	1.3	0.5	n.d.	1.2	0.1
5.0	1.3	0.4	n.d.	1.4	0.3
15	1.1	0.6	n.d.	1.5	n.d.
M3 (ACT-776063)					
0.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.4
1.5	6.9	6.2	n.d.	5.8	0.5
5.0	8.9	8.2	n.d.	11	1.4
15	11	12	n.d.	17	n.d.
M10 (ACT-1016-3307)					
0.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4.0
1.5	21	31	n.d.	21	4.4
5.0	21	31	n.d.	29	7.8
15	19	31	n.d.	39	n.d.

値は、非結合型分率の平均値（n = 2～3）を表す。
n = 例数、n.d. = 測定せず

4.2.2 *Ex vivo* における血漿タンパク結合

方法：完了した SAD 試験（AC-078-101 試験、モジュール 5.3.3.1.1）の 25 及び 200 mg 群から得られた 36 検体を用い、*ex vivo* における血漿タンパク結合率を測定した。迅速平衡透析は、分画分子量が 8 kDa の透析膜を用い、100 mmol/L のリン酸緩衝生理食塩水（pH 7.4）に対して 37 ℃ で 4 時間行った。また、実験中に臨床検体の pH が変わることを避けるために、5%の CO_2 条件下、オービタルシェーカーを用いて行った。両透析チャンバーにおけるダリドレキサント濃度は、安定同位体で標識した内標準物質を用い、LC-MS/MS 法で測定した。

結果：臨床検体における血漿タンパク結合率の平均値は 99.9%（範囲：99.7～99.9%）であり、結合率と血漿中総濃度との間に相関は認められなかった。したがって、*in vitro* におけるヒト血漿タンパク結合で認められた非線形性（4.2.1 項）は、臨床試験で想定されているダリドレキサントの用量範囲では意味はないと考えられる。

4.2.3 ヒトの血清アルブミン及び α1-酸性糖タンパクに対する結合

方法：血漿タンパク結合が濃度依存的であった原因を検討するために、ヒトの血清アルブミン及び α1-AGP に対する結合率を、ダリドレキサントは 1.5、5 及び 15 µg/mL の濃度で、両血漿タンパクは生理学的濃度［血清アルブミン：40 mg/mL（600 µmol/L）及び α1-AGP：0.8 mg/mL（20 µmol/L）］で測定した（モジュール 4.2.2.3.1）。平衡透析は、ダリドレキサントの ^{14}C 標識体である ACT-541468E 及び分画分子量が 12～14 kDa の透析膜を用い、50 mmol/L のリン酸緩衝生理食塩水（pH 7.4）に対して 37 °C で 6 時間行った。両透析チャンバーにおける総放射能は、液体シンチレーション計測法で測定した。

結果：ヒト血清アルブミンに対するダリドレキサントの結合率は、1.5 µg/mL の濃度で 94.9%、15 µg/mL の濃度で 93.9%であった。また、ヒト α1-AGP に対するダリドレキサントの結合率は、1.5 µg/mL の濃度で 98.3%、15 µg/mL の濃度で 70.2%であった。これらのことから、ダリドレキサントは両血漿タンパクに結合することが示された。また、α1-AGP に対する結合に濃度依存性が認められたことから、ヒト血漿タンパク結合の非線形性は α1-AGP に対する結合の飽和に起因すると考えられる。

参照：モジュール 2.6.5 第 6 項

4.2.4 血球移行

方法：ダリドレキサントの血球移行は、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトで検討した（モジュール 4.2.2.3.1）。ダリドレキサントの ^{14}C 標識体である ACT-541468E を 0.5～20 µg/mL の範囲で、動物の血液には 2 つの濃度で、ヒトの血液には 4 つの濃度で添加し、血液ローラーを用いて 37 °C で 30 分間インキュベーションした。その後、これらの検体の一部を採取し、血液中総放射能は燃焼法及び液体シンチレーション計測法で測定した。また、2000 g、4 °C で 10 分間遠心して血漿を分離し、血漿中総放射能は液体シンチレーション計測法で測定した。試験結果を表 7 に示した。

結果：血漿タンパク結合と同様に、ダリドレキサントの血球移行に顕著な種差が認められた。すなわち、0.5 µg/mL の濃度での血液/血漿中濃度比は、ラットでは 2.07 であったが、ウサギ、イヌ及びヒトでは 0.54～0.82 と顕著に低く、これらの 3 種では、ダリドレキサントは血球にほとんど移行しないことが示された。また、血液/血漿中濃度比に濃度依存性が認められたが、これは、血漿中非結合型濃度の増加に起因すると考えられる。なお、ヒトにおける血液/血漿中濃度比は、0.5～20 µg/mL の濃度範囲で 0.54～1.06 であった。

参照：モジュール 2.6.5 第 6 項

表 7. マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおけるダリドレキサントの血球移行

濃度 (μg/mL)	血液/血漿中濃度比				
	マウス	ラット	ウサギ	イヌ	ヒト
0.5	1.33	2.07	0.82	0.67	0.54
1.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.54
5.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.61
20	1.67	2.32	1.15	0.96	1.06

値は、2 回測定（マウス、ラット及びウサギはプール血液、イヌ及びヒトは 3 例の個別血液）の平均値を表す。
n.d. = 測定せず

4.3 ラットにおける脳内移行

方法：ダリドレキサントのラット脳内への移行は、ダリドレキサント塩酸塩を 30 及び 100 mg/kg の用量で単回経口投与して評価した（モジュール 4.2.1.1.4）。ダリドレキサント塩酸塩は、0.5%メチルセルロース懸濁液として、各用量あたり 4 例の雄 Wistar ラットに投与した。脳及び血漿は、投与 1、3、6 及び 24 時間後に採取した。脳は灌流した後、リン酸緩衝液（pH 7.4）でホモジナイズした。血漿及び脳ホモジネート中のタンパクは、安定同位体で標識した内標準物質を含む 3 倍量のメタノールで沈殿させ、ダリドレキサント濃度は LC-MS/MS 法で測定した。試験結果を表 8 に示した。

結果：ダリドレキサントは良好に脳内に移行した。また、脳/血漿中総濃度比の平均値は 0.9～2.2 の範囲であり、両用量とも、血漿中ダリドレキサント濃度とともに増加する傾向が見られた。ラットにおける血漿タンパク結合率は、5 μg/mL 未満の濃度ではほぼ一定であったことから（4.2.1 項）、この傾向は、血漿タンパク結合では説明できず、ラットの血液脳関門における MDR1 及び BCRP のような排出ポンプが関与している可能性が考えられる。

表 8. ラットにおけるダリドレキサントの脳内移行

用量 (mg/kg)	時間 [1] (h)	脳内濃度 (ng/g)	血漿中濃度 (ng/mL)	脳/血漿中濃度比
30	1	3206 ± 3683	1468 ± 1251	1.9 ± 0.5
	3	226 ± 71	212 ± 46	1.1 ± 0.1
	6	36.8 ± 7.1	39.1 ± 7.1	0.9 ± 0.2
100	1	5201 ± 4547	2429 ± 1541	1.8 ± 0.8
	3	3900 ± 420	2285 ± 197	1.7 ± 0.1
	6	773 ± 534	574 ± 248	1.3 ± 0.3

値は、平均値 ± 標準偏差（n = 4/時点）を表す。
1) 投与 24 時間後のダリドレキサント濃度は検出できなかったため、記載しなかった。
n = 例数

4.4 ラットにおける全身オートラジオグラフィー

方法：全身オートラジオグラフィー法を用い、雄の白色 Wistar ラット及び有色 Lister Hooded ラットにおける総放射能の組織分布を測定した（モジュール 4.2.2.3.3）。本試験では、5 例の Wistar ラット及び 4 例の Lister Hooded ラットにダリドレキサントの ^{14}C 標識体である ACT-541468E を 10 mg/kg（3.7×10^6 Bq/kg）の用量で単回経口投与した。また、Wistar ラットは投与 0.5、4、24、72 及び 168 時間後に、Lister Hooded ラットは投与 24、72 及び 168 時間並びに 21 日後に各時点 1 例を安楽死させ、速やかにドライアイスを入れた溶液槽で凍結した。四肢、尾及びひげを切断した後、凍結した死体を 2%重量/容量（w/v）カルボキシメチルセルロース溶液のブロック内に設置し、約–20 ℃ に維持したライカ CM3600 クライオミクロトームのステージに取り付け、厚さ 30 µm の矢状断面を得た。切片は、凍結乾燥した後、富士イメージングプレートと 7 日間接触させた。また、放射能濃度の検量線を作成するために、^{14}C-標準血液を各オートラジオグラムに含めた。

結果：白色ラットにおいて、ダリドレキサントは速やかに吸収され、放射能の最高濃度はほぼすべての組織で投与 0.5 時間後に認められた。消化管粘膜以外では、最も高い放射能濃度は排泄器官（肝臓及び腎臓）、副腎、褐色脂肪及び心筋において認められた。一方、白色脂肪、鼻粘膜、骨表面、ブドウ膜/網膜及び脈絡叢における放射能濃度は低かった。また、脳における放射能は投与 0.5 時間後のみに認められ、血液中濃度の 34%であった。最高濃度に達した後、放射能濃度は速やかに減少し、投与 24 時間後では、肝臓及び消化管粘膜を除く大部分の組織で定量下限未満であった。また、投与 7 日後の最終時点では、すべての組織で定量できなかった。

有色ラットにおける放射能の組織分布及び消失は、白色ラットとおおむね同様であった。また、ブドウ膜/網膜、有色皮膚及び脳の髄膜内放射能に意味のある残留は認められなかったことから、薬物由来物質はメラニン結合しないことが示唆された。

参照：モジュール 2.6.5 第 5 項

4.5 乳汁中排泄

方法：ダリドレキサント及びその主要代謝物の乳汁中排泄は、分娩後 14 日目の授乳ラットを用いて検討した（モジュール 4.2.2.3.4）。ダリドレキサント塩酸塩は、0.5%メチルセルロース懸濁液として 30 mg/kg の用量で 5 例の雌ラットに単回経口投与した。また、乳汁分泌を刺激するために、オキシトシンを筋肉内投与した。血漿及び乳汁検体は、投与後 24 時間にわたって採取した。両検体中のダリドレキサント及びその代謝物は、安定同位体で標識した内標準物質を用い、LC-MS/MS 法で測定した。試験結果を表 9 に示した。

結果：ダリドレキサント及びその主要代謝物は、ラットの乳汁中に検出された。乳汁/血漿中濃度比は、未変化体であるダリドレキサントでは 14～19 と、ラットの乳汁中に顕著に移行することが示されたが、代謝物では 0.7～1.7 の間であった。

参照：モジュール 2.6.5 第 7 項

表 9. ラットにおけるダリドレキサント及びその主要代謝物の乳汁中排泄

時間	ダリドレキサント			M1		
(h)	血漿中濃度	乳汁中濃度	乳汁/血漿比	血漿中濃度	乳汁中濃度	乳汁/血漿比
1	1450 ± 310	20800 ± 3600	14	209 ± 63	318 ± 180	1.5
2	921	17800	19	544	747	1.4
3	433 ± 194	n.s.	n.d.	506 ± 172	n.s.	n.d.
6	148 ± 92	n.s.	n.d.	677 ± 166	n.s.	n.d.
24	BLQ	6.74 [1)]	n.d.	94.0	14.8 [1)]	0.2
時間	M3			M10		
(h)	血漿中濃度	乳汁中濃度	乳汁/血漿比	血漿中濃度	乳汁中濃度	乳汁/血漿比
1	947 ± 297	1590 ± 700	1.7	77.1 ± 22.8	56.9 ± 25.0	0.7
2	1210	1810	1.5	88.1	67.9	0.8
3	379 ± 103	n.s.	n.d.	85.5 ± 26.7	n.s.	n.d.
6	204 ± 72	n.s.	n.d.	53.4 ± 7.8	n.s.	n.d.
24	BLQ	BLQ	n.d.	BLQ	BLQ	n.d.

濃度（ng/mL）は、平均値 ± 標準偏差（n = 3）又は平均値（n = 2）を表す。
1) n = 1
BQL = 定量下限未満、n = 例数、n.d. = 算出せず、n.s. = 採取せず

4.6 薬物消失における輸送過程

4.6.1 細胞膜透過性

方法：ダリドレキサントの経細胞輸送は、野生型メイディンーダービーイヌ腎臓 2 型（MDCKII）細胞を用いて評価した（モジュール 4.2.2.3.5）。頂端膜側から基底膜側（A-B）及び基底膜側から頂端膜側（B-A）方向のみかけの透過係数（P_{app}）は、ダリドレキサントの ^{14}C 標識体である ACT-541468E を用い、0.1～10 µmol/L の濃度範囲で測定した。総放射能は、液体シンチレーション計測法で測定した。

結果：MDCKII 細胞におけるダリドレキサントの P_{app} は、A-B 方向では 19×10^{-6}～30×10^{-6} cm/s の範囲であり、B-A 方向では 14×10^{-6}～20×10^{-6} cm/s の範囲であった。また、明らかな濃度依存性は認められなかった。したがって、ダリドレキサントは高透過性薬物であり、細胞膜を介した極性輸送は示されなかった。

参照：モジュール 2.6.5 第 15 項

4.6.2 多剤耐性タンパク

4.6.2.1 ダリドレキサント

方法：ダリドレキサントが MDR1/P-gp の基質であるか否かを評価するために、MDR1/P-gp を発現した及び野生型の MDCKII 細胞を用い、双方向の輸送試験を実施した（モジュール 4.2.2.3.5）。両細胞における A-B 及び B-A 方向の P_{app} は、0.1～10 µmol/L の濃度範囲で測定した。実験は、MDR1/P-gp 阻害剤であるゾスキダルの存在下及び非存在下で行った。Efflux ratio は、A-B 方向に対する B-A 方向の P_{app} 比として算出した。なお、試験系における MDR1/P-gp の輸送能

を確認するために、1 µmol/L のジゴキシンを陽性対照として用いた。また、細胞膜の完全性を確認するために、ルシファーイエローを用いた。総放射能は、液体シンチレーション計測法で測定した。

結果：MDR1/P-gp を発現した MDCKII 細胞において、ダリドレキサントは高い透過性を示し、A-B 及び B-A 方向の P_{app} は、それぞれ 12.9×10^{-6}～21.2×10^{-6} 及び 17.9×10^{-6}～23.6×10^{-6} cm/s であった。また、MDR1/P-gp を発現した及び野生型の細胞における efflux ratio は 0.6～1.8 の範囲であり、ゾスキダルの存在下でも約 1 であった。なお、MDR1/P-gp を発現した細胞におけるジゴキシンの efflux ratio は 11～12 の範囲であり、ゾスキダルの存在下、約 1 に減少した。これらの結果から、ダリドレキサントは MDR1/P-gp の基質ではないことが示された。

参照：モジュール 2.6.5 第 3 項

4.6.2.2 ダリドレキサントの代謝物

方法：ダリドレキサントの 3 種類の主要代謝物が MDR1/P-gp の基質であるか否かを評価するために、MDR1/P-gp を発現した及び野生型の MDCKI 細胞を用い、双方向の輸送試験を実施した（モジュール 4.2.2.3.6）。両細胞における A-B 及び B-A 方向の P_{app} は、1 µmol/L の濃度で測定した。実験は、MDR1/P-gp 阻害剤であるエラクリダールの存在下及び非存在下で行った。なお、細胞膜の完全性を確認するために、ルシファーイエローを用いた。両トランスウェルチャンバーにおける代謝物濃度は、LC-MS/MS 法で測定した。試験結果を表 10 に示した。

結果：MDR1/P-gp を発現した MDCKI 細胞において、M1 の P_{app} は両方向とも高く、efflux ratio は 2.6 であったことから、MDR1/P-gp に対する M1 の基質性は弱く、良好な脳移行性を有することが示された。一方、M3 及び M10 の A-B 方向の P_{app} は低く、efflux ratio は高かったことから、両代謝物は MDR1/P-gp の明らかな基質であり、脳移行性は限定的であることが示された。

参照：モジュール 2.6.5 第 15 項

表 10. MDR1/P-gp を発現した MDCKI 細胞におけるダリドレキサントの主要代謝物の細胞膜透過性

代謝物	$P_{app, A-B}$ ($\times 10^{-6}$ cm/s)	$P_{app, B-A}$ ($\times 10^{-6}$ cm/s)	$P_{app, B-A}/P_{app, A-B}$ 比
M1	17.9	46.2	2.6
M3	3.0	59.5	19.4
M10	0.2	27.3	129

値は、平均値（n = 3）を表す。
A-B = 頂端膜側から基底膜側、B-A = 基底膜側から頂端膜側、MDCK = メイディンーダービーイヌ腎臓、MDR = 多剤耐性タンパク、n = 例数、P_{app} = みかけの透過係数、P-gp = P-糖タンパク

4.6.3 乳がん耐性タンパク

4.6.3.1 ダリドレキサント

方法：ダリドレキサントが BCRP の基質であるか否かを評価するために、BCRP を発現した及び野生型の MDCKII 細胞を用い、双方向の輸送試験を実施した（モジュール 4.2.2.3.5）。両細胞における A-B 及び B-A 方向の P_{app} は、0.1～10 µmol/L の濃度範囲で測定した。実験は、BCRP 阻

害剤である Ko143 の存在下及び非存在下で行った。なお、試験系における BCRP の輸送能を確認するために、1 µmol/L のプラゾシンを陽性対照として用いた。また、細胞膜の完全性を確認するために、ルシファーイエローを用いた。総放射能は、液体シンチレーション計測法で測定した。

結果：BCRP を発現した及び野生型の MDCKII 細胞におけるダリドレキサントの efflux ratio は 0.5～1.1 の範囲であり、Ko143 の存在下でもほとんど変わらなかった。なお、BCRP を発現した細胞におけるプラゾシンの efflux ratio は 7.7～8.7 の範囲であり、Ko143 の存在下、1.3～1.4 に減少した。これらの結果から、ダリドレキサントは BCRP の基質ではないことが示された。

参照：モジュール 2.6.5 第 15 項

4.6.3.2 ダリドレキサントの代謝物

方法：ダリドレキサントの 3 種類の主要代謝物が BCRP の基質であるか否かを評価するために、BCRP を発現した及び野生型の MDCKI 細胞を用い、双方向の輸送試験を実施した（モジュール 4.2.2.3.6）。両細胞における A-B 及び B-A 方向の P_{app} は、1 µmol/L の濃度で測定した。実験は、BCRP 阻害剤である Ko143 の存在下及び非存在下で行った。なお、細胞膜の完全性を確認するために、ルシファーイエローを用いた。両トランスウェルチャンバーにおける代謝物濃度は、LC-MS/MS 法で測定した。試験結果を表 11 に示した。

結果：BCRP を発現した MDCKI 細胞において、M1 及び M3 の P_{app} は両方向とも高く、efflux ratio はそれぞれ 0.8 及び 2.5 であった。また、Ko143 の存在下でも両方向の P_{app} に意味のある変化は認められなかった。一方、M10 の P_{app} には両方向で大きな差が認められ、efflux ratio は 34 であった。しかし、Ko143 の影響は認められなかったことから、M10 は BCRP の基質ではないことが示された。この極性輸送は、MDCKI 細胞における内因性のイヌ MDR1/P-gp 活性に起因する可能性が考えられる[Feng 2019]。

参照：モジュール 2.6.5 第 15 項

表 11. BCRP を発現した MDCKI 細胞におけるダリドレキサントの主要代謝物の細胞膜透過性

代謝物	$P_{app, A-B}$ (× 10^{-6} cm/s)	$P_{app, B-A}$ (× 10^{-6} cm/s)	$P_{app, B-A}/P_{app, A-B}$ 比
M1	40.0	32.5	0.8
M1 + Ko143	42.9	37.4	0.9
M3	18.5	46.2	2.5
M3 + Ko143	22.5	51.7	2.3
M10	0.4	14.3	33.9
M10 + Ko143	0.4	14.1	35.4

値は、平均値（n = 3）を表す。
A-B = 頂端膜側から基底膜側、B-A = 基底膜側から頂端膜側、BCRP = 乳がん耐性タンパク、Ko143 = BCRP 阻害剤、MDCK = メイディンーダービーイヌ腎臓、n = 例数、P_{app} = みかけの透過係数

4.6.4 有機アニオン輸送ポリペプチド

方法：ダリドレキサントの ^{14}C 標識体である ACT-541468E を用い、0.1、1 及び 10 µmol/L の濃度で、OATP1B1 又は OATP1B3 を発現したチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞へのダリ

ドレキサントの取込みを測定し、野生型 CHO 細胞への取込みと比較した（モジュール 4.2.2.3.5）。実験は、OATP 阻害剤であるシクロスポリン A の存在下及び非存在下で、最長 3 分間行った。なお、試験系における OATP の輸送能を確認するために、アトルバスタチンを陽性対照として用いた。総放射能は、液体シンチレーション計測法で測定した。

結果：ダリドレキサントの野生型 CHO 細胞への取込みに対する OATP1B1 又は OATP1B3 を発現した CHO 細胞への取込み比は約 1 であり、シクロスポリン A の存在下でも変わらなかった。なお、アトルバスタチンの同取込み比は 2.5～9.6 であり、シクロスポリン A の存在下、約 1 に減少した。これらの結果から、ダリドレキサントは OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないことが示された。

参照：モジュール 2.6.5 第 15 項

5. 代謝

5.1 代謝物の化学構造及び代謝経路

方法：代謝物の化学構造は、健康被験者を対象とした SAD 試験における 25 mg 群の血漿、ヒト肝細胞、並びに胆管カニューレ処置ラットを用いた代謝試験における胆汁及び糞を含む、種々の検体を用いて同定した（モジュール 4.2.2.4.1）。検体は、最初に LC-MS/MS 法で分析した。また、置換可能な水素原子の数を測定するために、水素/重水素（H/D）置換実験を行った。さらに、推定化学構造に基づいて標準物質を合成し、保持時間及び質量フラグメンテーションパターンに基づいてそれらの同一性を確認した。代謝物の化学構造及び推定代謝経路を図 1 に示す。

結果：計 22 種類のダリドレキサントの代謝物の化学構造が明らかとなった。この結果に基づくと、ダリドレキサントは 7 つの経路で代謝された。M3 は、メチルベンゾイミダゾール部分の脂肪族水酸化により生成した。M4 は、*O*-脱メチル化により生成した。M5 は、最初にピロリジン環の 2 位の水酸化、続いてアミノアルデヒドへの開環、その後のベンゾイミダゾール部分とアルデヒドの再環化により生成し、最終的にピペリジノール構造を形成した。M8 は、アニソリルトリアゾール部分の水酸化及びグルクロン酸抱合により生成した。M11 は、アニソール環の水酸化により生成した。M14 は、トリアゾール環の 2 水酸化及びグルクロン酸抱合により生成した。M29 は、メチルピロリジニルベンゾイミダゾール部分の水酸化及びグルクロン酸抱合により生成した。このように、M3、M4、M5 及び M11 は一次代謝物であり、M8、M14 及び M29 は下流代謝物であるが、M8、M14 及び M29 の一次代謝物は認められなかった。

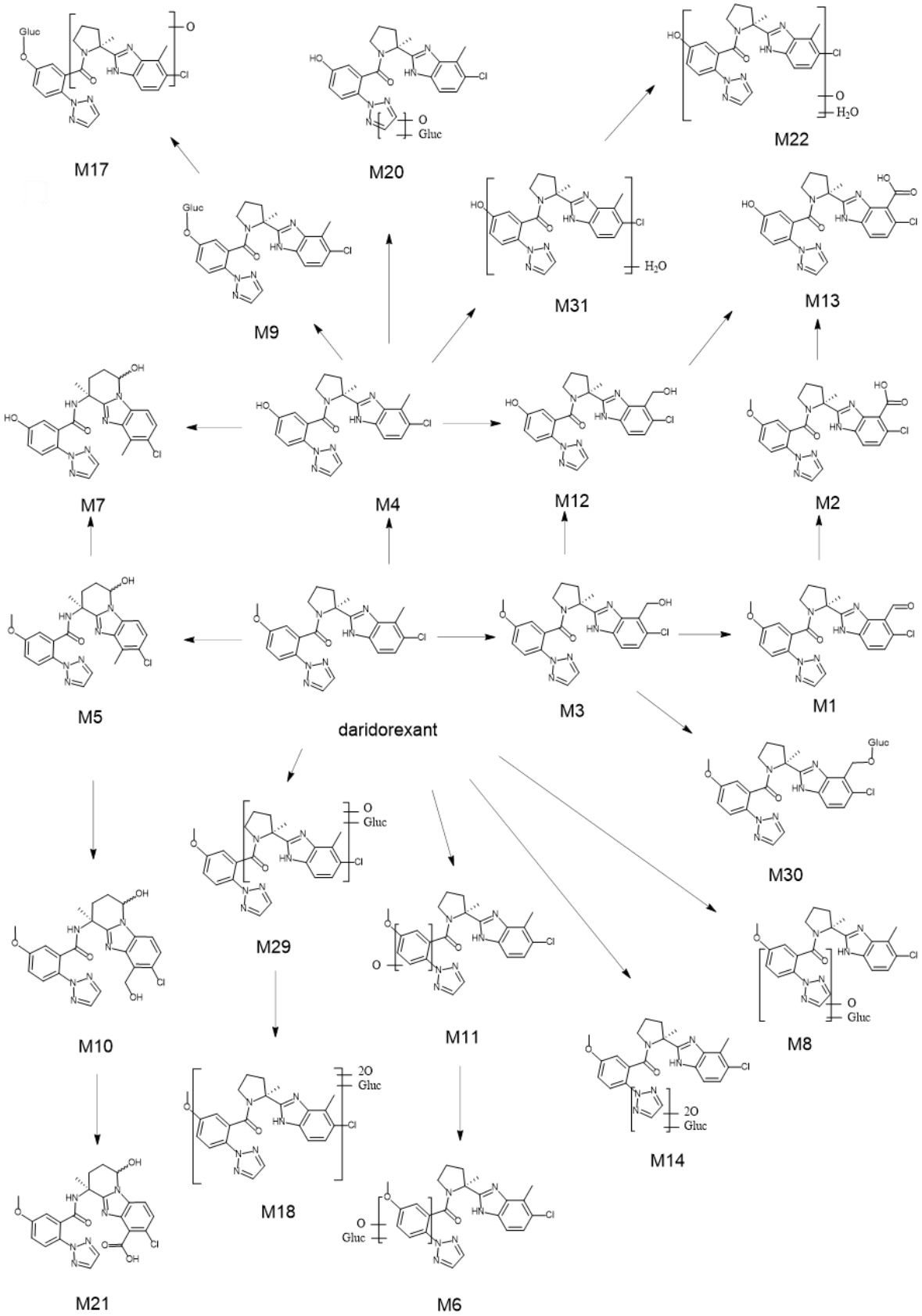
脂肪族アルコールである M3 は、更に酸化されてアルデヒドである M1 及び酸である M2 を生成した。M7、M10、M12、M13 及び M21 を含む数種類の他の二次代謝物は、M3、M4 及び M5 を介する代謝経路の組み合わせにより生成した。M22 及び M31 は M4 の下流代謝物であり、水分子の付加により M31 を、続く酸化により M22 を生成した。

数種類のグルクロン酸抱合体（M6、M9、M17、M18、M20、M29 及び M30 など）も認められ、M6、M9 及び M30 は、それぞれ M11、M4 及び M3 のグルクロン酸抱合体であった。

M17 及び M20 は *O*-脱メチル化、水酸化及びグルクロン酸抱合により生成し、M18 は 2 水酸化及びグルクロン酸抱合により生成した。

参照：モジュール 2.6.5 第 11 項

図 1. ダリドレキサントの推定代謝経路



5.2 *In vitro* における代謝の種差

代謝における種差の可能性について評価するために、ダリドレキサントの安全性評価に用いたすべての種の肝ミクロソーム及び肝細胞を用い、ダリドレキサントの ^{14}C 標識体である ACT-541468E の代謝を *in vitro* で検討した（モジュール 4.2.2.4.2）。詳細な結果を表 12 に示した。

5.2.1 肝ミクロソームにおける代謝

方法：肝ミクロソームにおける代謝は、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、カニクイザル及びヒトで検討した（モジュール 4.2.2.4.2）。インキュベーションは、10 µmol/L の ACT-541468E（ダリドレキサントの ^{14}C 標識体）を用い、0.5 mg/mL のミクロソームタンパク濃度で最長 30 分間行った。また、代謝が P450 又はフラビン含有モノオキシゲナーゼ（FMO）を介したものであることを確認するために、肝ミクロソーム又は還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）を含まない対照実験も行った。検体は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）－放射能及び紫外検出法で分析した。代謝物の化学構造は、標準物質を用い、質量分析法で同定した。

結果：ACT-541468E をヒト肝ミクロソームとインキュベーションしたとき、3 種類の一次代謝物（脂肪族アルコール体の M3、フェノール体の M4 及び再環化されたピペリジノール体の M5）が生成した（図 1）。これら 3 種類の代謝物は、すべての種の肝ミクロソームにおいて一貫して認められた。

代謝プロファイルは同様であったものの、代謝速度に種差が認められた。すなわち、初速度条件下でのダリドレキサントの代謝は、ヒト肝ミクロソームで最も遅く、19%であった。また、ラット、ウサギ、イヌ及びサルでは差は小さく、29～45%であった。さらに、マウスで最も速く、5 分間で 45%代謝された。

ラットでは、代謝プロファイルに性差は認められなかったが、代謝速度は雌の方が 2～3 倍遅かった。これらの結果は、ラットの代謝能に関してよく知られている性差と一致し[Cheng 1982] [Kamataki 1983] [Funae 1987] [Imaoka 1988]、一般に、ヒトには関連しないと考えられる。

参照：モジュール 2.6.5 第 10 項

表 12. 各種の肝ミクロソーム及び肝細胞とインキュベーションしたときのダリドレキサントの代謝プロファイル

種	*In vitro* 試験系	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	代謝物の総和	ダリドレキサント
ヒト	肝ミクロソーム			7.0	4.3	7.6						19	81
	肝細胞 [1)]	4.4	6.9	9.9 - 12	3.9 - 6.7	5.4 - 11	3.0	3.8	7.2	7.7 - 10	1.6 - 6.2	28 - 60	40 - 72
マウス	肝ミクロソーム			10	21	13						45	55
	肝細胞				22			3.7	5.5	36		70	30
ラット	肝ミクロソーム (m)			17	13	5.6						36	52
	肝ミクロソーム (f)			6.7	12	2.2						21	67
	肝細胞 (m) [2)]	1.4		8.4 - 12	3.0	4.5 - 5.6	4.7 - 29		1.9	4.3 - 23	3.2	30 - 71	7.1 - 63
	肝細胞 (f)			9.2	2.2	4.8	3.1			2.6		22	76
ウサギ	肝ミクロソーム			6.6	9.6	15						31	67
	肝細胞			4.3	5.6	2.0				8.6		21	79
イヌ	肝ミクロソーム			12	11	15						37	63
	肝細胞 [2)]	1.4 - 3.8	4.1	11 - 17	5.4	14 - 28		1.0		0.9 - 21	0.7 - 3.4	34 - 77	23 - 66
サル	肝ミクロソーム			11	11	23						45	55
	肝細胞			4.7	9.1	8.4	2.1			6.7		31	69

値は、総放射能クロマトグラムに対するパーセントを表す。動物種特異的な代謝物は記載していないため、合計は 100%にならない場合がある。空欄は、本実験条件下で当該代謝物が検出されなかったことを示す。

1) 3 つの異なるバッチの値を表す（範囲は、2 つ以上のバッチで検出されたことを示す）。

2) 2 つの異なるインキュベーション時間（1 及び 4 時間）の値を表す。

f = 雌、m = 雄

5.2.2 肝細胞における代謝

方法：肝細胞における代謝は、肝ミクロソームにおける代謝と同じ種及び系統で検討した（モジュール 4.2.2.4.2）。インキュベーションは、10 µmol/L の ACT-541468E（ダリドレキサントの ^{14}C 標識体）を用い、ウサギは肝細胞懸濁液で、それ以外はプレートに接着させた肝細胞で、最長 24 時間行った。また、生成物が代謝によるものであることを確認するために、肝細胞を含まない対照実験も行った。検体は、HPLC－放射能及び紫外検出法で分析した。代謝物の化学構造は、標準物質を用い、質量分析法で同定した。

結果：ヒト肝細胞における ACT-541468E の代謝は、新たに調製した 2 つのバッチ及び凍結保存した 1 つのバッチを用いて検討した。すべてのバッチで計 10 種類の代謝物が認められた。また、対照実験から、すべての生成物はダリドレキサントの代謝物であることが確認された。さらに、肝ミクロソームで認められた一次代謝物である M3～M5 以外に、多くの下流代謝物がヒト肝細胞で認められた。脂肪族アルコールである M3 は、更に酸化されてアルデヒドである M1 及び酸である M2 を生成した。フェノールである M4 は、グルクロン酸抱合されて M9 を生成した。ピペリジノール構造を有する M5 は、ベンゾイミダゾール部分のメチル基が水酸化されて M10 を生成した。M7 は、M4 の水酸化又は M5 の酸化的脱メチル化により生成した。M6 及び M8 は下流代謝物であり、酸化及びグルクロン酸抱合の組み合わせにより生成したが、それらの一次代謝物は認められなかった。一次代謝物である M3～M5 は、ほぼすべてのバッチで認められたが、二次代謝物及び代謝速度にはバッチ間差が認められた。

ラット肝細胞では計 14 種類の代謝物が認められ、そのうち 8 種類はヒト肝細胞でも認められた。また、イヌ肝細胞では計 8 種類の代謝物が認められ、すべてヒト肝細胞でも認められた。マウス肝細胞では代謝物の種類は少なく、M4、M7、M8 及び M9 のみ認められた。カニクイザル肝細胞では一次代謝物である M3～M5 に加えて、M6 及び M9 の計 5 種類の代謝物が認められた。ウサギ肝細胞では 3 種類の一次代謝物に加えて、M9 が認められた。全体的に、ヒトにおける代謝物は、これらの動物の肝細胞を用いた実験においても認められた。

肝ミクロソームでは、ダリドレキサントの代謝速度に種差が認められたが、肝細胞でも、ラット、ウサギ、イヌ及びサルでは差はほとんど認められず、マウスで最も速やかに代謝された。また、ラットでは、ダリドレキサントの代謝プロファイル及び代謝速度に性差が認められた。すなわち、M1、M8 及び M10 は、少量であるが雄のみに認められた。また、肝ミクロソームにおける結果と一致して、ダリドレキサントの代謝は雄の方が速やかであった。

参照：モジュール 2.6.5 第 10 項

5.3 ラットにおける代謝

方法：ラットにおけるダリドレキサントの代謝は、静脈内及び経口投与した胆管カニューレ処置ラットを用いて検討した（モジュール 4.2.2.4.3）。各投与経路あたり 2 例の雄 Wistar ラットに、ダリドレキサントの ^{14}C 標識体である ACT-541468E を 0.5%メチルセルロース懸濁液として 10 mg/kg の用量で経口投与、又は 30%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン溶液として 1 mg/kg の用量で静脈内投与した。両投与経路とも、放射能の用量は 3.7×10^6 Bq/kg とした。投与後、胆管カニューレ処置ラットを代謝ケージに入れ、尿、胆汁及び糞を 72 時間採取した。ま

た、サテライト群の無処置ラットから投与 0.5、2 及び 6 時間後に血漿を、サテライト群の各投与経路あたり 1 例の無処置ラットから投与 6 時間後に脳を、それぞれ採取した。総放射能は液体シンチレーション計測法で測定し、ラジオクロマトグラムは HPLC－放射能及び紫外検出法で得た。

結果：ラットの血漿中では、未変化体であるダリドレキサントが投与 0.5 時間後の主要成分であり、計 14 種類の代謝物が認められた。ダリドレキサントの血漿中濃度は、投与後 6 時間で著しく減少した。また、血漿中代謝プロファイルは両投与経路で同様であり、一次代謝物である M3 及び M5、並びに 2 次代謝物である M1、M2 及び M13 が最も多い成分であった。

静脈内投与後のラットの脳内では、未変化体及び M1 のみが認められた。経口投与後でも、両化合物は最も多い成分であったが、M2、M3、M5 及び M13 もわずかに認められた。

ダリドレキサントは代謝され、大部分が胆汁中に排泄された。ラットの胆汁中では、未変化体は認められず、計 18 種類の代謝物が認められ、そのうち 14 種類は両投与経路で認められた。M6 及び M9 が主要成分であり、それぞれ投与量の 17～27 及び 12～19%であった。その他の代謝物は、いずれも投与量の 8%以下であった。

ラットの尿中排泄はわずかであった。未変化体は投与後 4 時間に採取された尿中のみに認められたが、投与量の 0.1%以下であった。また、M5、M7、M10、M21 及び M23 も認められたが、いずれも投与量の 0.3%以下であった。尿中代謝プロファイルは両投与経路で同様であった。

静脈内投与後のラットの糞中では、M2、M6、M7、M10 及び M28 が認められたが、これは血中から消化管腔中に直接分泌されたことによるものであると考えられる。なお、いずれも投与量の 0.3%以下であり、5 種類すべて合わせても、投与量の約 1%であった。経口投与後のラットの糞中には、投与量の約 11%が排泄された。未変化体は投与量の 0.6%であり、計 10 種類の代謝物も認められた。胆汁及び糞中の代謝プロファイルは同様であったことから、消化管壁における初回通過代謝及び／又は消化管腔への血漿中代謝物の分泌が示唆された。

参照：モジュール 2.6.5 第 9 項

5.4 マウスにおける代謝

方法：マウスにおけるダリドレキサントの代謝は、単回及び反復経口投与した CD-1 及び B6C3F1 マウスを用いて検討し、推定代謝経路及び代謝酵素誘導の可能性についても明らかにした（モジュール 2.6.6 第 9.6 項、モジュール 4.2.2.4.4）。すなわち、1 つ目の群では、塩酸塩であるダリドレキサント塩酸塩（ダリドレキサントの ^{14}C 標識体である ACT-541468E を 3.7×10^{6} Bq/kg の用量となるように添加した 0.5%メチルセルロース懸濁液）を 100 mg/kg の用量で単回投与した。また、2 つ目の群では、ダリドレキサント塩酸塩を 100 mg/kg の用量で 13 日間反復投与し、Day 14 にダリドレキサント塩酸塩（ACT-541468E を 3.7×10^{6} Bq/kg の用量となるように添加）を 100 mg/kg の用量で投与した。血液、胆のう及び肝臓は、単回又は 14 日間反復投与 1、2、4 及び 8 時間後に、それぞれ 3 例のマウスから採取した。なお、ラットを用いた代謝試験において、ダリドレキサントは尿中にほとんど排泄されなかったことから（5.3 項）、尿は採取しなかった。さらに、*in vivo* 試験を補完するために、両系統の肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた *in vitro* 試験も行った。肝ミクロソーム及び肝細胞とのインキュベーションは、5.2 項に記載したように行った。総放射能は液体シンチレーション計測法で測定し、ラジオクロマトグラムは LC-

MS/MS－放射能検出法で得た。

結果：以前の *in vitro* 試験結果（5.2 項、表 12）と一致して、両系統とも、M4 を介する代謝経路がマウスの肝ミクロソーム及び肝細胞において最も重要であり、肝ミクロソームでは総代謝の 52～65%、肝細胞では約 80%以上であった。また、代謝プロファイルは両系統で同様であった。

In vivo において、ダリドレキサントは以下の 5 つの経路で代謝された（図 1）。

1) M3 を生成する水酸化
2) M4 を生成する酸化的脱メチル化
3) M5 を生成するピロリジン環の 2 位の最初の水酸化
4) M11 を生成するアニソール環の芳香族水酸化
5) M8 を生成するアニソリルトリアゾール部分の水酸化及び続くグルクロン酸抱合

M8 の一次代謝物は認められなかった。また、すべての一次代謝物は更に代謝された。脂肪族アルコールである M3 は、更に酸化されてアルデヒドである M1 及び酸である M2 を生成した。フェノールである M12 は、M3 の酸化的脱メチル化及び／又は M4 のベンゾイミダゾール部分のメチル基の水酸化により生成した。M4 は、フェノール部分がグルクロン酸抱合されて M9 を、ピロリジン環が水酸化されて M7 を生成した。M9 は、水酸化されて M17 を生成した。M4 は、トリアゾール環が水酸化及びグルクロン酸抱合されて M20 を、水分子が付加されて M31 を生成した。M5 は、酸化的脱メチル化されてフェノールである M7 を、ベンゾイミダゾール部分のメチル基が水酸化されて M10 を生成した。M10 は、ベンゾイミダゾール部分が更に酸化されてカルボン酸である M21 を生成した。M11 は、グルクロン酸抱合されて M6 を生成した。多くの極性代謝物がマウスの検体中に認められた。質量分析結果に基づくと、それらは二次代謝物がグルクロン酸抱合及び／又は更に酸化された下流代謝物であると考えられる。

単回投与後の血漿中では、未変化体であるダリドレキサント、既知の M3、M4 及び M5 を介する経路により生成した代謝物、並びに未知の化学構造を有する代謝物が同様に重要であった。M4 を介する経路の割合は、両系統とも単回投与後は 20%以下であったが、反復投与後は主に M3 及び M5 を介する経路の割合が減少することにより、CD-1 マウスでは約 30%に、B6C3F1 マウスでは 20%以上に、それぞれ増加した。また、M8 及び M11 を介する経路の重要性は、投与期間にかかわらずマイナーであった。

単回及び反復投与後の肝臓及び胆のうにおける代謝プロファイルは同様であった。すなわち、単回投与後は両系統とも M4 を介する経路が最も重要であり、肝臓及び胆のうにおける割合は、それぞれ約 50 及び 70%であった。また、反復投与後はこの経路の重要性が更に高くなり、両系統とも約 70%であった。肝臓及び胆のうにおけるその他の既知の経路の割合は、合計でそれぞれ 24 及び 14%以下であった。

全体的に、両系統のマウスにおける代謝プロファイルは *in vitro* 及び *in vivo* とも同様であった。また、M4 を介する経路がマウスにおけるダリドレキサントの最も重要な代謝経路であった。

参照：モジュール 2.6.5 第 9 項、モジュール 2.6.5 第 10 項

5.5 代謝酵素

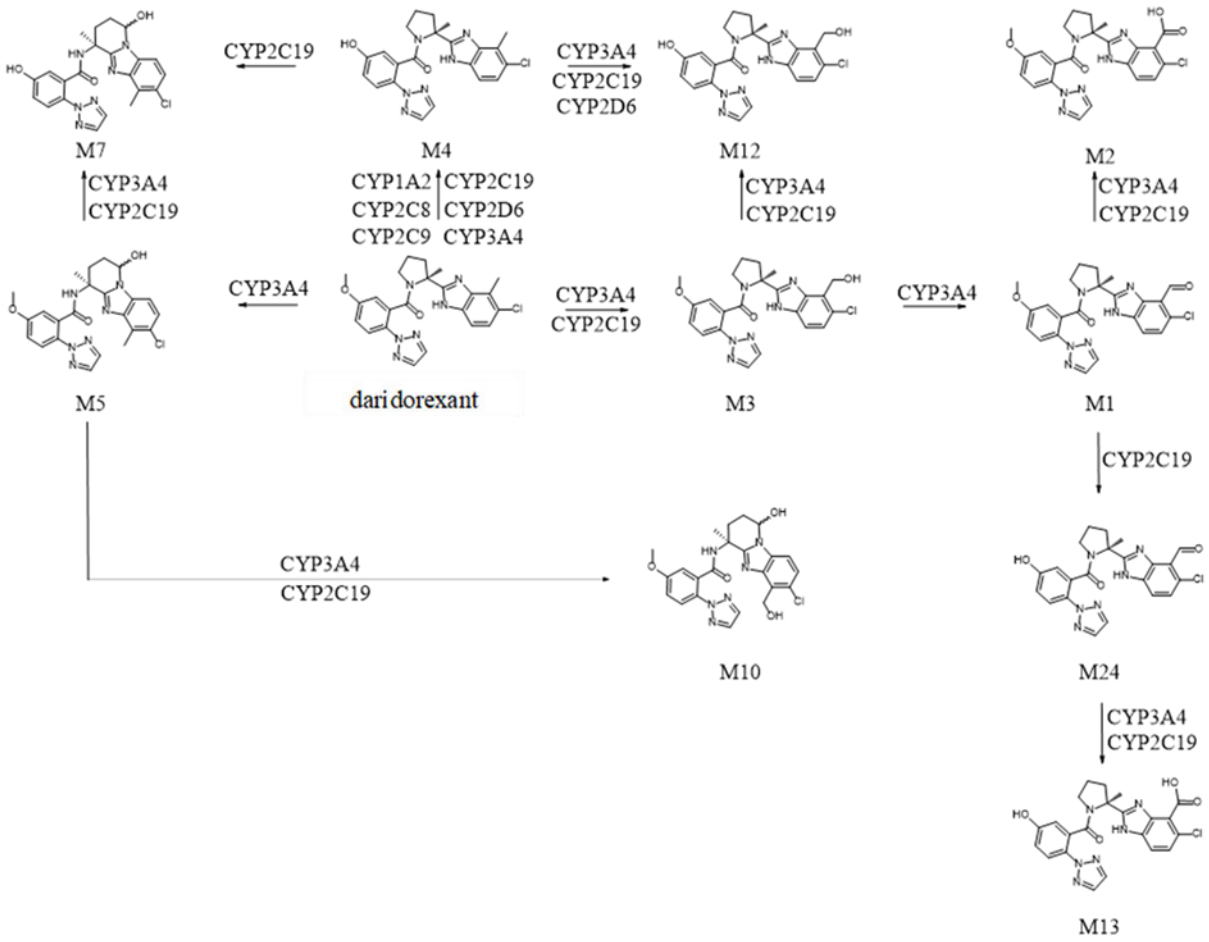
方法：ダリドレキサントの代謝に関与するヒト P450 分子種は、2 つの方法（すなわち、種々の P450 分子種に対する特異的阻害剤の存在下でヒト肝ミクロソームとインキュベーション、及び遺伝子組換えヒト P450 とインキュベーション）を用いて検討した（モジュール 4.2.2.4.5）。本試験では、ダリドレキサントの ^{14}C 標識体である ACT-541468E を用い、100 µmol/L までの濃度範囲で、ヒト肝ミクロソーム、並びに遺伝子組換え CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 とインキュベーションした。なお、代謝プロファイルが複雑であるため、ミカエリス定数（K_m）及び最大速度（V_{max}）は代謝物の生成速度ではなく、基質の消失速度に基づいて推定した。また、システム間のスケーリングファクター及びヒトの肝臓における各 P450 分子種の量を用いて、全代謝クリアランスに対する各分子種の寄与率を推定した。さらに、ダリドレキサントの二次代謝に関与する P450 分子種を同定するために、M1（ACT-776537）、M2（ACT-776353）、M3（ACT-776063）、M4（ACT-774170）及び M5（ACT-1006-2069）の標準物質、並びに遺伝子組換え P450 を用いて追加試験を実施した。検体は、LC-MS/MS 又は HPLC－放射能検出法で分析した。試験結果を図 2 に示した。

結果：生化学的データに基づくと、CYP3A4 がダリドレキサントの代謝に関与する主要な P450 分子種であり、*in vitro* における代謝クリアランスの 89%を占めた。また、CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 も一部関与することが示されたが、いずれも 3%未満であった。具体的には、CYP3A4 は M5 の生成を触媒する唯一の P450 分子種であり、M3 及び M4 の生成にも主に関与した。また、M3 は CYP2C19 を介しても、M4 は CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 を介しても生成した。

CYP2C19 及び CYP3A4 は、いくつかの二次代謝物の生成にも関与した。すなわち、M7 は、CYP2C19 及び CYP3A4 を介して M5 から、並びに CYP2C19 を介して M4 から生成した。また、M12 は、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 を介して M4 から、並びに CYP2C19 及び CYP3A4 を介して M3 から生成し、M10 は、CYP2C19 及び CYP3A4 を介した M5 の脂肪族水酸化により生成した。さらに、CYP2C19 及び CYP3A4 は、脂肪族アルコールである M3 からアルデヒドである M1 及び／又は M1 から酸である M2 への酸化にも関与した。

参照：モジュール 2.6.5 第 10 項

図 2. ダリドレキサントの代謝に関与するチトクローム 450 分子種



CYP = チトクローム P450

5.6 動物におけるチトクローム P450 及びグルクロン酸転移酵素の誘導

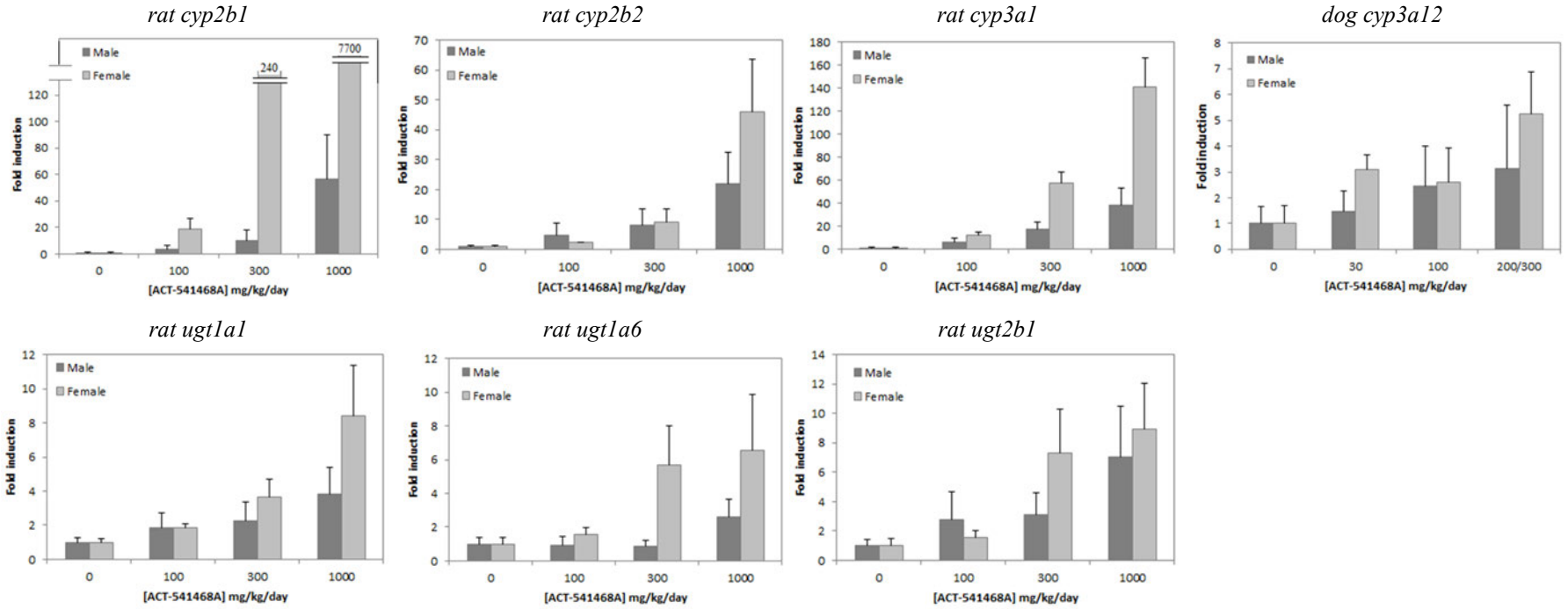
ラットを用いた 4 週間毒性試験においてダリドレキサントを反復経口投与したとき、ダリドレキサントの曝露量は減少し、甲状腺ホルモンの変化を伴った（3.12 項、モジュール 4.2.3.2.5）。これらの結果は、薬物代謝酵素の誘導を示していると考えられる。このようなダリドレキサントの曝露量の減少は、イヌを用いた 4 週間毒性試験では認められなかった（3.12 項、モジュール 4.2.3.2.9）。そこで、両 4 週間毒性試験から得られた肝臓を分析し、P450 誘導がダリドレキサントの薬物動態の経時的変化を説明できるか否かを検討した。また、ラットで認められた甲状腺に関する所見の発現機序を明らかにするために、ウリジン 5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素（UGT）分子種である UGT1A1、UGT1A6 及び UGT2B1 の誘導も検討した。

方法：4 週間毒性試験におけるすべての投与群の肝臓検体を剖検時に採取し、リボ核酸（RNA）を保護するために、RNA*later*®溶液に保存した（モジュール 4.2.2.4.6）。ラット CYP2B1、CYP2B2 及び CYP3A1、イヌ CYP3A12、並びにラット UGT1A1、UGT1A6 及び UGT2B1 の mRNA は、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法で測定した。また、ダリドレキサント投与群及び溶媒対照群の肝臓における転写レベルは、比較サイクル閾値法で測定した。両動物種における mRNA 発現量の溶媒対照群に対する比を図 3 に示した。

結果：雌雄ラットにダリドレキサントを反復投与したとき、CYP2B1、CYP2B2、CYP3A1、UGT1A1、UGT1A6 及び UGT2B1 の mRNA は、ダリドレキサントの用量増加とともに増加した。最も顕著な増加は CYP2B1 の mRNA で認められ、1000 mg/kg 投与群の雄及び雌ラットでは、それぞれ溶媒対照群の約 56 及び 7700 倍であった。CYP2B2 及び CYP3A1、並びにすべての UGT 分子種に対する誘導作用は、CYP2B1 と比較して顕著ではなかった。また、溶媒対照群に対する増加率は、概して雌の方が高かった。一方、雌雄イヌにダリドレキサントを反復投与したとき、CYP3A12 の mRNA はダリドレキサントの用量増加とともに増加し、300/200 mg/kg 投与群の雄及び雌イヌでは、それぞれ溶媒対照群の約 3 及び 5 倍であった。

参照：モジュール 2.6.5 第 12 項

図 3. 4 週間毒性試験の肝臓検体におけるラット CYP2B1/2、CYP3A1、UGT1A1/6 及び UGT2B1、並びにイヌ CYP3A12 の mRNA 誘導



値は、溶媒対照群に対する mRNA 発現量の比（平均値及び標準偏差）を表す。
ACT-541468A = ダリドレキサントの塩酸塩、cyp = チトクローム P450、mRNA = メッセンジャーリボ核酸、ugt = ウリジン 5’-二リン酸-グルクロン酸転移酵素

6. 排泄

6.1 ラットにおける排泄

ダリドレキサントの排泄に関する特別な試験は実施していない。ラットにおける排泄の経路と程度に関するデータは、胆管カニューレ処置ラットを用いた代謝試験から得た（モジュール 4.2.2.4.3）。

方法：5.3 項

結果：経口投与後 72 時間までの総回収率は、94%超であった。また、薬物由来物質の約半分が投与後 4 時間以内に排泄され、投与量の 87%超が投与後 24 時間以内に排泄された。胆汁中排泄が主排泄経路であり、胆汁中排泄率は投与量の 81～93%であった。一方、尿中排泄率は投与量の 2%未満であった。胆汁及び尿中に排泄された総放射能の合計に基づくと、投与量の約 90%が消化管から吸収されたことが示された。また、薬物動態試験において推定された経口バイオアベイラビリティは 15%であったことから（表 2）、顕著な初回通過効果を受けたことが示された。

静脈内投与後 72 時間までの総回収率は、90～91%であった。また、排泄は経口投与後より速やかであり、薬物由来物質の 77～83%が投与後 4 時間以内に排泄された。胆汁中排泄が主排泄経路であり、胆汁中排泄率は投与量の 87%超であった。一方、尿中排泄率は投与量の 2%未満であった。また、糞中排泄率は投与量の 1%程度であったことから、薬物由来物質が直接消化管腔内に分泌される割合は極めてわずかであることが示唆された。

参照：モジュール 2.6.5 第 13 項

7. 薬物動態学的薬物相互作用

7.1 ダリドレキサントの被相互作用薬としての可能性

ヒト ADME 試験（AC-078-101 試験、モジュール 5.3.2.3.1）において、ダリドレキサントは代謝された後、糞中に排泄された。薬物由来物質の尿中排泄はマイナーな排泄経路であった。また、計 77 種類の代謝物がヒトにおいて認められ、尿及び糞中に排泄されたダリドレキサントはわずかであった。

7.1.1 チトクローム P450 阻害剤及び誘導剤の影響

5.5 項に記載したように、ヒト肝ミクロソーム及び遺伝子組換え P450 を用いた試験結果に基づくと、ダリドレキサントの消失の大部分は CYP3A4 に依存し、*in vitro* における代謝クリアランスの 89%を占めた。また、CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 を含む他の分子種は臨床上重要ではなく、いずれも代謝クリアランスの 3%未満であった。したがって、CYP3A4 の阻害剤又は誘導剤を併用すると、ヒトにおけるダリドレキサントの薬物動態は変動すると予想される。

参照：モジュール 2.6.5 第 10 項、モジュール 4.2.2.4.5

7.1.2 薬物トランスポーター阻害剤の影響

4.6 項に記載した試験結果に基づくと、ダリドレキサントは取込みトランスポーターである OATP の基質ではなく、排出トランスポーターである MDR1/P-gp 及び BCRP の基質でもないこ

とが示された。したがって、これらのトランスポーターの阻害剤及び誘導剤を併用しても、ダリドレキサントの経口吸収及び肝消失は変動しないと予想される。

参照：モジュール 2.6.5 第 15 項、モジュール 4.2.2.3.5

7.2 ダリドレキサントの相互作用薬としての可能性

7.2.1 チトクローム P450 阻害

7.2.1.1 競合阻害

方法：ヒト P450 に対するダリドレキサント及び 3 種類の主要代謝物の阻害作用は、ヒト肝ミクロソーム又は CYP2C19 についてはバキュロウイルス感染 Sf9 細胞に発現させた遺伝子組換え P450、及び各 P450 分子種に特異的な基質を用い、*in vitro* で検討した（モジュール 4.2.2.6.1、モジュール 4.2.2.6.2）。IC_{50} の測定では、K_m 付近の濃度の基質及び最高 100 µmol/L の濃度の被験物質を用いた。また、各 P450 分子種に対する既知の阻害剤を陽性対照として用いた。生成した代謝物及び残存している被験物質の濃度は、LC-MS/MS 法で測定した。実験器具及び肝ミクロソームに対する非特異的結合は、迅速平衡透析法で測定した。各 CYP 分子種に対する IC_{50} 及び K_i を表 13 に示した。

結果：ダリドレキサントは CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6 及び CYP2D6 を含む複数の P450 分子種の弱い阻害剤であり、IC_{50} は約 50 µmol/L 以上であった。また、CYP2C ファミリーの 3 つの分子種（CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19）に対してより顕著な阻害を示し、IC_{50} は 8.2～19 µmol/L であった。CYP3A4 阻害は、特異的基質としてミダゾラム及びテストステロンを用いて評価した。阻害プロファイルは両基質で同様であり、IC_{50} 及び K_i は、それぞれ 7.3～15 及び 4.6～4.8 µmol/L であった。

代謝物の阻害作用は、未変化体と同様の傾向を示したが、おおむね弱かった。これは、代謝物が未変化体より極性が高いことによると考えられる。

参照：モジュール 2.6.5 第 12 項

表 13. ダリドレキサント及びその主要代謝物によるチトクローム P450 の競合阻害

チトクローム P450 [1)]	IC_{50} (μmol/L)			
	ダリドレキサント	M1	M3	M10
CYP1A2	84	> 100	> 100	> 100
CYP2A6	> 100	n.d.	n.d.	n.d.
CYP2B6	67	88	> 100	> 100
CYP2C8	18	17	26	> 100
CYP2C9	19	26	55	> 100
CYP2C19	8.2	11	63	88
CYP2D6	46	44	65	> 100
CYP3A4 [2)]	15 (4.8) [4)]	26	38	94
CYP3A4 [3)]	7.3 (4.6) [4)]	26	32	> 100

1) 酵素反応：CYP1A2；フェナセチン *O*-脱エチル化、CYP2A6；クマリン 7-水酸化、CYP2B6；ブプロピオン水酸化、CYP2C8；パクリタキセル 6α-水酸化、CYP2C9；ジクロフェナク 4'-水酸化、CYP2C19；(*S*)-メフェニトイン 4'-水酸化、CYP2D6；デキストロメトルファン *N*-脱メチル化
2) 酵素反応：ミダゾラム 1'-水酸化
3) 酵素反応：テストステロン 6β-水酸化
4) 括弧内は K_i を表す。
CYP = チトクローム P450、IC_{50} = 50%阻害濃度、K_i = 阻害定数、n.d. = 推定せず

7.2.1.2 時間依存的阻害

方法：ダリドレキサント及び 3 種類の主要代謝物の時間依存的阻害作用は、ヒト肝ミクロソーム又は遺伝子組換え CYP2C19、及び競合阻害試験と同じ P450 基質（7.2.1.1 項）を用いて検討した（モジュール 4.2.2.6.1、モジュール 4.2.2.6.2、モジュール 4.2.2.6.3）。K_m の約 10 倍の濃度の基質及び複数の濃度の被験物質を用い、2 種類の実験を行った。すなわち、1 つ目の実験では、NADPH 生成系の非存在下で、被験物質を添加してプレインキュベーションし、その後、基質及び NADPH 生成系を添加して反応を開始した。2 つ目の実験では、被験物質と同時に NADPH 生成系を添加してプレインキュベーションし、30 分間のプレインキュベーション終了時に基質を添加した。両実験において IC_{50} を測定し、2 つ目の実験に対する 1 つ目の実験の IC_{50} の比を IC_{50} シフト値として算出した。このように、IC_{50} シフト値は、プレインキュベーション中の酵素活性の変化を表す指標である。また、各 P450 分子種に対する既知の阻害剤を陽性対照として用いた。生成した代謝物及び残存している被験物質の濃度は、LC-MS/MS 法で測定した。実験器具及び肝ミクロソームに対する非特異的結合は、迅速平衡透析法で測定した。試験結果を表 14 に示した。

さらに、CYP3A4 に対するダリドレキサント及び M1 の最大不活性化速度定数（k_{inact}）及び最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす濃度（K_I）を推定した。ダリドレキサントは最高 400 μmol/L の濃度で、M1 は最高 1500 μmol/L の濃度で行い、テストステロン 6β-水酸化を CYP3A4 特異的反応として用いた。推定された k_{inact} 及び K_I を表 15 に示した。

結果：CYP3A4 を除き、ダリドレキサント及びその代謝物は、いずれの P450 分子種に対しても時間依存的阻害を示さなかった（表 14）。一方、ダリドレキサント及び M1 は、CYP3A4 活性に対して小さいが一貫した影響を示し、その影響は NADPH 依存的であり、濃度の増加及びプレ

インキュベーションにより増加した。また、CYP3A4 に対する不活化パラメータ（k_{inact} 及び K_I）は、両化合物で推定された（表 15）。

参照：モジュール 2.6.5 第 12 項

表 14. ダリドレキサント及びその主要代謝物によるチトクローム P450 の時間依存的阻害

チトクローム P450	被験物質	IC_{50} (µmol/L) pre-inc なし	IC_{50} (µmol/L) pre-inc あり	IC_{50} シフト値
CYP1A2	ダリドレキサント	> 100	> 100	n.d.
	M1	> 100	> 100	n.d.
	M3	> 100	> 100	n.d.
	M10	> 100	> 100	n.d.
CYP2B6	ダリドレキサント	> 100	> 100	n.d.
	M1	> 100	> 100	n.d.
	M3	> 100	> 100	n.d.
	M10	> 100	> 100	n.d.
CYP2C8	ダリドレキサント	32	41	0.8
	M1	42	43	1.0
	M3	> 100	80	> 1.3
	M10	> 100	> 100	n.d.
CYP2C9	ダリドレキサント	56	64	0.9
	M1	69	89	0.8
	M3	> 100	> 100	n.d.
	M10	> 100	> 100	n.d.
CYP2C19	ダリドレキサント	33	21	1.6
	M1	48	26	1.8
	M3	> 100	> 100	n.d.
	M10	> 100	> 100	n.d.
CYP2D6	ダリドレキサント	72	77	0.9
	M1	99	> 100	< 1
	M3	> 100	> 100	n.d.
	M10	> 100	> 100	n.d.
CYP3A4	ダリドレキサント	22	6.4	3.4
	M1	95	21	4.5
	M3	> 100	76	> 1.3
	M10	> 100	> 100	n.d.

CYP = チトクローム P450、IC_{50} = 50%阻害濃度、n.d. = 算出せず、pre-inc =還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）生成系を添加したプレインキュベーション
モジュール 4.2.2.6.1、モジュール 4.2.2.6.2、モジュール 4.2.2.6.3

表 15. ダリドレキサント及び M1 による CYP3A4 の時間依存的阻害パラメータ

被験物質	K_I (μmol/L)	k_{inact} (min^{-1})	k_{inact}/K_I (L/mmol/min)
ダリドレキサント	44	0.036	0.8
M1	333	0.071	0.2

値は、平均値（n = 3）を表す。
CYP = チトクローム P450、K_I = 最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす濃度、k_{inact} = 最大不活性化速度定数、n = 例数
モジュール 4.2.2.6.1、モジュール 4.2.2.6.2

7.2.2 チトクローム P450 誘導

7.2.2.1 ヒトプレグナン X 受容体活性化

方法：ダリドレキサント及び 3 種類の主要代謝物の P450 誘導作用は、最初にレポーター遺伝子アッセイ法を用い、*in vitro* でヒト PXR 活性化の有無を調べることにより検討した（モジュール 4.2.2.6.4、モジュール 4.2.2.6.5）。ヒト PXR はミドリザル CV-1 細胞に発現させ、活性化は 0.03～30 μmol/L の濃度範囲で評価した。また、リファンピシンを陽性対照として用いた。これらの試験系における非結合型分率は、迅速平衡透析法で測定した。試験結果を表 16 に示した。

結果：ダリドレキサント及びその代謝物は、濃度依存的にヒト PXR を活性化した。ダリドレキサント及び M3 の EC_{50} はそれぞれ 3.0 及び 2.4 μmol/L であり、最大誘導作用（E_{max}）はそれぞれ溶媒対照の 6.6 及び 6.2 倍であった。なお、M1 では 3 μmol/L 超の濃度で細胞毒性が認められ、M10 では最高濃度の 30 μmol/L で最大誘導作用に達しなかったため、M1 及び M10 では十分な濃度－反応曲線が得られなかった。比較のために、これら 4 つの化合物の 1 μmol/L の濃度でのヒト PXR 活性化も表 16 に示した。

参照：モジュール 2.6.5 第 12 項

表 16. ダリドレキサント及びその主要代謝物によるヒト PXR 活性化

被験物質	EC_{50} (μmol/L)	E_{max}	1 μmol/L での活性化
ダリドレキサント	3.0	6.6	2.1
M1	n.d. [1),2)]	n.d.	4.0
M3	2.4	6.2	2.2
M10	n.d. [2)]	n.d.	1.0

1) 3 μmol/L 超の濃度で CV-1 に対する細胞毒性が認められた。
2) 十分な濃度－反応曲線が得られなかった。
EC_{50} = 最大効果の 50%の効果をもたらす濃度、E_{max} = 最大誘導作用、n.d. = 推定せず、PXR = プレグナン X 受容体

7.2.2.2 チトクローム P450 誘導

CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4 の mRNA に対するダリドレキサントの誘導作用は、ヒト肝細胞を用いて検討した。また、ダリドレキサント及び CYP3A4 基質としてミダゾラムを用いた臨床 DDI 試験（AC-078-104 試験、モジュール 5.3.3.4.2）において、CYP3A4 の誘導を示唆する結果は認められず、CYP2C9 の誘導も引き起こさないと考えられたため、代謝物の誘導

作用は、CYP1A2 及び CYP2B6 についてのみ評価した。なお、75 mg までの反復用量漸増投与（MAD）試験（AC-078-102 試験、モジュール 5.3.3.1.2）においても、ダリドレキサントの曝露量の減少は認められなかった。

方法：ダリドレキサントによる CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4 の mRNA 発現レベルの変化は、少なくとも 3 つのバッチ（すべて凍結保存を用いた CYP1A2 を除き、少なくとも 2 つは凍結保存、1 つは新たに調製）の初代培養ヒト肝細胞を用い、0.3～30 µmol/L の濃度範囲で評価した（モジュール 4.2.2.6.4）。規定濃度のダリドレキサントを含む培地を毎日交換し、肝細胞を 68 時間インキュベーションした。また、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陽性対照として用いた。各 P450 分子種の mRNA は、リアルタイム PCR 法で測定し、無処理の肝細胞における発現レベルと比較した。培地中のダリドレキサント濃度は LC-MS/MS 法で測定し、実験器具及び肝細胞に対する非特異的結合は迅速平衡透析法で測定した。

ダリドレキサントの代謝物による各 P450 分子種の mRNA 発現レベルの変化は、同じ試験系を少し変更して測定した（モジュール 4.2.2.6.5）。すなわち、3 種類すべての代謝物は 0.3～10 µmol/L の濃度範囲で評価し、肝細胞は 72 時間インキュベーションした。

結果：ダリドレキサントは、ヒト肝細胞において、0.3～30 µmol/L の濃度範囲で濃度依存的に CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4 の mRNA 発現を誘導した。CYP3A4 の mRNA に対する十分な活性化曲線は 1 つのバッチのみで得られ、EC_{50} は 2.4 µmol/L であった。他の 2 つのバッチでは、30 µmol/L の濃度で最大誘導作用に達しなかった。同様に、CYP2C9 の mRNA に対する十分な活性化曲線も 1 つのバッチのみで得られ、EC_{50} は 1.2 µmol/L であった。他の 2 つのバッチでは、30 µmol/L の濃度で作用が認められなかったか、最大誘導作用に達しなかった。CYP2B6 の mRNA 発現は濃度依存的に増加したが、30 µmol/L の濃度で最大誘導作用に達しなかった。CYP1A2 の mRNA に対するダリドレキサントの一貫した作用は認められなかった。

M1 及び M3 は、濃度依存的に CYP2B6 の mRNA 発現を誘導した。M1 は、3～10 µmol/L の濃度で CYP2B6 の mRNA を最も増加させたが、陽性対照であるフェノバルビタールの 24%以下であった。M3 は、10 µmol/L の濃度で CYP2B6 の mRNA を最も増加させたが、誘導作用にはばらつきが認められた。CYP2B6 の mRNA 増加は、溶媒対照の 1.9～8.9 倍であり、フェノバルビタールの最大作用の 19～38%であった。M10 は、10 µmol/L の濃度まで CYP2B6 の mRNA 発現に影響しなかった。また、未変化体であるダリドレキサントと同様に、いずれの代謝物も CYP1A2 の mRNA に対して一貫した作用を示さなかった。

参照：モジュール 2.6.5 第 12 項

7.2.3 薬物トランスポーター阻害

方法：取込みトランスポーターである OATP1B1、OATP1B3、有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3、OCT1 及び OCT2、並びに排出トランスポーターである多剤・毒性化合物排出タンパク（MATE）1、MATE2-K 及び MDR1/P-gp に対するダリドレキサント及び 3 種類の主要代謝物の阻害作用は、各トランスポーターを発現した MDCKII、CHO 及びヒト胎児腎臓（HEK）293 細胞、並びにその野生型細胞を用いて検討し、排出トランスポーターである BCRP に対する各阻害作用は、BCRP を発現した Sf9 膜小胞を用いて検討した（モジュール 4.2.2.6.6、モジュール 4.2.2.6.7、モジュール 4.2.2.6.8）。OATP、OAT、OCT 及び MATE に対する作用は、複

数の濃度の被験物質を用い、各トランスポーター特異的基質の細胞内取込みを測定することにより評価した。MDR1/P-gp に対する阻害作用は、トランスウェルアッセイ法を用い、ジゴキシン及びコルヒチンの双方向輸送の変化を測定することにより評価した。なお、OATP 阻害実験は、30 分間のプレインキュベーション時間を設定して行った。また、ダリドレキサント及びその代謝物は最高 300 µmol/L の濃度で行い、各トランスポーターに対する既知の阻害剤を陽性対照として用いた。各基質濃度は LC-MS/MS 法で測定し、各試験系における非特異的結合も測定した。各トランスポーターに対する IC_{50} を表 17 に示した。

結果：ダリドレキサントは、複数のトランスポーターを阻害した。最も強い阻害は BCRP 及び MATE で認められ、IC_{50} は 3.0～9.7 µmol/L であった。OATP、OAT3、OCT1 及び MDR1/P-gp に対する阻害はそれほど顕著ではなく、IC_{50} は 11～71 µmol/L であった。また、OAT1 及び OCT2 に対する IC_{50} は、検討した最高濃度である 100 µmol/L より高かった。ダリドレキサントの代謝物による薬物トランスポーター阻害はおおむね弱かったが、M1 は OATP1B1 を発現した細胞へのアトルバスタチンの取込みを 4.5 µmol/L の IC_{50} で阻害し、M1 及び M3 は OCT1 を発現した細胞へのメトホルミンの取込みをそれぞれ 0.5 及び 8.0 µmol/L の IC_{50} で阻害した。

参照：モジュール 2.6.5 第 15 項

表 17. ダリドレキサント及びその主要代謝物による薬物トランスポーター阻害

薬物トランスポーター[1)]	IC_{50} (µmol/L)			
	ダリドレキサント	M1	M3	M10
MDR1/P-gp [2)]	24 / 21	31 / 32	94 / > 100	> 100 / > 100
BCRP	3.0	10	21	> 100
OATP1B1	11 [3)]	4.5	> 30	> 50
OATP1B3	16 [3)]	> 30	> 30	> 50
OAT1	> 100	> 30	> 30	> 50
OAT3	39	> 22.5	> 90	> 300
OCT1	71	0.5	8.0	180
OCT2	> 100	> 30	> 30	> 50
MATE1	9.7	16	23	230
MATE2-K	8.4	> 22.5	100	> 300

1) 基質：BCRP；メトトレキサート、MATE1 及び MATE2-K；メトホルミン、OAT1；p-アミノ馬尿酸、OAT3；エストロン-3-硫酸、OATP1B1 及び OATP1B3；アトルバスタチン、OCT1；1-メチル-4-フェニルピリジニウムヨージド及びメトホルミン、OCT2；1-メチル-4-フェニルピリジニウムヨージド、P-gp/MDR1；ジゴキシン及びコルヒチン
2) MDR1/P-gp 基質としてジゴキシン/コルヒチンを用いたときの値を表す。
3) 30 分間のプレインキュベーション時間を設定したときの値を表す。

BCRP = 乳がん耐性タンパク、IC_{50} = 50%阻害濃度、MATE = 多剤・毒性化合物排出タンパク、MDR = 多剤耐性タンパク、OAT = 有機アニオントランスポーター、OATP = 有機アニオン輸送ポリペプチド、OCT = 有機カチオントランスポーター、P-gp = P-糖タンパク

7.3 生理学的薬物速度論モデルを用いた薬物相互作用の予測

睡眠薬では薬理学的作用の発現潜時及び持続性が特に重要であるため、PBPK モデルは創薬段

階で化合物を選択する過程において広く用いられている[Treiber 2017]。初期の PBPK モデルは複数の第 1 相臨床試験結果を用いて改良され、50 mg のダリドレキサントが CYP3A4 及び BCRP 基質の薬物動態プロファイルに及ぼす影響、並びに CYP3A4 阻害剤及び誘導剤が 25 及び 50 mg のダリドレキサントの薬物動態プロファイルに及ぼす影響を予測するために用いた（モジュール 4.2.2.6.9）。

方法：PBPK プラットフォームとして SimCYP を用い、物理的化学的性質、*in vitro* における生化学的データ及び複数の第 1 相臨床試験結果に基づき、ダリドレキサントの PBPK モデルを構築した。また、SAD/MAD 試験、食事の影響に関する試験、並びに CYP3A4 基質であるミダゾラム、CYP3A4 阻害剤であるジルチアゼム、CYP3A4 誘導剤であるエファビレンツ及び BCRP 基質であるロスバスタチンとの臨床 DDI 試験から得られた結果と比較することにより、PBPK モデルを検証した。シミュレーションに用いた母集団は各臨床試験における母集団に合わせ、少なくとも 100 回試験を実施しシミュレーションした。臨床薬物動態データは PBPK モデルによって良好にシミュレーションされたことから、本 PBPK モデルは、50 mg のダリドレキサントがミダゾラム及びロスバスタチンの薬物動態プロファイルに及ぼす影響、並びに種々の CYP3A4 阻害剤及び誘導剤が 25 及び 50 mg のダリドレキサントの薬物動態プロファイルに及ぼす影響を予測する上で、十分な頑健性を有することが示された。そこで、本 PBPK モデルを用い、弱い（シメチジン及びラニチジン）、中程度（ジルチアゼム、ベラパミル、エリスロマイシン及びフルコナゾール）及び強い（イトラコナゾール及びケトコナゾール）CYP3A4 阻害剤による DDI の可能性を予測した。また、中程度（エファビレンツ及びカルバマゼピン）及び強い（リファンピシン）CYP3A4 誘導剤による DDI の可能性も予測した。ダリドレキサントの被相互作用薬としての結果を表 18 に、相互作用薬としての結果を表 19 に、それぞれ示した。AUC 及び C_{max} の幾何平均比（GMR）に加えて、表 18 には、翌朝の曝露量のサロゲートとして、投与 9 時間後における血漿中濃度（C_{9h}）の GMR も記載した。

結果：7.3.1 項、7.3.2 項、7.3.3 項

7.3.1 PBPK モデルの検証

PBPK モデルは、中程度の CYP3A4 阻害剤であるジルチアゼム（AC-078-103 試験、モジュール 5.3.3.4.1）、中程度の CYP3A4 誘導剤であるエファビレンツ（ID-078-120 試験、モジュール 5.3.3.4.4）、CYP3A4 基質であるミダゾラム（AC-078-104 試験、モジュール 5.3.3.4.2）及び BCRP 基質であるロスバスタチン（ID-078-106 試験、モジュール 5.3.3.4.3）との臨床 DDI 試験から得られた結果と比較することにより検証した。ダリドレキサントの用量は、50 mg を用いたエファビレンツとの試験を除くすべての臨床 DDI 試験で 25 mg を用いた。

ダリドレキサントの被相互作用薬としての予測は、実測値とよく一致した（表 18）。すなわち、ジルチアゼムの場合、ダリドレキサントの AUC 及び C_{max} の GMR は、実測値でそれぞれ 2.33 及び 1.41、予測値でそれぞれ 2.43 及び 1.22 であった。また、エファビレンツの場合、実測値でそれぞれ 0.41 及び 0.65、予測値でそれぞれ 0.36 及び 0.64 であった。

ダリドレキサントの相互作用薬としての予測も、実測値と近似した（表 19）。すなわち、ダリドレキサントを 25 mg の用量で単回経口投与したとき、ミダゾラムの AUC 及び C_{max} の GMR は、実測値でそれぞれ 1.11 及び 1.20、予測値でともに 1.00 であった。同様に、ダリドレキサン

トを 25 mg の用量で 5 日間反復経口投与したとき、実測値でそれぞれ 0.98 及び 0.94、予測値でそれぞれ 0.87 及び 0.89 であった。また、ダリドレキサントを 25 mg の用量で反復経口投与したとき、ロスバスタチンの AUC 及び C_{max} の GMR は、実測値（範囲）でそれぞれ 0.94（0.85～1.04）及び 0.93（0.82～1.04）、予測値でともに 1.00 であった。

表 18. 25 及び 50 mg のダリドレキサントの薬物動態に及ぼす CYP3A4 阻害剤及び誘導剤の影響

相互作用薬（程度）	ダリドレキサントの用量 (mg)		幾何平均比		
			$AUC_{0\text{-}t}$ [1)]	C_{max}	C_{9h}
CYP3A4 阻害剤					
シメチジン（弱い）	25	予測	1.15 (1.15 - 1.15)	1.09 (1.09 - 1.09)	1.14 (1.14 - 1.15)
	50	予測	1.14 (1.14 - 1.14)	1.09 (1.09 - 1.09)	1.13 (1.13 - 1.13)
ラニチジン（弱い）	25	予測	1.49 (1.47 - 1.50)	1.08 (1.08 - 1.08)	1.60 (1.58 - 1.62)
	50	予測	1.49 (1.47 - 1.50)	1.09 (1.09 - 1.09)	1.61 (1.59 - 1.63)
ジルチアゼム（中程度）	25	実測	2.33 (1.94 - 2.81)	1.41 (1.23 - 1.61)	N/A
	25	予測	2.43 (2.39 - 2.46)	1.22 (1.21 - 1.22)	N/A
	50	予測	2.41 (2.37 - 2.44)	1.24 (1.23 - 1.24)	2.30 (2.26 - 2.34)
ベラパミル（中程度）	25	予測	2.93 (2.88 - 2.99)	1.27 (1.26 - 1.27)	2.77 (2.71 - 2.83)
	50	予測	2.89 (2.83 - 2.94)	1.29 (1.28 - 1.29)	2.69 (2.64 - 2.74)
エリスロマイシン（中程度）	25	予測	3.63 (3.55 - 3.70)	1.32 (1.31 - 1.33)	3.17 (3.09 - 3.26)
	50	予測	3.56 (3.49 - 3.64)	1.35 (1.34 - 1.35)	3.07 (2.99 - 3.15)
フルコナゾール（中程度）	25	予測	3.08 (3.06 - 3.11)	1.31 (1.31 - 1.32)	3.06 (2.99 - 3.13)
	50	予測	3.05 (3.03 - 3.08)	1.34 (1.33 - 1.34)	2.98 (2.92 - 3.04)
イトラコナゾール（強い）	25	予測	5.90 (5.78 - 6.01)	1.43 (1.42 - 1.44)	4.22 (4.10 - 4.34)
	50	予測	5.82 (5.71 - 5.94)	1.47 (1.46 - 1.48)	4.10 (3.98 - 4.21)
ケトコナゾール（強い）	25	予測	5.50 (5.39 - 5.61)	1.42 (1.41 - 1.43)	4.08 (3.96 - 4.20)
	50	予測	5.46 (5.35 - 5.57)	1.46 (1.45 - 1.48)	3.96 (3.85 - 4.08)
CYP3A4 誘導剤					
エファビレンツ（中程度）	50	実測	0.41 (0.36 - 0.46)	0.65 (0.54 - 0.78)	N/A
	25	予測	0.35 (0.35 - 0.36)	0.64 (0.64 - 0.65)	0.22 (0.21 - 0.22)
	50	予測	0.36 (0.35 - 0.36)	0.64 (0.63 - 0.64)	0.22 (0.22 - 0.23)
カルバマゼピン（中程度）	25	予測	0.55 (0.55 - 0.55)	0.77 (0.76 - 0.77)	0.46 (0.45 - 0.46)
	50	予測	0.55 (0.55 - 0.56)	0.76 (0.76 - 0.77)	0.45 (0.45 - 0.46)
リファンピシン（強い）	25	予測	0.26 (0.26 - 0.27)	0.55 (0.55 - 0.56)	0.12 (0.12 - 0.13)
	50	予測	0.26 (0.26 - 0.26)	0.55 (0.54 - 0.55)	0.13 (0.13 - 0.13)

1) 各薬物相互作用試験と同じ時間間隔の AUC を用いて、幾何平均比を算出した（すなわち、CYP3A4 阻害剤は t = 96 時間、CYP3A4 誘導剤は t = 48 時間）。

$AUC_{0\text{-}t}$ = 0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{9h} = 投与 9 時間後における血漿中濃度、C_{max} = 最高血漿中濃度、CYP = チトクローム P450、N/A = 利用不可

表 19. CYP3A4 基質（ミダゾラム）及び BCRP 基質（ロスバスタチン）の薬物動態に及ぼす 25 及び 50 mg のダリドレキサントの影響

被相互作用薬	ダリドレキサントの用量 (mg)		幾何平均比	
			$AUC_{0\text{-}t}$ [1)]	C_{max}
ミダゾラム	25 SD	実測	1.11 (1.03 - 1.19)	1.20 (1.07 - 1.34)
	25 SD	予測	1.00 (1.00 - 1.00)	1.00 (1.00 - 1.00)
	25 SS	実測	0.98 (0.91 - 1.05)	0.94 (0.83 - 1.05)
	25 SS	予測	0.87 (0.87 - 0.88)	0.89 (0.89 - 0.89)
	50 SD	予測	0.99 (0.99 - 0.99)	1.00 (1.00 - 1.00)
	50 SS	予測	0.82 (0.82 - 0.82)	0.85 (0.85 - 0.85)
ロスバスタチン	25	実測	0.94 (0.85 - 1.04)	0.93 (0.82 - 1.04)
	25	予測	1.00 (1.00 - 1.00)	1.00 (1.00 - 1.00)
	50	予測	1.00 (1.00 - 1.00)	1.00 (1.00 - 1.00)

1) ミダゾラムは t = 24 時間、ロスバスタチンは t = 120 時間。
$AUC_{0\text{-}t}$ = 0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max} = 最高血漿中濃度、SD = 単回投与、SS = 定常状態

7.3.2 被相互作用薬としての評価

7.3.2.1 CYP3A4 阻害剤

弱い CYP3A4 阻害剤であるシメチジン及びラニチジンの併用により、ダリドレキサントの AUC はそれぞれ 14～15 及び 49%、C_{max} は 8～9%増加すると予測された。また、予想されたように、25 及び 50 mg のダリドレキサントに及ぼす阻害作用は、ほぼ同様であった。なお、両薬物の予測は CYP3A4 に対する阻害作用に限定しており、胃内 pH に及ぼすヒスタミン H2 受容体アンタゴニストとしての薬理学的作用は考慮していない。中程度の CYP3A4 阻害剤であるジルチアゼム、ベラパミル、エリスロマイシン及びフルコナゾールが 25 及び 50 mg のダリドレキサントの薬物動態プロファイルに及ぼす影響を予測したところ、ダリドレキサントの用量が 25 mg の場合、これらの中程度の CYP3A4 阻害剤の併用により、ダリドレキサントの AUC は 2.43～3.63 倍、C_{max} は 1.22～1.32 倍増加すると予測された。ダリドレキサントの用量が 50 mg の場合でも、同様の予測であった。さらに、強い CYP3A4 阻害剤であるイトラコナゾール及びケトコナゾールが 25 及び 50 mg のダリドレキサントの薬物動態プロファイルに及ぼす影響を予測したところ、ダリドレキサントの用量が 25 mg の場合、これらの強い CYP3A4 阻害剤の併用により、ダリドレキサントの AUC は 5.50～5.90 倍、C_{max} は 1.42～1.43 倍増加すると予測された。ダリドレキサントの用量が 50 mg の場合でも、同様の予測であった。

ほとんどの場合、C_{9h} の GMR は対応する AUC の GMR と同程度以下であったことから、翌朝の薬物濃度に及ぼす CYP3A4 阻害剤併用の影響を推定するために AUC の増加率を用いるのは、保守的すぎる可能性があることが示された。

7.3.2.2 CYP3A4 誘導剤

エファビレンツ及びカルバマゼピンを中程度の CYP3A4 誘導剤として用いた。ダリドレキサントの用量が 25 及び 50 mg の場合、エファビレンツの併用により、ダリドレキサントの AUC は 64～65%、C_{max} は 36%減少すると予測された。同様に、カルバマゼピンの併用により、ダリドレキサントの AUC は 45%、C_{max} は 23～24%減少すると予測された。さらに、強い CYP3A4 誘導剤であるリファンピシンの併用により、両用量とも、ダリドレキサントの AUC は 74%、C_{max} は 45%減少すると予測された。

7.3.3 相互作用薬としての評価

25 及び 50 mg のダリドレキサントを併用したときのミダゾラム及びロスバスタチンの AUC 及び C_{max} の GMR（実測値及び予測値）を表 19 に示した。25 mg のダリドレキサントを、ミダゾラムでは単回及び反復経口投与、ロスバスタチンでは反復経口投与した場合、両薬物とも、GMR の予測値は実測値とよく一致した。また、50 mg のダリドレキサントを、ミダゾラムでは単回経口投与、ロスバスタチンでは反復経口投与した場合、両薬物とも併用の影響はなく、AUC 及び C_{max} の GMR は約 1 であると予測された。一方、50 mg のダリドレキサントを反復経口投与した場合、ミダゾラムの AUC 及び C_{max} の GMR はそれぞれ 0.82 及び 0.85 にわずかに減少すると予測された。このように、50 mg のダリドレキサントは弱い CYP3A4 誘導作用を示す可能性が示唆されたものの、これらの GMR は生物学的同等性の基準内であった。

参照：モジュール 4.2.2.6.9

8. その他の薬物動態試験

ダリドレキサントを用いたその他の薬物動態試験は実施していない。

9. 考察及び結論

睡眠薬の理想的な薬理学的プロファイルは、服薬後の速やかな入眠、一晩を通した睡眠維持及び翌朝まで薬効が残らないことを併せ持つことである。したがって、薬物動態学的観点からは、経口吸収、脳への分布及び体内からの消失にかかわる過程をうまく調整し、脳内の薬理学的標的部位における薬物濃度が適切な経時的変化を示すようにすることが必要とされる。創薬段階において、ダリドレキサントの分布と消失のバランスは適切であることが明らかになっていた。しかし、分布と消失は動物とヒトで異なることから、PBPK モデルを構築し、動物モデルで同様の薬理学的プロファイルを有する候補化合物の中から、ヒトにおいて全体的に最良の睡眠プロファイルを示す化合物としてダリドレキサントを選択した[Treiber 2017]。また、非臨床薬物動態試験では、製剤学的に速やかに入眠できる方法を特定することに重点を置いた。この目的のために、ダリドレキサントの吸収に及ぼす粒子サイズ、脂質ベースの製剤及び食餌の影響について詳細に検討した。これらの結果を用いて初期の PBPK モデルを改良した。また、本 PBPK モデルは、ヒトにおける薬物動態プロファイルを予測するため、及び重要な第 3 相臨床試験の 1 つで用いる 50 mg の用量での DDI を予測するために用いた。

ダリドレキサントの薬物動態プロファイルは、一般毒性試験で用いた動物種及び系統である Wistar ラット及びビーグル犬を用いて検討した。ラット及びイヌにおけるダリドレキサントの経

口吸収は速やかであり、C_{max} はおおむね投与後 1 時間以内に達した。また、水溶性が低いため、t_{max} は用量の増加とともに遅延する傾向を示した。ダリドレキサントの経口バイオアベイラビリティは、雄ラットでは 10～17%、イヌでは 31～57%であった（3.3 項）。胆管カニューレ処置ラットを用いた代謝試験において、ダリドレキサントはほぼ完全に経口吸収されることが示されたことから（5.3 項、6.1 項）、10 mg/kg 未満の用量で経口バイオアベイラビリティが低かったのは、溶解性によるものではなく、初回通過代謝に起因すると考えられる。

粒子サイズの影響は、イヌを用いて検討した。微粉化して平均粒子サイズを小さくすることにより、経口吸収が加速して C_{max} は増加し、t_{max} は短縮したが、経口バイオアベイラビリティはほとんど変わらなかった（3.7 項）。また、同様の効果は脂質ベースの製剤を用いることにより達成することができた（3.8 項）。速やかな経口吸収は睡眠薬の重要な要因であるため、これらの結果はダリドレキサントの製造工程を構築する際に取り入れた。

イヌではダリドレキサントの曝露量に顕著な個体間変動が認められたが、ラットでは認められなかった（3.10 項）。イヌでは静脈内投与後の曝露量にも同様の変動が認められたため、この個体間変動は経口吸収によるものではなく、代謝能の個体差に起因すると考えられる。

ダリドレキサントは、消化管に発現している排出ポンプであるヒトの MDR1/P-gp 及び BCRP の基質ではなかった（4.6 項）。したがって、ヒトにおけるダリドレキサントの経口吸収は受動拡散によると考えられ、このことは、*in vitro* におけるダリドレキサントの細胞膜透過性が良好であったことと一致する。また、これらのトランスポーターの阻害剤を併用しても、ダリドレキサントの経口吸収は影響されないと予想される。

ダリドレキサントの薬物動態における性差は、ラットでは認められたが、他の動物種及びヒトでは認められなかった（3.5 項）。ダリドレキサントは、主に P450 を介して代謝されるため（5.5 項）、ラットに静脈内及び経口投与したときに認められた性差は、ラットにおいてよく知られている P450 分子種発現量の性差と一致し[Cheng 1982] [Kamataki 1983] [Funae 1987] [Imaoka 1988]、一般に、ヒトには関連しないと考えられる。

ダリドレキサントの血漿クリアランスの平均値は、雄ラットでは 65～74 mL/min/kg、イヌでは 9.6～9.9 mL/min/kg であり、両動物種とも用量に依存しなかった（3.2 項）。血液/血漿中濃度比を考慮すると、ラット及びイヌにおける血液クリアランスは、それぞれの肝血流量の 56～65 及び 45～48%であった。したがって、ダリドレキサントは、両動物種において中程度のクリアランス化合物に分類される。

ダリドレキサントの $t_{1/2}$ は、ラットでは短く、用量の増加とともに 0.5 時間から 2.1 時間に延長した。また、イヌではやや長かったものの、用量の増加とともに 2.5 時間から 4.1 時間に延長した（3.2 項）。全身クリアランスは用量に依存しなかったため、$t_{1/2}$ の用量依存性は、血漿タンパク結合の飽和及びそれに伴う組織分布の増加に起因すると考えられる。

組織分布の一般的な指標であるダリドレキサントの V_{ss} は、ラット及びイヌとも総体液量を大きく上回り、ラットでは 1.8 L/kg から 5.4 L/kg に、イヌでは 1.4 L/kg から 2.5 L/kg に、それぞれ用量の増加とともに増加した（4.1 項）。血漿中非結合型濃度が高くなると組織移行が促進され、分布容積が増加するため、V_{ss} の増加は、α1-AGP に対するダリドレキサントの結合が飽和することに起因すると考えられる。

ダリドレキサントの血漿タンパク結合率はすべての種で高かったが、非結合型分率に顕著な種差が認められた（4.2 項）。0.5 µg/mL の濃度での非結合型分率は、マウス、ラット及びイヌでは 2.4～2.8%の範囲であったが、ウサギ及びヒトではそれぞれ 0.5 及び 0.3%と低かった。また、ダリドレキサントの血漿タンパク結合は、すべての種において低濃度で飽和が認められた。ダリドレキサントは、ヒトの血清アルブミン及び α1-AGP に結合したが、α1-AGP に対する結合に濃度依存性が認められたことから、ヒト血漿タンパク結合の非線形性は α1-AGP に対する結合の飽和に起因すると考えられる。また、非結合型薬物がダリドレキサントの薬理学的及び毒性学的作用を引き起こすと考えられることから、薬理及び毒性試験の結果を解釈する際には、血漿タンパク結合の非線形性を考慮に入れる必要がある。この *in vitro* における血漿タンパク結合の非線形性の臨床的意味を検討するために、SAD 試験（AC-078-101 試験、モジュール 5.3.3.1.1）から得られた血漿検体を用い、*ex vivo* における血漿タンパク結合試験を行った。*Ex vivo* におけるダリドレキサントの血漿タンパク結合率は 99.7～99.9%であり、結合率と血漿中総濃度との間に相関は認められなかった。したがって、*in vitro* におけるヒト血漿タンパク結合で認められた非線形性は、臨床的に意味はないと考えられる。

未変化体であるダリドレキサントと同様に、3 種類の主要代謝物である M1、M3 及び M10 の血漿タンパク結合率にも顕著な種差が認められた（4.2 項）。ヒトにおける血漿タンパク結合率は、いずれの動物種よりおおむね高かった。また、一部では、高濃度で結合の飽和が認められた。

ダリドレキサントの組織分布は、雄の白色及び有色ラットを用い、全身オートラジオグラフィー法で検討した（4.4 項）。薬物動態試験結果と一致して、薬物由来物質は速やかに吸収された。最も高い放射能濃度は、ダリドレキサントの排泄器官である肝臓及び腎臓（6 項）、並びに副腎、褐色脂肪及び心筋において認められた。一方、白色脂肪、鼻粘膜、骨表面、ブドウ膜/網膜及び脈絡叢における放射能濃度は低かった。また、脳における放射能は投与 0.5 時間後のみに認められ、血液中濃度の 34%であった。最高濃度に達した後、放射能濃度は速やかに減少し、投与 24 時間後では、肝臓及び消化管粘膜を除く大部分の組織で定量下限未満であった。また、投与 7 日後の最終時点では、すべての組織で定量できなかった。白色及び有色ラットで意味のある差は認められなかったことから、薬物由来物質はメラニン結合しないことが示唆された。

ラットにおいて、ダリドレキサントは良好に脳内に移行することが示された（4.3 項）。脳/血漿中総濃度比の平均値は 0.9～2.2 の範囲であり、血漿中ダリドレキサント濃度とともに増加する傾向が見られた。ラットにおける血漿タンパク結合率は、5 µg/mL 未満の濃度ではほぼ一定であったことから、この傾向は、ラットの血液脳関門における排出ポンプが関与している可能性が考えられる。

ラットの脳内では、M1～M3、M5 及び M13 が少量認められた（5.3 項）。主要代謝物である M1、M3 及び M10 は、覚醒の重要なメディエーターである OX2R に対する阻害作用を有し、K_b はそれぞれ 45、7.8 及び 527 nmol/L であった。また、OX1R に対する阻害作用も有し、K_b はそれぞれ 63、31 及び 1190 nmol/L であった（モジュール 2.6.2 第 2.1.2 項、モジュール 4.2.1.1.3）。健康被験者におけるダリドレキサント及びその主要代謝物の定常状態における総及び非結合型 C_{max}（AC-078-105 試験、モジュール 5.3.3.3.1）を

表 20 に示したが、3 種類すべての代謝物の非結合型 C_{max} は、OX1R 及び OX2R に対するそれぞれの K_b より十分に低かった。また、M3 及び M10 はヒト MDR1/P-gp の明らかな基質であるため（4.6.2.2 項）、脳内における非結合型濃度は血漿中における非結合型濃度より低いと考えられる。これらの結果に基づくと、ダリドレキサントの主要代謝物は、ヒトにおける薬理学的作用に寄与していないと考えられる。

表 20. 健康白人被験者の定常状態におけるダリドレキサント及びその主要代謝物の最高血漿中濃度

ダリドレキサントの用量 (mg)	C_{max} (nmol/L)	ダリドレキサント	M1	M3	M10
25	総濃度	2000	360	910	130
	非結合型濃度	6	0.4	4	5
50	総濃度	2230	540	1180	210
	非結合型濃度	7	0.5	5	8

C_{max} = 最高血漿中濃度、モジュール 5.3.3.3.1

ダリドレキサントの pH 7.4 における分配係数（$logD_{7.4}$）が 3.8 であることから予想されるように、ダリドレキサントはラットの乳汁中に良好に移行し、乳汁/血漿中濃度比は 14～19 であった。一方、主要代謝物の脂溶性は低いため、乳汁/血漿中濃度比も低かった（4.5 項）。

ダリドレキサントは、7 つの経路で代謝された（5.1 項）。M3 は、ベンゾイミダゾール部分のメチル基の脂肪族水酸化により生成した。M4 は、アニソール部分の *O*-脱メチル化により生成した。M5 は、最初にピロリジン環の 2 位の水酸化、続いてアミノアルデヒドへの開環、その後のベンゾイミダゾール部分とアルデヒドの再環化により生成し、最終的にピペリジノール構造を形成した。M8 は、アニソリルトリアゾール部分の水酸化及びグルクロン酸抱合により生成した。M11 は、アニソール環の水酸化により生成した。M14 は、トリアゾール環の 2 水酸化及びグルクロン酸抱合により生成した。M29 は、メチルピロリジニルベンゾイミダゾール部分の水酸化及びグルクロン酸抱合により生成した。このように、M3、M4、M5 及び M11 は一次代謝物であり、M8、M14 及び M29 は下流代謝物であるが、M8、M14 及び M29 の一次代謝物は認められなかった。脂肪族アルコールである M3 は、更に酸化されてアルデヒドである M1 及び酸である M2 を生成した。M7、M10、M12、M13 及び M21 を含む数種類の他の二次代謝物は、M3、M4 及び M5 を介する代謝経路の組み合わせにより生成した。これらの二次代謝物の多くでグルクロン酸抱合体が認められた。

ヒト肝ミクロソームでは一次代謝物である M3、M4 及び M5 が認められた（5.2 項）。これらの代謝物はすべての動物の肝ミクロソームでも認められたことから、ダリドレキサントの非臨床毒性試験に用いる動物種の選択に制限はなく、トキシコキネティクスデータから、ヒトにおける 3 種類の主要代謝物は毒性試験で適切に評価されていることが示された（モジュール 2.6.6 第 9.2 項、モジュール 2.6.6 第 9.3 項、モジュール 2.6.6 第 9.4 項、モジュール 2.6.6 第 9.5 項、モジュール 2.6.6 第 9.6 項、モジュール 2.6.6 第 9.7 項）。ヒト肝細胞でも一次代謝物である M3～M5 が認

められ、多くの下流代謝物も認められた。脂肪族アルコールである M3 は、更に酸化されてアルデヒドである M1 及び酸である M2 を生成した。フェノールである M4 は、グルクロン酸抱合されて M9 を生成した。ピペリジノール構造を有する M5 は、ベンゾイミダゾール部分のメチル基が水酸化されて M10 を生成した。M7 は、M4 の水酸化又は M5 の酸化的脱メチル化により生成した。M6 及び M8 は下流代謝物であり、酸化及びグルクロン酸抱合の組み合わせにより生成した。肝細胞における代謝プロファイルも動物とヒトで同様であったことから、ダリドレキサントの代謝に種差はほとんどないことが示された。一方、肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた試験において、ダリドレキサントの代謝速度に顕著な種差が認められた。また、*in vivo* で認められたラットの性差は、*in vitro* でも認められた。

種々の P450 分子種に対する特異的阻害剤の存在下でヒト肝ミクロソームを用いた試験及び遺伝子組換え P450 を用いた試験の結果に基づくと、CYP3A4 がダリドレキサントの代謝に関与する主要な P450 分子種であり、*in vitro* における代謝クリアランスの 89%を占めた。また、CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 も一部関与することが示されたが、いずれも 3%未満であった（5.5 項）。中程度の CYP3A4 阻害剤であるジルチアゼムを用いた臨床 DDI 試験（AC-078-103 試験、モジュール 5.3.3.4.1）において、ダリドレキサントの AUC 及び C_{max} はそれぞれ 2.33 及び 1.41 倍増加した。同様に、中程度の CYP3A4 誘導剤であるエファビレンツを用いた臨床 DDI 試験（ID-078-120 試験、モジュール 5.3.3.4.4）において、ダリドレキサントの AUC 及び C_{max} はそれぞれ 59 及び 35%減少した。

In vivo におけるダリドレキサントの代謝は、胆管カニューレ処置ラット及び 2 つの系統のマウスを用いて検討した。ラットにおいて、ダリドレキサントは代謝され、大部分が胆汁中に排泄された（5.3 項）。胆汁中では計 18 種類の代謝物が認められ、グルクロン酸抱合体である M6 及び M9 が主要成分であったが、未変化体は認められなかった。尿中排泄はマイナーな排泄経路であり、尿中では未変化体及び数種類の代謝物がわずかに認められたのみであった。経口投与後初期の血漿中では未変化体が主要成分であり、計 14 種類の代謝物も認められた。また、一次代謝物である M3 及び M5、並びに 2 次代謝物である M1、M2 及び M13 が最も多い成分であった。

マウスにおける代謝は、CD-1 及び B6C3F1 マウスの肝臓及び胆のう検体を用いて検討した。また、ダリドレキサントを単回及び反復経口投与し、P450 誘導プロファイルの系統差の可能性についても評価した（5.4 項）。両系統とも、ダリドレキサントは、M3、M4 及び M5 を生成する経路、M11 を生成するアニソール環の芳香族水酸化、並びに M8 を生成する水酸化及び続くグルクロン酸抱合を含む 5 つの経路で代謝された。また、ラットと同様に、すべての一次代謝物は更に代謝された。単回及び反復投与後の肝臓及び胆のうにおける代謝プロファイルは同様であり、系統差も認められなかった。なお、マウスの肝ミクロソーム及び肝細胞における結果と一致して、単回投与後は M4 を介する経路が最も重要な代謝経路であったが、反復投与後はこの経路の重要性が更に高くなったことから、M4 の生成を触媒する酵素の選択的な誘導が示唆された。

4 週間毒性試験において、反復経口投与後のダリドレキサントの曝露量は、ラットでは減少したが、イヌではわずかに累積した。また、ラットにおける減少は 300 mg/kg 以上の用量で明らかであり、イヌにおける累積は用量の増加とともに減少した（3.12 項）。さらに、両毒性試験から得られた肝臓検体において、酵素誘導が示された（5.6 項）。すなわち、ラット CYP3A1 及びイ

ヌ CYP3A12 の mRNA は用量依存的に増加したことから、4 週間毒性試験において、ダリドレキサントは P450 を誘導したことが示された。同様に、ラット UGT1A1 及び UGT1A6 の mRNA も反復投与により増加したが、これは、甲状腺ホルモンの変化に関与していると考えられる。また、CYP3A 及び UGT はともに核内 PXR を介して調節されているが、ダリドレキサント及びその代謝物はヒト PXR を活性化したことから（7.2.2.1 項）、ラット及びイヌにおける CYP3A の mRNA で認められた増加は、両動物種における PXR の活性化に起因する可能性が考えられる。なお、イヌではダリドレキサントの曝露量の減少は認められなかったが、これは、代謝過程の飽和により、酵素誘導の影響が弱められたことに起因すると考えられる。

ヒト ADME 試験において、ダリドレキサントは代謝され、計 77 種類の代謝物が認められた。また、投与量の半分以上が糞中に排泄され、尿中排泄率は投与量の 28%であった（AC-078-101 試験、モジュール 5.3.2.3.2）。ダリドレキサントは、主に CYP3A4 によって代謝されるが、CYP3A4 阻害剤及び誘導剤併用の臨床上の重要性は、ジルチアゼム（AC-078-103 試験、モジュール 5.3.3.4.1）及びエファビレンツ（ID-078-120 試験、モジュール 5.3.3.4.4）を用いた臨床 DDI 試験において明らかにされた。一方、ダリドレキサントは未変化体としてほとんど尿及び糞中に排泄されなかったことから、ダリドレキサントの消失における薬物トランスポーターの関与に関する *in vitro* 試験は、MDR1/P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 についてのみ行った。排出ポンプである MDR1/P-gp 及び BCRP は、主に消化管、血液脳関門、肝臓及び腎臓に発現し、取込みトランスポーターである両 OATP は、肝細胞の基底膜に発現する。*In vitro* において、ダリドレキサントはこれらのトランスポーターの基質ではなかった（4.6 項）。したがって、MDR1/P-gp 及び BCRP の阻害剤を併用しても、ダリドレキサントの経口吸収及び組織分布は変動しないと予想される。同様に、OATP の阻害剤を併用しても、ダリドレキサントの肝取込みは変動しないと考えられる。

In vitro において、ダリドレキサントは複数の P450 分子種を阻害した。競合阻害試験において、最も強い阻害は CYP3A4 で認められ、K_i は 4.6～4.8 µmol/L であった。また、ダリドレキサントは CYP3A4 に対して弱い時間依存的阻害も示し、K_I 及び k_{inact} はそれぞれ 44 µmol/L 及び 0.036 min^{-1} であった。さらに、ダリドレキサントは 3.0 µmol/L の EC_{50} でヒト PXR を活性化し、ヒト肝細胞において CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4 の mRNA 発現を誘導した（7.2 項）。これらの *in vitro* 試験結果の臨床上の重要性は、CYP3A4 基質としてミダゾラムを用い、ダリドレキサントを 25 mg の用量で単回及び反復経口投与した臨床 DDI 試験（AC-078-104 試験、モジュール 5.3.3.4.2）において検討した。ダリドレキサント併用の有無にかかわらず、ミダゾラムの曝露量は生物学的同等性の基準内であったことから、25 mg のダリドレキサントは CYP3A4 の阻害剤でも誘導剤でもないことが示された。この結論と一致して、75 mg までの用量でダリドレキサントを反復投与したとき、自己誘導は認められなかった（AC-078-102 試験、モジュール 5.3.3.1.2）。

他の P450 分子種に対するダリドレキサントの IC_{50} は CYP3A4 より高く、ミダゾラムとの臨床 DDI が認められなかったことから、ダリドレキサントは、他の P450 分子種の阻害剤でもないことが示唆された。

ダリドレキサントは、ヒト PXR を活性化したが（7.2.2.1 項）、ヒト CAR は活性化しなかった

（モジュール 4.2.1.2.2）。したがって、ヒト肝細胞における CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4 の mRNA 発現の増加は、PXR の活性化のみに起因すると考えられる。また、AC-078-104 試験（モジュール 5.3.3.4.2）において、ミダゾラムに対する誘導作用が認められなかったことから、ダリドレキサントは、CYP2B6 及び CYP2C9 の誘導剤でもないことが示唆された。

主要代謝物である M1、M3 及び M10 の P450 に対する阻害能は、未変化体と同様の傾向を示したが、おおむね弱かった（7.2.1 項）。これは、代謝物が未変化体より極性が高いことによると考えられる。ダリドレキサントと同様に、アルデヒドである M1 は、CYP3A4 に対して弱い時間依存的阻害を示した。25 及び 50 mg での定常状態における代謝物の非結合型 C_{max}（

表 20）は、P450 阻害に関する最も低い IC_{50}（表 14）と比較して数桁低かったことから、これらの代謝物が併用する P450 基質に対して DDI を引き起こす可能性はないと考えられる。

In vitro において、ダリドレキサントは OAT1 及び OCT2 を除くすべてのトランスポーターを阻害した（7.2.3 項）。最も強い阻害は BCRP で認められ、IC_{50} は 3.0 µmol/L であった。この *in vitro* 試験結果の臨床上の重要性は、BCRP 基質としてロスバスタチンを用いた臨床 DDI 試験（ID-078-106 試験、モジュール 5.3.3.4.3）において検討した。ダリドレキサント併用の有無にかかわらず、ロスバスタチンの曝露量は生物学的同等性の基準内であったことから、25 mg のダリドレキサントは BCRP の阻害剤ではないことが示された。

排出ポンプである MDR1/P-gp は、腸及び肝細胞の BCRP と同じ部位に発現しているが、MDR1/P-gp に対するダリドレキサントの IC_{50} は BCRP より高く、ロスバスタチンとの臨床 DDI が認められなかったことから、ダリドレキサントは、MDR1/P-gp の阻害剤でもないことが示唆された。また、他のすべてのトランスポーターに対する IC_{50} も BCRP より高かったことから、ダリドレキサントが、トランスポーターを介した輸送により消失する併用薬に対して DDI を引き起こす可能性はないと考えられる。

M1、M3 及び M10 を用いた薬物トランスポーター阻害試験において、M1 は OATP1B1 を、並びに M1 及び M3 は OCT1 を、それぞれ顕著に阻害した（7.2.3 項）。取込みトランスポーターである OATP1B1 及び OCT1 は肝細胞及び／又は近位尿細管の基底膜に発現するため、血漿中非結合型薬物濃度にさらされているが、細胞膜透過性が高いため（4.6 項）、両代謝物は主に受動拡散により肝臓及び腎臓に移行すると予想される。したがって、血漿中非結合型濃度は細胞内濃度の適切なサロゲートであると考えられるが、M1 及び M3 の非結合型 C_{max} は最高 5 nmol/L であり（

表 20）、最も低い IC_{50} である OCT1 に対する M1 の IC_{50}（表 17）と比較して約 2 桁低かった。これらのことから、ダリドレキサントの主要代謝物も、トランスポーターを介した輸送により消失する併用薬に対して DDI を引き起こす可能性はないと考えられる。

ダリドレキサントの相互作用薬としての可能性を検討するために、CYP3A4 及び BCRP の基質として、それぞれミダゾラム及びロスバスタチンを用いた臨床 DDI 試験を実施した。両試験は、25 mg のダリドレキサントで行った。また、ダリドレキサントの被相互作用薬としての可能性を検討するために、中程度の CYP3A4 阻害剤及び誘導剤として、それぞれジルチアゼム及びエファビレンツを用いた臨床 DDI 試験を実施した。さらに、これらの臨床 DDI 試験を補完するために、PBPK モデルを用い、第 3 相臨床試験における最高用量である 50 mg での相互作用薬とし

ての可能性を予測するとともに、弱い、中程度及び強い CYP3A4 阻害剤、並びに中程度及び強い CYP3A4 誘導剤との DDI も予測した（7.3 項）。

PBPK モデルは、すべての臨床 DDI 試験の結果を良好にシミュレーションした。また、ダリドレキサントは、25 mg の用量では CYP3A4 の阻害剤でも誘導剤でもないが、50 mg の用量ではミダゾラムの AUC 及び C_{max} をわずかに減少させると予測され、50 mg のダリドレキサントは弱い CYP3A4 誘導作用を示す可能性が示唆されたものの、両パラメータの GMR は生物学的同等性の基準内であった。一方、ダリドレキサントは、25 及び 50 mg の用量とも、ロスバスタチンの薬物動態には影響を及ぼさないと予測された。

In vitro において、CYP3A4 がダリドレキサントの代謝に関与する主要な酵素であった（5.5 項）ことと一致して、ダリドレキサントの曝露量は、CYP3A4 活性の変化に対して影響を受けることが示された。すなわち、25 mg の用量では、ダリドレキサントの AUC は、弱い CYP3A4 阻害剤の併用により、約 20～50%の範囲でわずかに増加すると予測された。また、中程度の CYP3A4 阻害剤の併用により、ジルチアゼムによる 2.43 倍からエリスロマイシンによる 3.63 倍の範囲で、より大きく増加すると予測された。さらに、強い CYP3A4 阻害剤であるイトラコナゾール及びケトコナゾールの併用により、5.50～5.90 倍増加すると予測された。同様に、CYP3A4 誘導剤はダリドレキサントの曝露量を減少させ、ダリドレキサントの AUC は、中程度の CYP3A4 誘導剤であるエファビレンツ及びカルバマゼピンの併用により 45～65%減少し、強い CYP3A4 誘導剤であるリファンピシンの併用により 74%減少すると予測された。予測される影響は、25 及び 50 mg の用量で同様であった。

このように、ダリドレキサントの薬物動態は、CYP3A4 活性の変化に対して影響されるものの、薬物トランスポーター活性の変化に対しては影響されず、P450 又は薬物トランスポーターを介して消失する併用薬に対して臨床的に意味のある DDI を引き起こす可能性もないと考えられる。

10. 参考文献

[Cheng 1982] Cheng KC, Schenkman JB. Purification and characterization of two constitutive forms of rat liver microsomal cytochrome P-450. J Biol Chem. 1982;25(5):2378-85.（モジュール 4.3.15）

[Feng 2019] Feng B, West M, Patel NC, Wager T, Hou X, Johnson J, et al. Validation of Human MDR1-MDCK and BCRP-MDCK Cell Lines to Improve the Prediction of Brain Penetration. J Pharm Sci. 2019;108:2476-83.（モジュール 4.3.28）

[Funae 1987] Funae Y, Imaoka S. Purification and characterization of liver microsomal cytochrome P-450 from untreated male rats. Biochim Biophys Acta. 1987;926:349-58.（モジュール 4.3.31）

[Imaoka 1988] Imaoka S, Terano Y, Funae Y. Constitutive testosterone 6 beta-hydroxylase in rat liver. J Biochem. 1988;104(3):481-7.（モジュール 4.3.40）

[Kamataki 1983] Kamataki T, Maeda K, Yamazoe Y, Nagai T, Kato R. Sex difference of cytochrome *P*-450 in the rat: purification, characterization, and quantitation of constitutive forms of cytochrome *P*-450 from liver microsomes of male and female rats. Arch Biochem Biophys. 1983;225(2):758-70.（モジュール 4.3.43）

[Treiber 2017] Treiber A, De Kanter R, Roch C, Gatfield J, Boss C, Von Raumer M, et al. The Use of

Physiology-Based Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Modeling in the Discovery of the Dual Orexin Receptor Antagonist ACT-541468. J Pharmacol Exp Ther. 2017;362:489-503.（モジュール 4.3.85）