目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 4
2.6.4.1 まとめ 4
2.6.4.2 分析法 8
2.6.4.3 吸収 11
2.6.4.4 分布 15
2.6.4.5 代謝 17
2.6.4.6 排泄 25
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 25
2.6.4.8 考察及び結論 29
2.6.4.9 図表 34
2.6.4.10 参考文献 34
2.6.5 薬物動態試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
1-ABT	1-アミノベンゾトリアゾール（1-aminobenzotriazole）
AGP	α1-酸性糖タンパク質（α_1-acid glycoprotein）
AUC	血漿中又は組織内濃度－時間曲線下面積 （area under the plasma or tissue concentration-time curve）
$AUC_{0\text{-}4h}$	0 時間から 4 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 （area under the plasma concentration-time curve from time zero to 4 hours）
$AUC_{0\text{-}7h}$	0 時間から 7 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 （area under the plasma concentration-time curve from time zero to 7 hours）
$AUC_{0\text{-}24h}$	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 （area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours）
AUC_{inf}	0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 （area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinite time）
AUC_{last}	0 時間から最終定量可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 （area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last quantifiable time）
BCRP	乳癌耐性タンパク質（breast cancer resistance protein）
Caco-2	ヒト結腸癌由来細胞（human colon adenocarcinoma-2）
CL_p	全身血漿クリアランス（total plasma clearance）
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum plasma concentration）
CYP	チトクローム P450（cytochrome P450）
EC_{50}	50%作用濃度（half-maximal effective concentration）
E_{max}	最大効果（maximum effect）
FGFR	線維芽細胞増殖因子受容体（fibroblast growth factor receptor）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 （Good Laboratory Practice）
HP-β-CD	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（hydroxypropyl-β-cyclodextrin）
HSA	ヒト血清アルブミン（human serum albumin）
IC_{50}	50%阻害濃度（half-maximal inhibitory concentration）
K_i	阻害定数（inhibition constant）
K_I	最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度（inactivation constant）
k_{inact}	最大不活性化速度定数（maximal inactivation rate constant）
K_m	ミカエリス定数（Michaelis constant）
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー－タンデム質量分析 （liquid chromatography-tandem mass spectrometry）
LH	Lister-Hooded
LLC-PK	Lilly laboratory cancer porcine kidney
M	代謝物（metabolite）
MATE	多剤・毒性化合物排出タンパク質（multidrug and toxin extrusion protein）
MDCKII	Madin-Darby canine kidney II
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 （nicotinamide adenine dinucleotide phosphate）
OAT	有機アニオントランスポーター（organic anion transporter）
OATP	有機アニオン輸送ポリペプチド（organic anion-transporting polypeptide）
OCT	有機カチオントランスポーター（organic cation transporter）
P_{app}	みかけの透過係数（apparent pearmeability）
PBPK	生理学的薬物速度論（physiologically based pharmacokinectis）
P-gp	P-糖タンパク質（P-glycoprotein）

略号又は略称	名称及び内容
SD	Sprague-Dawley
$T_{1/2}$	消失半減期（elimination half-life）
T_{max}	最高血漿中濃度到達時間（time to reach the maximum plasma concentration）
V_{max}	最大反応速度（maximum reaction velocity）
V_{ss}	定常状態における分布容積（volume of distribution at steady state）
WBA	全身オートラジオグラフィー（whole body autoradiography）

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

本項では，線維芽細胞増殖因子受容体（FGFR）チロシンキナーゼ阻害薬であるエルダフィチニブ（以下，JNJ-42756493）の非臨床薬物動態試験の概要を記載する。

エルダフィチニブの吸収，分布，代謝，排泄及び薬物動態学的薬物相互作用を *in vitro* 及び *in vivo* 試験系を用いて検討した。*In vivo* 試験は，マウス，ラット及びイヌを用いて実施した。これらの動物種及び系統は，薬理試験【2.6.2】，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験及び胚・胎児発生毒性試験【2.6.6】で用いたものと同じである。*In vivo* 試験の多くは，エルダフィチニブを20%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（HP-β-CD）溶液として調製し，経口投与（臨床投与経路）又は静脈内投与により実施した。*In vitro* 試験は，動物及び／又はヒトの血漿，血液，肝細胞，肝細胞画分，遺伝子組換えタンパク質発現系及び細胞株，並びに反転膜小胞を用いて実施した。なお，エルダフィチニブは非臨床試験及び臨床試験ともに遊離塩基（JNJ-42756493-AAA）を用いた。

重要なトキシコキネティクス試験については，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。エルダフィチニブの非臨床薬物動態試験一覧は【2.6.5.1】に示した。

2.6.4.1.1 吸収

マウス，ラット及びイヌにエルダフィチニブを単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態を評価した。静脈内投与したときの定常状態における分布容積（V_{ss}）は 2.3～11 L/kg であり，総体液量を上回った。全身血漿クリアランス（CL_p）はマウス，ラット及びイヌでそれぞれ 4.7，4.0～5.6 及び 2.0～2.2 L/h/kg であり，ラット及びイヌでは肝血流量を上回り，マウスでは肝血流量と同程度であった。経口投与したときの最高血漿中濃度到達時間（T_{max}）は，マウスでは 1 時間以内であり，ラット及びイヌではそれぞれ 3.3 及び 3.0～5.5 時間であった。消失半減期（$T_{1/2}$）はマウス及びラットでは 1.1～4.0 時間，イヌでは 3.3～10 時間であった。経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティはマウス及びラットでそれぞれ 12 及び 1.8%であったが，イヌでは 100%超であった。

マウス（雄）を用いた 2 週間反復投与毒性試験，ラット及びイヌを用いた最長 3 カ月間反復投与毒性試験，並びに妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験において，エルダフィチニブ（1 日 1 回又は週 2 回経口投与）のトキシコキネティクスを評価した。イヌを用いた 2 週間忍容性試験（隔日投与），並びにラット及びイヌを用いた 1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験（週 2 回投与を 1 カ月間及び 7 日間投与／7 日間休薬を 3 カ月間）では，間欠投与でのトキシコキネティクス評価も実施した。全ての動物種において，反復投与したときのエルダフィチニブの曝露量［最高血漿中濃度（C_{max}）及び血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）］は，投与レジメンに関わらず，用量増加に伴い増加し，概して累積が認められた。ラットを用いた 1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験，並びにイヌを用いた 1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験では顕著な性差は認められなかった。

妊娠ラットにおいても，エルダフィチニブの曝露量は用量増加に伴い増加した。妊娠ラットにおける曝露量は，非妊娠ラットと同程度であった。胎児における曝露量は母動物と比較して低かった。

2.6.4.1.2 分布

Sprague-Dawley（SD）ラット及び有色 Lister-Hooded（LH）ラットにエルダフィチニブ又は ^{14}C 標識したエルダフィチニブ（^{14}C-エルダフィチニブ）をそれぞれ 10 及び 4 mg/kg の用量で単回経口投与し，エルダフィチニブ又は ^{14}C-エルダフィチニブ由来放射能の組織分布を評価した。SD ラットの組織内及び血漿中エルダフィチニブ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）法を用いて，有色ラットにおける放射能の分布は全身オートラジオグラフィー（WBA）を用いて定量した。SD ラットを用いた試験において，エルダフィチニブの組織内／血漿中 AUC 比は肺（133）及び肝臓（114）で最も高く，次いで腎臓（30）で高かった。脳内エルダフィチニブ濃度は，投与後 24 時間までの全ての試料採取時点で定量下限（20 ng/g）未満であった。

有色ラットを用いた試験では，^{14}C-エルダフィチニブ由来放射能は全身に分布した。放射能濃度は多くの組織において投与後 0.5～1 時間で最高濃度に達し，投与後 72 時間までに定量下限（0.01 μg eq/g）付近又は未満となった。放射能の組織内／血液中 AUC 比は，腎髄質外層，盲腸壁，肝臓，ぶどう膜及び小腸壁で 30 を超え，膀胱壁で 6.4，水晶体で 1.1 であった。白色皮膚と有色皮膚で同じ組織内／血液中 AUC 比（1.9）であったことから，エルダフィチニブ関連物質はメラニンに結合しないことが示唆された。

非臨床試験に用いた動物（マウス，ラット及びイヌ）及びヒトの血漿を用いて，^{3}H 標識したエルダフィチニブ（^{3}H-エルダフィチニブ）の血漿タンパク結合率を評価した。エルダフィチニブの血漿タンパク結合率は，動物と比較してヒトで高く，^{3}H-エルダフィチニブの血漿中非結合型分率は，ヒトでは 1%未満であり，マウスでは 5.9～11.3%，ラットでは 2.2～7.2%及びイヌでは 13.7%であった。ヒト血漿タンパク質を用いた結合試験において，エルダフィチニブはヒト血清アルブミン（HSA）と比較して，α1-酸性糖タンパク質（AGP）と顕著に結合した。

2.6.4.1.3 代謝

動物の循環血漿中の主要な薬物関連物質は，ラットでは未変化体及び代謝物（M）2（M6 のグルクロン酸抱合体）であり，イヌでは未変化体，M2 及び M11 であった。ラット及びイヌの糞中の主要な成分は，未変化体及び M6［試料処理溶媒であるジメチルスルホキシド（DMSO）中で M6 から生成した M4 及び M7 を含む］であった。ラット及びイヌの尿中には，未変化体及び M2 がわずか（いずれも投与量の 1.5%未満）に認められた。

ラットの胆汁中排泄試験において，^{14}C-エルダフィチニブを投与したときの糞及び胆汁中代謝物プロファイルを定量的に検討した。また，無処置（カニューレ未挿入）ラットの糞中代謝物も定量した。胆管カニューレ処置ラットの胆汁中において認められた 14 種類の代謝物の大部分は，グルクロン酸抱合体であった。胆汁中の主要な代謝物は M2（投与放射能の 14.18%），M13（投与放射能の 4.08%）及び M15（投与放射能の 9.24%）であった。胆汁中のグルクロン酸抱合体を β-グルクロニダーゼにより加水分解したところ，M6，M20（M6 の *O*-脱メチル化体）及び M26（M6 のフェニル環上への一酸素付加体）が認められたことから，無処置ラットの糞中に回

収されたM6，M20及びM26は，それぞれM2，M13及びM15のアグリコンであると考えられた。M6は無処置ラットの糞中で最も多い代謝物であり，投与放射能の46.2%を占めた。

ヒト，ラット及びイヌにおけるエルダフィチニブの主要な代謝経路は，酸化的代謝（*O*-脱メチル化体，M6）であった。M6の下流代謝物（更なる酸化的代謝物及びグルクロン酸抱合体）はヒトと比較してラットで顕著に認められた。M6及びM8の生成に関与する代謝酵素を同定するため，ヒトの肝ミクロソーム，肝細胞及び遺伝子組換えチトクローム P450（CYP）（rCYP）発現系を用いて，^{3}H-エルダフィチニブのCYPによる代謝試験を実施した。その結果，ヒトでは，M6の生成にはCYP2C9及びCYP3A4が関与し，M8の生成にはCYP3A4が関与すると結論づけられた。

第I相試験（EDI1001試験）及び^{14}C-エルダフィチニブを用いたヒトマスバランス試験（EDI1005試験）において，ヒトの循環血漿中の主要な薬物関連物質はエルダフィチニブであり，薬物関連物質の総曝露量の10%を超える代謝物は認められなかった。M6の大部分（投与放射能の23.8～24.3%）は糞中から回収され，尿中には投与放射能の1.93～2.3%のみが回収された。M8（*N*-脱アルキル化体）は糞及び尿中で認められた微量代謝物であり（それぞれ投与放射能の2.94～3.51及び1.07～1.17%），M11，M27及びM28も糞又は尿中に認められた微量代謝物であった（いずれも投与放射能の2.5%未満）。尿又は糞中の微量代謝物M27（一酸化体M11の*O*-脱メチル化体）及びM28（構造未同定）を除き，ヒトで認められた全ての代謝物は，エルダフィチニブの安全性評価に用いた少なくとも1動物種で認められた。

2.6.4.1.4 排泄

ラット及びイヌを用いたマスバランス試験において，投与放射能に対する糞及び尿中の放射能回収率は，それぞれ75.2～88.7%及び2.32～6.30%であった。胆管カニューレ処置ラットでは，経口投与した放射能の91.0%が投与後48時間までに回収され，投与放射能のほぼ半分（47.9%）は胆汁中から，残りは糞中（30.6%）及び尿中（12.4%）から回収された。このことから，ラットにおいて薬物関連物質の大部分は，胆汁を介して排泄されることが示された。

ヒトマスバランス試験において，投与放射能に対する糞及び尿中の放射能回収率は，それぞれ66.4～69.9%及び17.8～19.2%であった。

2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用

ヒトの肝細胞を用いて，CYP分子種（CYP1A2，CYP2B6及びCYP3A4）に対するエルダフィチニブの誘導作用を検討したところ，エルダフィチニブはCYP1A2及びCYP2B6の誘導作用はなかったが，3例中1例のドナー由来の肝細胞において，CYP3A4のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）が誘導された。しかし，用量反応関係の直線の傾きを陽性対照（リファンピシン）と比較したところリファンピシンの1.28%であり，エルダフィチニブのCYP3A4の誘導作用は弱く，臨床的に重要ではないと考えられた。

ヒトの肝ミクロソームを用いた試験において，エルダフィチニブは広範囲の濃度（0.021～15 μmol/L）でCYPに対して可逆的阻害を示さなかった。このことから，ワーストケースシナリオとして阻害定数（K_i）を15 μmol/Lと仮定し，「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4号，平成30年7月23日」（以下，薬物相互作用に関する本邦の通知）において推奨されているベーシックモデルを用いてR値を算出した。その結

果，得られた R 値はいずれの CYP 分子種に対しても 1.02 未満であったことから，エルダフィチニブは CYP の可逆的阻害を介した臨床的に重要な薬物相互作用を起こさないことが示された。

CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A4 に対するエルダフィチニブの時間依存的阻害（TDI）作用を 0.1～100 μmol/L の濃度範囲でヒト肝ミクロソームを用いて評価した。エルダフィチニブは CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 に対して TDI 作用を示さなかった。しかしながら，エルダフィチニブは CYP3A4（基質：テストステロン）の残存活性を 67.3%阻害した。また，CYP3A4（基質：ミダゾラム）に対するエルダフィチニブ及び陽性対照（エリスロマイシン）の最大不活性化速度定数（k_{inact}）／最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度（K_I）比は，同程度であったことから，CYP3A4 に対するエルダフィチニブの TDI 作用はエリスロマイシンと同程度であることが示唆された。

ヒト結腸癌由来細胞（Caco-2）において，エルダフィチニブは中程度～高い膜透過性を有することが示された。P-糖タンパク質（P-gp）を発現させた Lilly laboratory cancer porcine kidney（LLC-PK）1 細胞において，エルダフィチニブは P-gp の基質であり，0.3 μmol/L を超えると P-gp による輸送は飽和することが示唆された。臨床最高用量（9 mg）を投与したとき，ヒトで予想される消化管管腔内の最高濃度（9 mg/250 mL）の 1/10（＝8.1 μmol/L）は 0.3 μmol/L を超えることから，消化管 P-gp の輸送は飽和している可能性がある。そのため，エルダフィチニブが消化管において P-gp 阻害を介した薬物相互作用を受ける可能性は低いと考えられた。エルダフィチニブが消化管以外の P-gp 阻害を介した薬物相互作用を受ける可能性は除外できないものの，エルダフィチニブをイトラコナゾール（CYP3A4 及び P-gp 阻害薬）と併用投与した臨床薬物相互作用試験（EDI1007 試験）では，臨床的に重要な薬物相互作用は認められなかった。

トランスポーター遺伝子導入細胞株において，エルダフィチニブは乳癌耐性タンパク質（BCRP），有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。したがって，エルダフィチニブはこれらのトランスポーター阻害を介した薬物相互作用を受けないと考えられた。

P-gp，BCRP，有機カチオントランスポーター（OCT）1，OCT2，多剤・毒性化合物排出タンパク質（MATE）1，MATE2-K，OATP1B1，OATP1B3，有機アニオントランスポーター（OAT）1 又は OAT3 を導入した細胞株又は反転膜小胞を用いて，*in vitro* での薬物輸送に対するエルダフィチニブの阻害作用を検討した。エルダフィチニブの P-gp，OCT1，OCT2，MATE1 及び MATE2-K に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）値は 0.0434～2.26 μmol/L であり，エルダフィチニブはこれらのトランスポーターの阻害薬であることが示された。また，BCRP 及び OATP1B1 に対する IC_{50} 値はそれぞれ 14.9 及び 36.5 μmol/L であった。一方，エルダフィチニブは OATP1B3，OAT1 及び OAT3 の阻害薬ではなかった。薬物相互作用に関する本邦の通知で推奨されているモデルに基づくと，臨床最高用量を投与したとき，エルダフィチニブは OCT2 及び P-gp（消化管）以外のトランスポーターに対する阻害を介した臨床的に重要な薬物相互作用を起こさないと考えられた。

2.6.4.2　分析法

2.6.4.2.1　エルダフィチニブ

【資料番号 4.2.2.1.1，4.2.2.1.2，4.2.2.1.3，4.2.2.1.4】

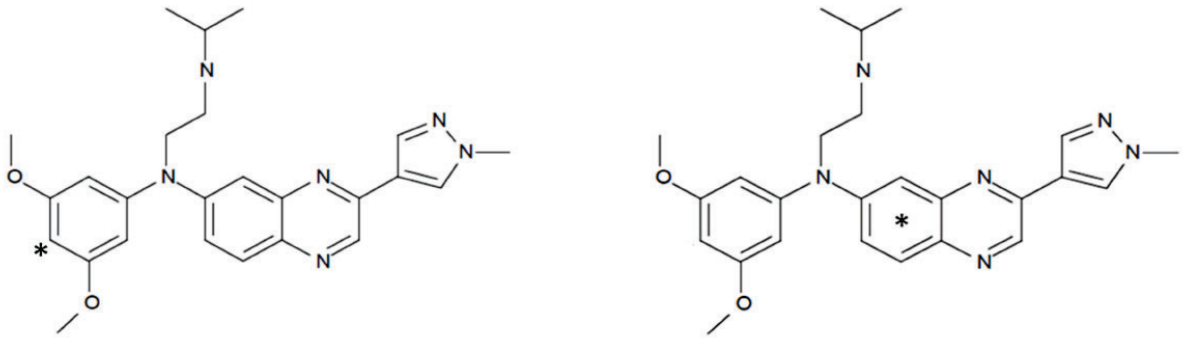
非臨床薬物動態及びトキシコキネティクス試験の血漿試料中エルダフィチニブの分析は，液体クロマトグラフィーータンデム質量分析（LC-MS/MS）法を用いた。

GLP 適用下のラット及びイヌを用いた試験で使用された血漿中エルダフィチニブ濃度定量法は，FDA（Bioanalytical Method Validation，2001 年 5 月）及び EMA（Guideline on bioanalytical method validation，2011 年 7 月）のガイドラインに従ってバリデートされ，ガイドラインで指定された全ての基準を満たした。エルダフィチニブの分析法バリデーションの概略を表 2.6.4-1 に示す。

非 GLP 試験でのエルダフィチニブの血漿中及び組織内濃度の定量には，適格な LC-MS/MS（qualified LC-MS/MS）法を用いた。マウス，ラット及びイヌにおける血漿中エルダフィチニブ濃度の定量下限は，それぞれ 0.2～2.5，0.1～0.2 及び 0.5～2.5 ng/mL であった。また，ラット及びイヌを用いた 1 カ月間反復投与毒性試験における組織内エルダフィチニブ濃度の定量下限は，それぞれ 2.0～2.5 及び 5 ng/g であった。

2.6.4.2.2　放射性標識したエルダフィチニブ

エルダフィチニブの放射性標識体は，ジメトキシ基の間に位置する炭素上に ^{3}H を導入した ^{3}H-エルダフィチニブ，又はキノキサリンのベンゼン環に ^{14}C を導入した ^{14}C-エルダフィチニブを用いた（図 2.6.4-1）。



^{3}H-label　　**^{14}C-label**

(The position of the radiolabel is marked with an asterisk.)

図 2.6.4-1 放射性標識したエルダフィチニブの化学構造式

全ての *in vitro* 代謝試験，並びにラット及びイヌにおけるマスバランス試験は，^{3}H-エルダフィチニブを用いて実施した。その他の試験（ラットにおける WBA 試験，胆管カニューレ処置ラットを用いた排泄試験，及びヒトにおけるマスバランス試験）は，^{14}C-エルダフィチニブを用いて実施した。

動物及びヒトの肝細胞画分及び肝細胞，並びにヒト rCYP 発現系を用いた *in vitro* 試験の各種試料中，並びにラット及びイヌを用いた *in vivo* 試験由来生体試料（血液，血漿，尿，胆汁及び糞）中の放射能は，液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。有色 LH ラットにおける組織内放射能は，定量的 WBA により測定した。*In vitro* 及び *in vivo* 試験において，代謝物の同定は LC-MS/MS 法（及び必要に応じて核磁気共鳴スペクトル法）により実施され，未変化体及び代謝物の定量は，放射能検出器を接続した高速液体クロマトグラフィーにより実施された。

表 2.6.4-1 各種条件下での血漿中エルダフィチニブ濃度分析法バリデーションの概略

Species	Anticoagulant	Validated Range (ng/mL)	Stability Time		Freeze/Thaw Cycles	Study No. (Study Reference)	Supported GLP Studies[c,d]
			Room Temperature[a] (hours)	LTS at Subzero Temperature[b] (days)			
Rat	K3-EDTA	0.400 to 400	24	120	4	BA10076	TOX10080 TOX10846 TOX10857 TOX10684
Rat	K3-EDTA	0.400 to 400	23	416	5	BA10981	TOX12329
Dog	K3-EDTA	0.200 to 100	24	127	4	BA10077	TOX10083 TOX10849
Dog	Li-heparin	0.200 to 100	24	107	4	BA10081	TOX10104

[a] Between +15°C and +30°C
[b] In a freezer between -10°C and -30°C
[c] Rat: 1- and 3-month toxicity studies (TOX10080 and TOX10846), bone marrow micronucleus assay (TOX10857), phototoxicity study (TOX10684), and embryo-fetal development study (TOX12329).
[d] Dog: 1- and 3-month toxicity studies (TOX10083 and TOX10849), and cardiovascular and respiratory safety pharmacology study (TOX10104).

EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; LTS = long-term stability

2.6.4.3 吸収

マウス，ラット及びイヌにエルダフィチニブを単回及び反復投与したときのエルダフィチニブの吸収に関する試験を以下に要約する。特記しない限り，20% HP-β-CD で調製したエルダフィチニブ投与液を用いた。

2.6.4.3.1 マウス

2.6.4.3.1.1 単回投与

【資料番号 4.2.2.2.1】

雄 CD-1 マウス（3 例／採取時点）にエルダフィチニブを 2.5 mg/kg の用量で単回静脈内投与，並びに 3，6.25 及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの薬物動態を評価した【2.6.5.3A，2.6.5.3B】。静脈内投与したときのエルダフィチニブの $T_{1/2}$ は 0.95 時間，CL_p は 4.7 L/h/kg，V_{ss} は 2.3 L/kg であった。エルダフィチニブは経口投与後，用量によらず速やかに吸収され（T_{max}：0.5 又は 1 時間），$T_{1/2}$ は 1.1～3.1 時間であった。経口投与したときのエルダフィチニブの曝露量［C_{max} 及び 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{inf}）］は，用量増加に伴い増加した。エルダフィチニブを 10 mg/kg の用量で経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティは 12%であった。

2.6.4.3.1.2 反復投与

【資料番号 4.2.3.2.1】

2 週間反復投与毒性試験（非 GLP）では，雄 CD-1 マウス（3 例／採血時点）にエルダフィチニブを 12.5，25 及び 50 mg/kg の用量で 1 日 2 回（6 時間間隔，1 日の総用量は 25，50 及び 100 mg/kg），並びに 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4A】。概して，エルダフィチニブを経口投与したときの吸収は速やかであり，1 日 2 回投与では，2 回目投与時におけるエルダフィチニブの C_{max} は 1 回目投与時と比較して高い傾向を示した。エルダフィチニブの曝露量［C_{max} 及び 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）］は用量増加に伴い増加した。50 mg/kg 投与群の 2 回目投与時の C_{max} を除き，エルダフィチニブを反復投与したとき（Day 13）の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は，初回投与したとき（Day 0）と比較して若干の累積が認められた（それぞれ 1.2～3.8 及び 1.3～1.6 倍）。エルダフィチニブを 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回，及び 50 mg/kg の用量で 1 日 2 回経口投与（1 日の総用量は 100 mg/kg）したとき，エルダフィチニブの曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は同程度であった。

2.6.4.3.2 ラット

2.6.4.3.2.1 単回投与

【資料番号 4.2.2.2.2，4.2.2.2.3，4.2.2.2.4，4.2.3.2.2】

雄 SD ラット（3 例／群）にエルダフィチニブを 2.5 mg/kg の用量で単回静脈内投与及び 10 mg/kg の用量で単回経口投与，並びに 10 mg/kg の用量で 0.5%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）懸濁液として単回経口投与したときの薬物動態を評価した【2.6.5.3A，2.6.5.3B】。エルダフィチニブを静脈内投与したときの $T_{1/2}$ は 1.1 時間，CL_p は 5.6 L/h/kg，V_{ss} は 6.7 L/kg であった。エルダフィチニブを 20% HP-β-CD 及び HPMC 投与液として経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティはそれぞれ 1.8 及び 1.9%であった。

雄 SD ラット（3 例／群）にエルダフィチニブを 1.25，5 及び 7.5 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの薬物動態を評価した【2.6.5.3A】。エルダフィチニブの曝露量（AUC_{inf}）は用量に比例して増加し，$T_{1/2}$ は 1.1～1.2 時間及び CL_p は 4.0～4.4 L/h/kg であった。エルダフィチニブの V_{ss} は 4.9～7.3 L/kg であった。

薬理試験に用いた動物である雄ヌードラット（3 例／群）にエルダフィチニブを 2.5 及び 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの薬物動態も評価した【2.6.5.3A】。ヌードラットで得られたエルダフィチニブの薬物動態パラメータは，SD ラットで得られたものと同程度であった。

単回投与忍容性試験（非 GLP）では，雄 SD ラット（6 例／群）にエルダフィチニブを 50，100 及び 200 mg/kg の用量で経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4B】。また，100 mg/kg 投与群では 5 日間の休薬期間後，エルダフィチニブを 1000 mg/kg の用量で 0.5% HPMC 懸濁液として単回経口投与した。エルダフィチニブを 50，100，200 及び 1000 mg/kg の用量で経口投与したとき，エルダフィチニブの T_{max} はそれぞれ 2.3，6.0，7.0 及び 24 時間であった。エルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は，用量増加に伴い増加した。

2.6.4.3.2.2 反復投与

【資料番号 4.2.3.2.2，4.2.3.2.3，4.2.3.2.4，4.2.3.2.5，4.2.3.5.2.2，4.2.3.7.3.1，4.2.3.7.3.2，4.2.3.7.3.3】

2 週間反復投与毒性試験（非 GLP）では，雄 SD ラット（6 例／群）にエルダフィチニブを 50 及び 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した。なお，100 mg/kg 投与群では早期死亡及び瀕死状態により 1 週間で投与を中止した【2.6.5.4B】。エルダフィチニブを 50 及び 100 mg/kg の用量で反復投与したとき，Day 15（50 mg/kg）及び Day 8（100 mg/kg）のエルダフィチニブの T_{max} はそれぞれ 3.3 及び 4.0 時間であり，曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は単回投与時と比較して高かった。

次に実施した 2 週間反復投与毒性試験（非 GLP）では，雄 SD ラット（3 例／群）にエルダフィチニブを 10 及び 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4C】。初回及び反復投与したときのエルダフィチニブの T_{max} はいずれの用量においても 2.0 時間であった。エルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は初回及び反復投与のいずれにおいても用量増加に伴い増加した。また，反復投与したとき（Day 13）のエルダフィチニブの曝露量は初回投与したとき（Day 0）と比較して高かった（それぞれ 3.0～3.2 及び 3.1～4.1 倍）。

1 カ月間反復投与毒性試験（GLP）では，雌雄 SD ラット（雌雄各 3 例／群）にエルダフィチニブを 4，8 及び 16 mg/kg の用量で 1 日 1 回，又は 32 mg/kg の用量で週 2 回経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4D】。エルダフィチニブの曝露量［C_{max} 及び 0 時間から 7 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}7h}$）］は，初回（Day 0）及び反復投与（Day 28）のいずれにおいても用量増加に伴い増加した。また，反復投与したとき（Day 28）のエルダフィチニブの曝露量は，初回投与したとき（Day 0）と比較して，8 及び 16 mg/kg 投与群では高かったが（それぞれ 2.7～5.5 及び 2.2～3.4 倍），4 及び 32 mg/kg 投与群では同程度であった。また，エルダフィチニブの曝露量に顕著な性差は認められなかった。

3 カ月間反復投与毒性試験（GLP）では，雌雄 SD ラット（雌雄各 3 例／群）にエルダフィチニブを 4 及び 8 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与，又は 16 及び 32 mg/kg の用量で 7 日間投与後 7 日間休薬とする間欠経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4E】。エルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は，全用量範囲で用量増加に伴い増加した。エルダフィチニブの曝露量は，32 mg/kg 投与群の雄を除き，Day 6 より Day 90 で高値を示す傾向があり（それぞれ 1.0～4.1 及び 1.5～3.4 倍），また，雄より雌で高い傾向を示したものの，個体間変動が大きかったことから，反復投与したときの曝露量の累積性及び性差は明確ではなかった。

胚・胎児発生に関する試験（GLP）では，器官形成期（妊娠 6～17 日目）の妊娠雌 SD ラット（各 6 例／群）にエルダフィチニブを 1，4 及び 8 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4F】。妊娠 6 日目において，1 mg/kg 投与群の血漿中濃度は投与後 1 及び 2 時間のみ測定可能であったことから，AUC は算出しなかった。妊娠 6 及び 17 日目において，1～8 mg/kg 投与群の C_{max} 及び 4～8 mg/kg 投与群の $AUC_{0\text{-}7h}$ は，用量増加に伴い増加した。4 及び 8 mg/kg 投与群では，妊娠 17 日目におけるエルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}7h}$）は妊娠 6 日目と比較してやや高かった（それぞれ 2.0～3.1 及び 1.7～2.2 倍）。妊娠 17 日目において，血漿中エルダフィチニブ濃度の胎児／母動物比は，8 mg/kg 投与群では投与後 1 及び 2 時間でそれぞれ 0.04 及び 0.07 であり，4 mg/kg 投与群では投与後 2 時間で 0.11 であった。4 mg/kg 投与群の投与後 1 時間，並びに 1 mg/kg 投与群の投与後 1 及び 2 時間では，胎児の血漿中エルダフィチニブ濃度は全て定量下限（0.4 ng/mL）未満であった。

毒性発現機序に関する試験（非 GLP）では，雄 SD ラットにエルダフィチニブを単回又は 4 日間反復経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4G】。エルダフィチニブを 50 及び 100 mg/kg の用量（それぞれ 3 及び 6 例）で単回経口投与したときのエルダフィチニブの曝露量［C_{max} 及び 0 時間から 4 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}4h}$）］は，用量増加に伴い増加した。一方，雄 SD ラット（主試験群 6 例）にエルダフィチニブを 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 日間経口投与したときのエルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は，Day 0 と比較して Day 1 ではわずかに高く（それぞれ 1.4 及び 1.1 倍），Day 1 と比較して Day 2（3.1 及び 6.7 倍），及び Day 2 と比較して Day 3（3.9 及び 4.2 倍）ではさらに高かった。サテライト群（トキシコキネティクス群 3 例，100 mg/kg）におけるエルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は，主試験群と比較して同程度か若干高く，主試験群と同様に Day 0 と比較して Day 2 で高かった（3.7 及び 8.6 倍）。

軟組織鉱質沈着及び骨病変に対する食餌の影響を検討するために追加した 2 つの 2 週間反復投与による毒性発現機序に関する試験（非 GLP）では，雄 SD ラット（3 例／群）にエルダフィチニブを経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4H，2.6.5.4I】。最初の試験では，2 種類の飼料条件（低リン及びビタミン D3 欠乏）及び標準飼料給餌下でエルダフィチニブを 50 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与した。Day 13 におけるエルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は，標準飼料群と低リン飼料群で同程度であった。ビタミン D3 欠乏飼料群では 3 例中 2 例が採血前又は採血当日に死亡したが，生存ラットにおけるエルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は標準飼料群と比較して高かった（それぞれ 1.5 及び 2.2 倍）【2.6.5.4H】。もう一つの試験では，リン除去剤（3%セベラマー）を添加した飼料を給餌したラットにエルダフィチニブを 30 及び 50 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与，並びに低リン飼料を給

餌したラットにエルダフィチニブを 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与した【2.6.5.4I】。リン除去剤添加飼料給餌群では 30 及び 50 mg/kg 投与群におけるエルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は同程度であった。また，30 mg/kg 投与群におけるエルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は，低リン飼料給餌群と比較してリン除去剤添加飼料給餌群で高かった（それぞれ 2.7 及び 3.9 倍）。

2.6.4.3.3 イヌ

2.6.4.3.3.1 単回投与

【資料番号 4.2.2.2.5，4.2.2.2.6，4.2.2.2.7，4.2.2.2.8】

雄ビーグル犬（3 例／群）にエルダフィチニブを 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与及び 5 mg/kg の用量で単回経口投与したときの薬物動態を評価した【2.6.5.3A，2.6.5.3B】。エルダフィチニブを静脈内投与したとき，$T_{1/2}$ は 2.3～4.5 時間，CL_p は 2.2 L/h/kg，V_{ss} は 11 L/kg であった。エルダフィチニブを単回経口投与したとき，投与後 3.3 時間で C_{max} に到達した後，緩徐に消失した（$T_{1/2}$：10 時間）。経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティは 100%超であった。

雄ビーグル犬（3 例／群）にエルダフィチニブを 0.625 及び 2.5 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの薬物動態を評価した【2.6.5.3A】。静脈内投与したときのエルダフィチニブの曝露量［投与直後の血漿中濃度（C_0）及び 0 時間から最終定量可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）］は用量増加に伴い増加した。0.625 mg/kg 群の $T_{1/2}$ は 3.2 時間，CL_p は 1.98 L/h/kg，V_{ss} は 7.1 L/kg であった。2.5 mg/kg 群では，採血の最終 2 時点（4 及び 7 時間）における血漿中濃度が同程度であったため，消失相を特定できず，薬物動態パラメータは正確に推定できなかった。

雄ビーグル犬（4 例／群）にエルダフィチニブを 0.5 及び 2.5 mg/kg の用量で単回経口投与したときの薬物動態を評価した【2.6.5.3B】。経口投与したときのエルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び AUC）は用量増加に伴い増加した。0.5 及び 2.5 mg/kg 群の T_{max} はそれぞれ 3.50 及び 4.75 時間であり，$T_{1/2}$ はそれぞれ 3.3 及び 8.3 時間であった。

雄ビーグル犬（4 例）にエルダフィチニブを 5 mg/kg の用量でカプセル製剤（0 号硬ゼラチンカプセルに充填）又は 20% HP-β-CD 溶液（標準製剤）としてクロスオーバーで単回経口投与し，各製剤投与後の薬物動態を比較した【2.6.5.3B】。エルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び AUC），T_{max} 及び $T_{1/2}$ は両製剤で同程度であり，カプセル製剤の相対的バイオアベイラビリティは標準製剤と比較して 110%であった。

2.6.4.3.3.2 反復投与

【資料番号 4.2.3.2.6，4.2.3.2.7，4.2.3.2.8，4.2.3.2.9】

最初の忍容性試験（非 GLP）では，雌雄ビーグル犬（雌雄各 2 例／群）にエルダフィチニブを 5，15 及び 45 mg/kg の用量で単回経口投与したとき（単回投与期），並びに 5 及び 15 mg/kg の用量で 1 日 1 回 5 日間反復経口投与したとき（反復投与期）のトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4J】。単回投与期のエルダフィチニブの AUC_{inf} は，用量増加に伴い増加したが，投与後 30 分までに 15 mg/kg 群の雌雄各 1 例及び 45 mg/kg 群の全例で嘔吐がみられたため，用量比例性については明確ではなかった。5 及び 15 mg/kg の用量で 5 日間反復投与したときの最終投与後 24 時間の濃度は，単回投与期の投与後 24 時間の濃度よりも高かった。

2 つ目の忍容性試験（非 GLP）では，雌雄ビーグル犬（雌雄各 2 例／群）にエルダフィチニブを 1 及び 5 mg/kg の用量でそれぞれ 1 日 1 回及び 2 日に 1 回 2 週間経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4K】。5 mg/kg 群の 2 例（雌雄各 1 例）は，一般状態悪化のため Day 8 に安楽死させた。エルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び AUC）は，用量増加に伴い増加し，初回投与（Day 0）より反復投与したとき（Day 10）に高かった。

1 カ月間反復投与毒性試験（GLP）では，雌雄ビーグル犬（雌雄各 3 例／群）にエルダフィチニブを 0.25，0.5 及び 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回，又は 2 mg/kg の用量で週 2 回経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4L】。0.5 及び 1 mg/kg 群におけるエルダフィチニブの AUC は，用量増加に伴い増加し，反復投与したとき（Day 26）の方が初回投与したとき（Day 0）よりも高かったが，個体間変動が大きかったため，曝露量の性差については明確ではなかった。エルダフィチニブの曝露量は 2 mg/kg 群（週 2 回）で最も高かった。

3 カ月間反復投与毒性試験（GLP）では，雌雄ビーグル犬（雌雄各 4 例／群）にエルダフィチニブを 0.5 及び 0.75 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与，及び 1.5 mg/kg の用量で 7 日間投与後 7 日間休薬とする間欠経口投与したときのトキシコキネティクスを評価した【2.6.5.4M】。エルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び AUC）は用量増加に伴い増加した。Day 90 におけるエルダフィチニブの AUC は Day 6 と比較して高い傾向がみられた（1.2～2.3 倍）。エルダフィチニブの曝露量は 1.5 mg/kg 間欠投与群で最大であったが，個体間変動が大きかったため，曝露量の性差については明確ではなかった。

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 組織分布

【資料番号 4.2.2.3.1，4.2.2.3.2，4.2.3.2.4】

雄 SD ラット（3 例／時点）にエルダフィチニブを 10 mg/kg の用量で単回経口投与し，投与後 0.5～24 時間における血漿中及び組織内エルダフィチニブ濃度を LC-MS/MS 法を用いて測定した【2.6.5.5A】。血漿中及び組織内エルダフィチニブ濃度は投与後 1～2 時間に最高値に到達し，投与後 24 時間には血漿及びほとんどの組織で定量下限（血漿：2 ng/mL，組織：10～34.3 ng/g）未満となった。組織内／血漿中 AUC 比は，肺（133）及び肝臓（114）で最も高く，次いで腎臓（30），心臓（13），筋肉（6.9）及び皮膚（6.0）の順であった。脳内エルダフィチニブ濃度は，全ての試料採取時点で定量下限（20 ng/g）未満であった。

雄有色 LH ラット（1 例／時点）に ^{14}C-エルダフィチニブを 4 mg/kg の用量で単回経口投与したときの組織内放射能を，WBA を用いて測定した【2.6.5.5B】。腹部脂肪を除く全ての組織において，1 時点以上で放射能の定量が可能であった。放射能濃度は，多くの組織で投与後 0.5 又は 1 時間に，水晶体及びブドウ膜では投与後 24 時間に最高値を示した。また，多くの組織の放射能濃度は最終試料採取時点である投与後 72 時間までに定量下限（0.01 μg eq/g）付近又は未満となった。放射能の組織内／血液中 AUC 比は小腸壁（107）で最も高く，次いでぶどう膜（61.6），肝臓（55.0），盲腸壁（40.6）及び腎髄質外層（36.0）の順であった。一方，膀胱壁では中程度（6.4），白色及び有色皮膚では低く（いずれも 1.9），水晶体でも低かった（1.1）。組織内 AUC が血液中 AUC よりも低かった組織は，脳，脊髄，精巣上体，精嚢，精巣，被毛及び直腸などであった。

ラット（雌雄各 3 例／群）及びイヌ（雌雄各 3 例／群）を用いた 1 カ月間反復投与毒性試験において，剖検時（最終回投与後 24 時間）に採取した血漿中，並びに心臓，腎臓，肝臓及び肺組織内のエルダフィチニブ濃度を測定した（4.2.3.2.4 参照）。雌雄ラットにエルダフィチニブを 4，8 及び 16 mg/kg の用量で 1 日 1 回，又は 32 mg/kg の用量で週 2 回経口投与したとき，エルダフィチニブの血漿中及び組織内濃度は，いずれの用量でも概して定量下限未満（それぞれ 0.4 ng/mL 及び 2～2.5 ng/g）であった。雌雄イヌにエルダフィチニブを 1 mg/kg の用量で 1 日 1 回，又は 2 mg/kg の用量で週 2 回経口投与したとき，組織内／血漿中濃度比は心臓で最も低く（14.8～22.7），肺で最も高かった（74.4～134.9）。

2.6.4.4.2 タンパク結合及び血球移行

【資料番号 4.2.2.3.3，4.2.2.3.4】

動物及びヒトにおけるエルダフィチニブの血漿タンパク結合は，2 つの試験で平衡透析法により評価した【2.6.5.6A，2.6.5.6B】。モルモットの血漿を用いた最初の試験において，エルダフィチニブ（2233 ng/mL，5 µmol/L）の血漿タンパク結合率は 89.5%であった。Swiss CD-1 マウス，ヌードマウス，SD ラット，ヌードラット，ビーグル犬及びヒトの血漿を用いた 2 つ目の試験において，動物では 2 濃度（15 及び 750 ng/mL，0.034 及び 1.68 µmol/L）の，ヒトでは 5 濃度（15～1500 ng/mL，0.034～3.36 µmol/L）の ^{3}H-エルダフィチニブを用いて血漿タンパク結合を評価した。動物における血漿タンパク結合率は濃度に依存せず，2 濃度における血漿タンパク結合率の平均値は，Swiss CD-1 マウスで 88.7～93.5%（非結合型分率：6.5～11.3%），ヌードマウスで 94.1%（非結合型分率：5.9%），SD ラットで 92.8%（非結合型分率：7.2%），ヌードラットで 97.8%（非結合型分率：2.2%），イヌで 86.3%（非結合型分率：13.7%）であった。ヒトにおける血漿タンパク結合率は 150 ng/mL（0.336 µmol/L）まで濃度に依存せず 99.44～99.45%（非結合型分率：0.55～0.56%）であったが，750 及び 1500 ng/mL（1.68 及び 3.36 µmol/L）では濃度の上昇とともに血漿タンパク結合率は低下し，それぞれ 99.38 及び 99.26%（非結合型分率：それぞれ 0.62 及び 0.74%）であった。

精製ヒト AGP 及び HSA に対する ^{3}H-エルダフィチニブ（15 ng/mL，0.034 µmol/L）の結合を平衡透析法により評価した【2.6.5.6B】。血漿タンパク結合率は AGP 濃度を 0.02，0.05，0.10 及び 0.20%としたとき，それぞれ 94.13，97.73，99.06 及び 99.48%（非結合型分率：それぞれ 5.87，2.27，0.94 及び 0.52%）であり，HSA 濃度を 1.0，2.0，4.3 及び 6.0%としたとき，それぞれ 53.4，67.8，80.3 及び 83.9%（非結合型分率：それぞれ 46.6，32.2，19.7 及び 16.1%）であった。血漿タンパク結合率はいずれも精製タンパク濃度に依存し，HSA よりも AGP で高かった。0.07% AGP 及び 4.3% HSA の混合液における血漿タンパク結合率は 99.61%であった。これらの結果より，ヒトにおけるエルダフィチニブの高い血漿タンパク結合率は，AGP に対する結合率が高いことによるものと考えられた。

動物（CD-1 及びヌードマウス，SD 及びヌードラット，並びにビーグル犬）及びヒトの血液に ^{3}H-エルダフィチニブを 15 及び 750 ng/mL の濃度で添加し，血液中での分布を検討した【2.6.5.6B】。エルダフィチニブの血球移行率は，げっ歯類では 0.219～0.490 であり，イヌでは 0.667～0.698 であった。ヒト血液中では，ほぼ全てのエルダフィチニブは血漿タンパクに結合した（血液中で血漿タンパクと結合する割合：0.937～0.961）。動物の血液では，ヒト（0.005～

0.006）と比較して血漿水に分布するエルダフィチニブの割合が高く（0.016～0.069），血漿タンパクと結合する割合は低かった（0.261～0.765）。

2.6.4.4.3 胎盤通過性

【資料番号 4.2.3.5.2.2】

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験において，器官形成期の母動物（各 6 例／群）にエルダフィチニブを 1 日 1 回経口投与し，妊娠 17 日目の投与後 1 及び 2 時間に胎児血漿中エルダフィチニブ濃度を測定した【2.6.5.4F】。高用量群（8 mg/kg）では，投与後 1 及び 2 時間における血漿中濃度はそれぞれ 1.34 及び 2.63 ng/mL であった。中用量群（4 mg/kg）における投与後 2 時間の血漿中濃度は 0.545 ng/mL と極めて低かった。中用量群の投与後 1 時間並びに低用量群（1 mg/kg）の投与後 1 及び 2 時間では，血漿中エルダフィチニブ濃度は定量下限（0.04 ng/mL）未満であった。これらの結果から，エルダフィチニブの胎盤通過性は低いことが示された。

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 *In vivo* 代謝

2.6.4.5.1.1 生体試料中の代謝物の化学構造及び存在量

【資料番号 4.2.2.4.1，4.2.2.4.2，4.2.2.4.3，4.2.2.4.4，4.2.2.4.8】

In vivo 代謝物プロファイルの検討は，無処置及び胆管カニューレ処置雄ラット，雄イヌ並びにヒトの生体試料を用いて実施した。

最初の試験では，ラットに 4 及び 60 mg/kg，並びにイヌに 0.25 及び 1 mg/kg の用量で ^{3}H-エルダフィチニブを単回経口投与したときの血漿，尿及び糞試料を用いて代謝物プロファイルを評価した【2.6.5.10B】。その結果，用量間で代謝物プロファイルに顕著な差は認められなかった。

次の試験では，無処置及び胆管カニューレ処置ラットに 4 mg/kg の用量で ^{14}C-エルダフィチニブを単回経口投与したときの尿及び糞試料を用いて代謝物プロファイルを定量的に評価した【2.6.5.10C】。

さらに，ヒトマスバランス試験（EDI1005 試験）において健康男性成人 8 例に ^{14}C-エルダフィチニブを 12 mg（1.85 MBq）の用量で単回経口投与したときの血漿，尿及び糞試料を用いて代謝物プロファイルを定量的に評価した【2.6.5.10D】。

<u>血漿</u>

^{3}H-エルダフィチニブを投与したラット及びイヌのマスバランス試験では，血漿試料からの放射能の回収率が十分ではなかったため，測定試料中の放射能濃度は低かった【2.6.5.10B】。そのため，ラジオクロマトグラムのピーク面積から正確な血漿中代謝物濃度を求めることができず，代謝物プロファイルの定量性は十分ではなかった。しかしながら，血漿中における主要な薬物関連物質は，ラットでは未変化体及び M2 であり，イヌでは未変化体，M2 及び M11 であることが示唆された。また，血漿中微量代謝物として，一酸化体のグルクロン酸抱合体（M3），一酸化体（M5），M6 及び M8 が両動物種で認められ，M1 及び一酸化四脱水素 *O*-脱メチル化体（M9）はラットでのみ認められた。

なお，両動物種の血漿において認められた微量な薬物関連物質である M4 及び M7（いずれも七員環構造を有する）は，以下の理由から代謝物ではないと考えられた。試料処理溶媒として使用した DMSO からはフリーラジカルメカニズムによりホルムアルデヒドが生成することが知られている（Klein 1981）。検討の結果，M6 が DMSO 中に含まれるホルムアルデヒドと反応し，M6 の水酸基のオルト位又はパラ位にメチレン基が導入されることにより，それぞれ M4 及び M7 が生成することが示された。したがって，投与量に対する M6 の割合は M6，M4 及び M7 の総量に等しいと考えられた。

ヒト血漿中の主要な薬物関連物質は未変化体であった。^{14}C-エルダフィチニブを投与したヒトマスバランス試験において，T_{max}（2 時間）の時点で採取した血漿を用いて代謝物プロファイルを検討したとき，エルダフィチニブがヒト血漿中における唯一の放射能成分であった【2.6.5.10D】。また，LC-MS/MS 法によって測定した血漿中のエルダフィチニブ濃度は，全採血期間（0.5～312 時間）で放射能濃度と同程度であった。これらのことから，T_{max} 以外の時点では血漿試料の代謝物プロファイルは評価しなかった。第 I 相試験でエルダフィチニブを 9 mg の用量で 1 日 1 回経口投与したときに採取した血漿試料を用いて代謝物プロファイルを検討したときも同様に，血漿中の主要な薬物関連物質は未変化体であった【2.6.5.10E】。

尿

^{3}H-エルダフィチニブを投与したラット及びイヌのマスバランス試験では，いずれも尿中には M2（いずれも投与放射能の 1.5%未満）が回収され，イヌでは微量の未変化体も回収された。

^{14}C-エルダフィチニブを投与したヒトマスバランス試験において，最長で投与後 384 時間まで回収された尿中には，未変化体，M6，M8 及び M28 が確認され，それぞれ投与放射能の 9.84～15.6，1.93～2.3，1.07～1.17 及び 1.25～1.32%であった。

糞及び胆汁

ラット及びイヌを用いた ^{3}H-エルダフィチニブのマスバランス試験では，血漿と同様に，糞試料からの放射能の回収率も十分ではなかったことから，糞中代謝物プロファイルの定量性は十分ではなかった【2.6.5.10B】。4 mg/kg の用量でラットに単回経口投与したとき，投与後 0～24 時間の糞中における放射能の大部分は M6［M6，M4 及び M7（それぞれ投与量の 9.55，6.64 及び 5.01%）の総和］であり，残りの放射能は未変化体及び M5（それぞれ投与放射能の 4.56 及び 1.68%）であった。イヌでは，1 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，投与後 24～48 時間の糞中に M4，M7 及び未変化体が認められ，それぞれ投与放射能の 7.46，2.50 及び 5.37%であった。本試験では試料処理溶媒として DMSO を用いたため，糞中に排泄された M6 が M4 及び M7 に変換されたと考えられた。

ラットを用いた最初の代謝物プロファイル検討において，代謝物は主に糞中に排泄されることが示されたことから，^{14}C-エルダフィチニブを 4 mg/kg の用量で単回経口投与したときの胆管カニューレ処置ラットにおける胆汁及び糞中，並びに無処置ラットにおける糞中の代謝物プロファイルを検討した【2.6.5.10C】。投与後 48 時間まで採取した胆汁中には計 14 種類の代謝物が認められ，ほとんどがグルクロン酸抱合体であった。主要なグルクロン酸抱合体は M2，M13 及び M15 であり，それぞれ投与放射能の 14.18，4.08 及び 9.24%であった。胆管カニューレ処置ラッ

トの胆汁中に認められたグルクロン酸抱合体（M2，M13 及び M15）を β-グルクロニダーゼで加水分解することにより，M2，M13 及び M15 のアグリコンはそれぞれ M6，M6 の *O*-脱メチル化体（M20）及び M6 のフェニル環への一酸素付加体（M26）であることが示され，これらのアグリコンは無処置ラットの糞中にも確認された。また，M15 と同時に溶出した胆汁中の微量なグルクロン酸抱合体（M14）は加水分解により M1 となった。なお，本試験では，試料処理溶媒としてメタノール／酢酸を用いており，胆汁，糞及び尿中に M4 及び M7 は認められなかった。しかしながら，胆汁中に認められた M17 は，M4/M7 の一酸化に続くグルクロン酸抱合により生成する可能性があるため，M4/M7 は *in vivo* においても生成する可能性は否定できなかった。胆管カニューレ処置ラットの糞中に M6，M20 及びエルダフィチニブが確認されたことから（それぞれ投与放射能の 16.3，1.94 及び 21.5%），腸管分泌及び／又は ^{14}C-エルダフィチニブの不完全な吸収が示唆された。無処置ラットの糞中では，M6 が最も多い代謝物であった（投与放射能の 46.2%）。

^{14}C-エルダフィチニブを投与したヒトマスバランス試験において，最長で投与後 384 時間まで回収された糞試料を用いて代謝物プロファイルを検討したところ，CYP2D6 の EM 及び PM で代謝物の種類及び量に顕著な差は認められなかった。なお，その後に実施したエルダフィチニブの代謝に関与する CYP 分子種同定試験において，エルダフィチニブの代謝における CYP2D6 の関与は限定的であることが確認された（2.6.4.5.2.2）。ヒト糞中における M6 は投与放射能の 23.8～24.3%であり，M8，M11 及び M27 はいずれも微量（投与放射能の 4%以下）であった【2.6.5.10D】。なお，本試験では試料処理溶媒としてメタノール／酢酸を用いたため，M4 及び M7 は認められなかった。また，代謝物に加え，未変化体（投与放射能の 14.1～22.6%）が糞中から回収された。さらに，全ての採取時点（最長 384 時間まで）で未変化体が回収されたことから，未変化体の糞中への排泄は緩徐であることが示唆された。

2.6.4.5.1.2 P-gp の影響

【資料番号 4.2.2.4.5】

P-gp ノックアウトマウス及びその野生型マウス（FVB/NTac）に ^{14}C-エルダフィチニブを 1 mg/kg の用量で単回経口投与，及び 0.5 mg/kg の用量で単回静脈内投与し，エルダフィチニブの薬物動態に及ぼす P-gp の影響を評価した【2.6.5.10A，2.6.5.13A】。各動物の糞及び尿試料は群ごとにプールした。野生型及び P-gp ノックアウトマウスに経口投与したときの投与後 24 時間までの放射能の回収率は，糞中ではそれぞれ投与放射能の 74 及び 55%，尿中ではそれぞれ投与放射能の 2 及び 4%であり，糞及び尿中への ^{14}C-エルダフィチニブ由来放射能の排泄は野生型及び P-gp ノックアウトマウスにおいて同程度であった。静脈内投与したときの ^{14}C-エルダフィチニブ由来放射能の排泄も，野生型及び P-gp ノックアウトマウスで同程度であった。野生型及び P-gp ノックアウトマウスのいずれにおいても，経口及び静脈内投与したときの糞中には M6，M9 及び M20 が，尿中には M13 が主に認められ，同定された代謝物及びその排泄量に顕著な差は認められなかった。糞及び尿中に認められた未変化体及び尿中に認められた他の代謝物はいずれの群においても投与放射能の 2%以下であった。

以上のとおり，経口及び静脈内投与後のエルダフィチニブは野生型及び P-gp ノックアウトマウスのいずれでも顕著に代謝され，糞中から回収された未変化体は少なかった。これらの結果から，ラット，イヌ及びヒトの糞中への未変化体の排泄に P-gp の寄与は小さいと考えられた。

2.6.4.5.1.3 推定代謝経路

【資料番号 4.2.2.4.1，4.2.2.4.2，4.2.2.4.3】

動物におけるエルダフィチニブ及びその代謝物の主排泄経路は糞中であった。マスバランス試験において，ラット及びイヌの尿中から回収された放射能の割合（投与放射能の 2.32～6.30%）は，ヒト（投与放射能の 18.7%）と比較して低かった。

ラット及びイヌに ^{3}H-エルダフィチニブを投与した最初の試験で得られた糞中の代謝物プロファイルの定量性は十分でなかったため，^{14}C-エルダフィチニブを投与した無処置ラットの試験成績をヒト代謝物プロファイルとの定量的な比較に使用した。また，必要に応じて，これら 3 つの試験成績を定性的な比較に使用した。単回経口投与したときに代謝されたエルダフィチニブの割合は，ヒトと比較してラットで顕著に高かった。ヒトでは糞及び尿中から回収（最長で投与後 384 時間）された未変化体の合計は投与放射能の 30%程度であった【2.6.5.10D】。一方，ラットではプールした糞中（投与後 0～24 時間）から回収された未変化体は投与放射能の 8.85%であり，尿中（投与後 0～24 時間）には未変化体は認められなかった【2.6.5.10C】。

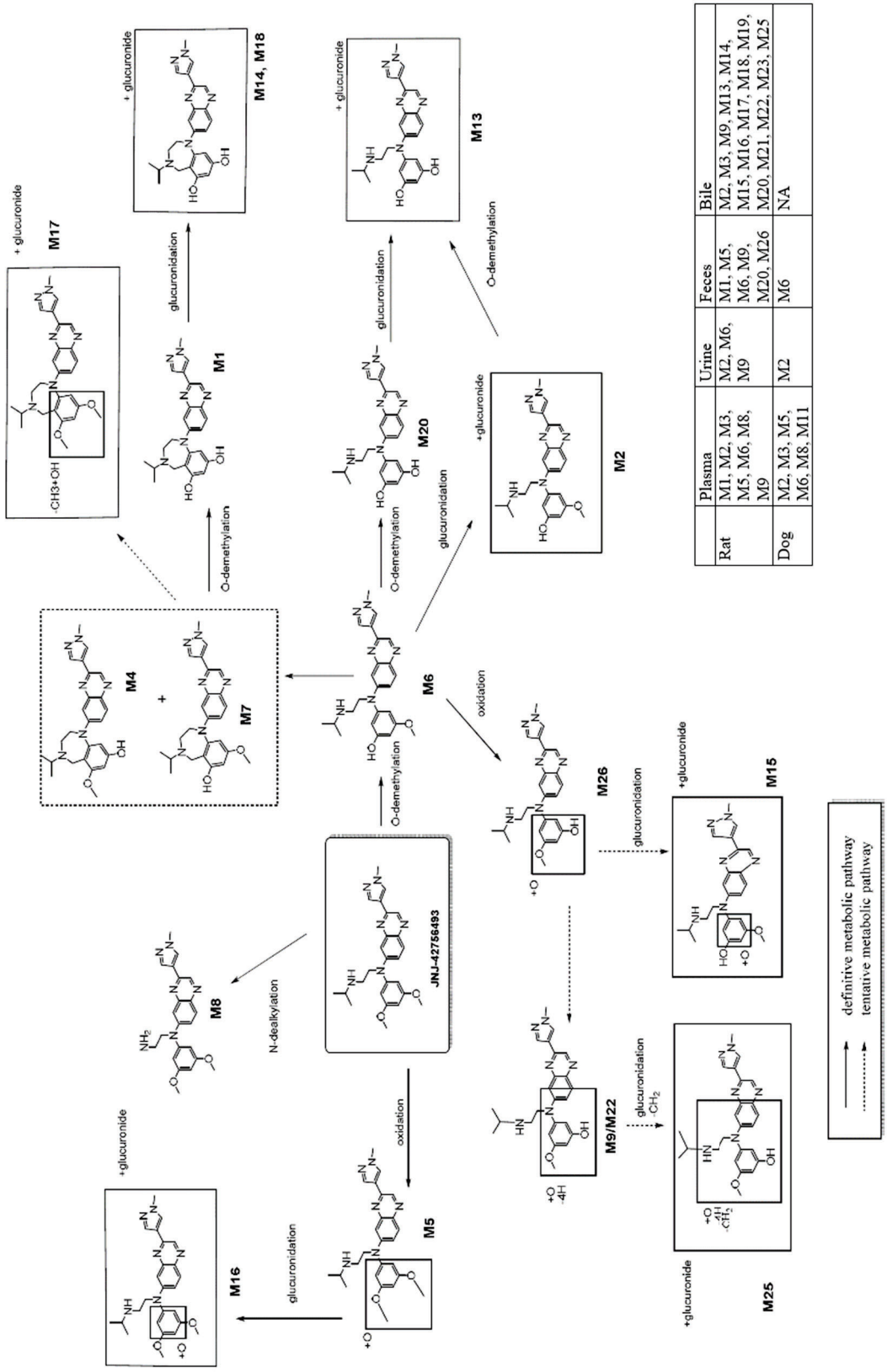
動物及びヒトで同定された代謝物を表 2.6.4-2 に示す。動物及びヒトにおける *in vivo* での推定代謝経路をそれぞれ図 2.6.4-2 及び図 2.6.4-3 に示す。

表 2.6.4-2 ラット，イヌ及びヒトにエルダフィチニブを経口投与したときに同定された代謝物

Species (Study No.)	Plasma	Urine	Feces	Bile
Rat (FK10110 and FK11144)	M1, M2, M3, M5, M6, M8, M9	M2, M6, M9	M1, M5, M6, M9, M20, M26	M2, M3, M9, M13, M14, M15, M16, M17, M18, M19, M20, M21, M22, M23, M25
Dog (FK10110)	M2, M3, M5, M6, M8, M11	M2	M6[a]	NA
Human (FK12055)	-	M6, M8, M28	M5, M6, M8, M11, M27	NA

[a] Represented as artifacts M4 and M7 formed from M6 during sample preparation
- = not detected; NA = not applicable

ラット，イヌ及びヒトにおいて，M5，M6 及び M8 がエルダフィチニブから直接生成した。ラット特異的代謝物は，主として M6 から生成した M20 及び M26，並びにこれらの更なる代謝により生成したものであった。ラット胆汁中代謝物プロファイルの検討から，グルクロン酸抱合が重要な代謝経路であることが示された。なお，M2 はラット及びイヌの血漿中でも主要な代謝物であったが，その他のグルクロン酸抱合体のほとんどは胆汁中のみに認められた。また，無処置ラットの糞中で認められた M5，M6，M20 及び M26 は，胆汁中に確認されたグルクロン酸抱合体のアグリコンであった。M6 は，ラット及びイヌだけではなく，ヒトでも主要な代謝物であった。ヒト特異的代謝物は糞又は尿中に認められた M27 及び M28 であり，投与放射能の 2%未満の微量代謝物であった。



	Plasma	Urine	Feces	Bile
Rat	M1, M2, M3, M5, M6, M8, M9	M2, M6, M9	M1, M5, M6, M9, M20, M26	M2, M3, M9, M13, M14, M15, M16, M17, M18, M19, M20, M21, M22, M23, M25
Dog	M2, M3, M5, M6, M8, M11	M2	M6	NA

図 2.6.4-2 ラット及びイヌにおけるエルダフィチニブの *in vivo* 代謝経路

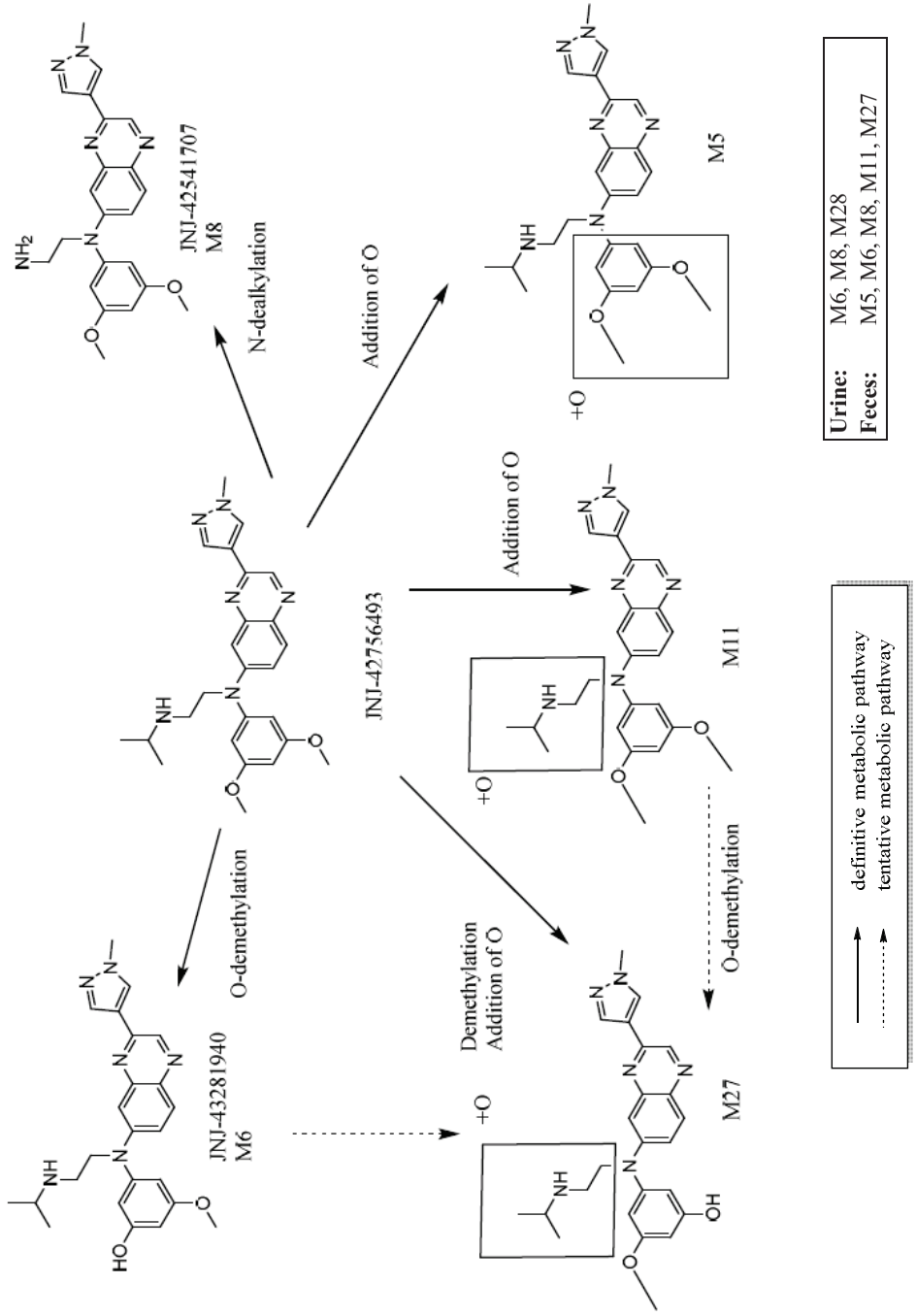


図 2.6.4-3 ヒトにおけるエルダフィチニブの *in vivo* 代謝経路

2.6.4.5.2　*In vitro* 代謝（代謝酵素含む）

2.6.4.5.2.1　肝細胞画分及び肝細胞における代謝物プロファイル

【資料番号 4.2.2.4.6，4.2.4.4.7，4.2.2.4.10】

動物及びヒトの肝細胞画分及び肝細胞を用いて，^{3}H-エルダフィチニブ（0.3 及び 3 µmol/L）の *in vitro* 代謝を評価した【2.6.5.9A】。^{3}H-エルダフィチニブ（0.3 µmol/L）と動物及びヒトの肝ホモジネートを 12,000×g で遠心分離したときの上清（S9）並びに肝ミクロソームとインキュベーション（動物及びヒトでそれぞれ 30 及び 120 分間）したとき，代謝された割合はマウス（CD-1 及びヌード）及びラット（SD 及びヌード）で高く，イヌ（ビーグル）及びヒトで低かった（図 2.6.4-4）。^{3}H-エルダフィチニブ（0.3 µmol/L）を SD ラット，ビーグル犬及びヒトの肝細胞とインキュベーション（動物及びヒトでそれぞれ 30 及び 120 分間）したとき，代謝された割合はそれぞれ 100，50.5 及び 25.9%であった。

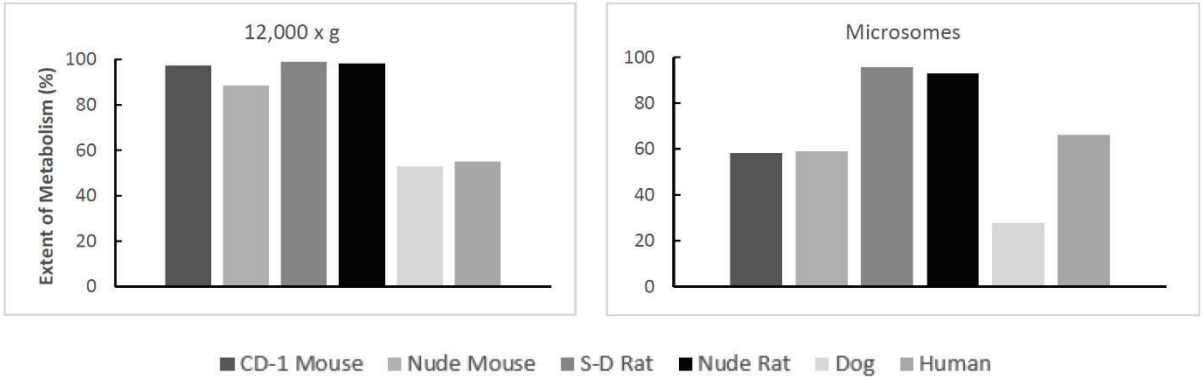


図 2.6.4-4 動物及びヒトの肝細胞画分における ^{3}H-エルダフィチニブ（0.3 µmol/L）の代謝

Note: Total incubation time of [^{3}H]erdafitinib with subcellular fractions was 30 minutes for animal species and 120 minutes for human

12,000 x g = S9, S-D = Sprague-Dawley

動物の肝細胞画分では，エルダフィチニブの主要な代謝物は M1，M4，M7 及び M9 であり，ヒトの肝細胞画分では M8 が最も多く，M4 及び M7 はわずかであった。ラット，イヌ及びヒトの肝細胞では，いずれも M2 がエルダフィチニブの主要な代謝物であった。ラットの肝細胞では，M3，M4，M5，M6，M7 及び M9，並びにいくつかの未同定の代謝物も認められた。イヌの肝細胞では M9，ヒトの肝細胞では M4，M6，M7 及び M8 も認められた。本試験の試料は DMSO で処理したため，M6 はホルムアルデヒドとの反応により M4 及び M7 に変換されたことから，M6 の生成量は，M6，M4 及び M7 の生成量を合計したものとなる。

ラット，イヌ及びヒトの肝及び小腸ミクロソーム，並びにヒト及びイヌの肝細胞を用いて，^{3}H-エルダフィチニブの固有クリアランス及び酵素反応速度パラメータ［ミカエリス定数（K_m）及び最大反応速度（V_{max}）］について検討した【2.6.5.9B】。肝ミクロソームにおける K_m（µmol/L）及び V_{max}（nmol/min/mg）は，ラットで 0.72 及び 1.4，イヌで 0.055 及び 0.032，並びにヒトで 8.49 及び 0.115 であった。イヌの肝細胞における非結合型 K_m は 0.018 µmol/L であり，V_{max} は 0.013 nmol/min/million cells であった。ヒトの肝細胞では，酵素反応速度パラメータの評価

に用いたインキュベーション時間（10，30 及び 60 分間）でのエルダフィチニブの代謝は低く，K_m 及び V_{max} 値は求められなかった。一方，エルダフィチニブの代謝に関与する CYP 分子種を検討した試験において 240 分間インキュベーションしたとき，エルダフィチニブは十分に代謝され，固有クリアランスは 2.53～4.94 μL/min/million cells と算出された【2.6.5.9D】。小腸ミクロソームと 60 分間インキュベーションしたときの ^{3}H-エルダフィチニブ（0.03 μmol/L）の代謝は，イヌではほとんど認められず（代謝率：≤3%），ヒトではわずかであり（代謝率：≤8%），ラットでは顕著であった（代謝率：81%）【2.6.5.9B】。

2.6.4.5.2.2 代謝に関与する CYP 分子種の同定

【資料番号 4.2.2.4.9，4.2.2.4.10】

エルダフィチニブの代謝に関与する CYP 分子種は，CYP 特異的阻害薬，ヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた試験，並びにヒト rCYP 発現系を用いた試験【2.6.5.9C，2.6.5.9D】から同定した。

^{3}H-エルダフィチニブ（0.3 又は 1 μmol/L）をヒトの肝ミクロソームと 30 分間インキュベーションしたとき，代謝された割合は約 30%であった。主要な代謝物は M8 であり，M6 の生成は限定的であった。ヒトの rCYP 発現系を用いた代謝試験では，rCYP2D6 によって最も代謝され，M6 が顕著に生成し，M8 は生成しなかった。rCYP2C9 による M6 及び M8 の生成は少なかった。また，rCYP3A4 による M8 の生成は顕著である一方，M6 の生成は少なかった。rCYP を用いた検討の結果から，CYP2D6，CYP3A4 及び CYP2C9 がエルダフィチニブの代謝に関与する可能性が示唆された。しかしながら，ヒトの肝ミクロソーム及び rCYP 発現系におけるエルダフィチニブの代謝は，ヒト *in vivo* で認められた主要代謝物（M6）及び微量代謝物（M8）の相対比を反映しなかった。一方，ヒトの肝細胞では，代謝された ^{3}H-エルダフィチニブ（0.3 又は 1 μmol/L）の割合は低かったものの（20%），代謝物（M6 及び M8）の相対比は，ヒト *in vivo* の代謝物プロファイルに近かった。これらのことから，CYP 特異的阻害薬及びヒトの肝細胞を用いた試験により，エルダフィチニブ（1 μmol/L）の代謝に関与する CYP 分子種を同定することとした【2.6.5.9D】。

ヒトの肝細胞における M6 関連代謝物の生成に及ぼす CYP 阻害薬の影響を評価したとき，阻害率はケトコナゾール（1 μmol/L，CYP3A4 阻害薬）存在下で約 22%，チエニル酸（15 μmol/L，CYP2C9 阻害薬）存在下で約 60%であった。固有クリアランスに基づくと，エルダフィチニブの代謝は 1-アミノベンゾトリアゾール（1-ABT，非特異的 CYP 阻害薬，1000 μmol/L）存在下で 50%阻害され，これは M8 及び M6 の生成阻害によるものであった。エルダフィチニブの代謝は 1-ABT（1000 μmol/L）＋チエニル酸（15 μmol/L）存在下で 84%阻害され，CYP3A4 及び CYP2C9 阻害薬それぞれ単独での阻害率を上回った。スルファフェナゾール（10 μmol/L，CYP2C9 阻害薬）存在下では，M6 及び M2 の生成はそれぞれ 91 及び 77%阻害された。ケトコナゾール（1 μmol/L）存在下では，M8 の生成は 73%阻害された。ケルセチン（10 μmol/L）又はゲムフィブロジル（100 μmol/L）（いずれも CYP2C8 阻害薬）若しくはパロキセチン（1.8 μmol/L）又はキニジン（1 μmol/L）（いずれも CYP2D6 阻害薬）存在下では，エルダフィチニブの代謝は顕著に阻害されなかった。

以上から，CYP 阻害薬の非存在下及び存在下で，ヒト肝細胞における代謝物プロファイル及び固有クリアランスを評価した結果に基づき，CYP2C9 及び CYP3A4 がエルダフィチニブの代謝に関与する主要な CYP 分子種であると結論づけられた。

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 動物

【資料番号 4.2.2.4.1，4.2.2.4.2】

ラットに 4 及び 60 mg/kg，並びにイヌに 0.25 及び 1 mg/kg の用量で ^{3}H-エルダフィチニブを単回経口投与し，投与後 72 時間までに糞及び尿中から回収された放射能を評価した【2.6.5.13B】。ラットでは，投与放射能の 87.6～88.7%が糞中から，2.32～2.73%が尿中から回収され，放射能の大部分は投与後 24 時間以内に回収された。また，イヌでは，投与放射能の 75.2～75.8%が糞中から，5.44～6.30%が尿中から回収され，放射能の大部分は投与後 48 時間以内に回収された。投与後 72 時間までに糞及び尿中から回収された放射能の割合は，両動物種で用量によらず同程度であった。

胆管カニューレ処置ラットに ^{14}C-エルダフィチニブを 4 mg/kg の用量で単回経口投与し，投与後 48 時間までに胆汁，糞及び尿中から回収された放射能を評価した【2.6.5.14】。胆汁，糞及び尿中からそれぞれ投与放射能の 47.9，30.6 及び 12.4%が回収された（総回収率：91.0%）。胆汁中から回収された放射能の大部分は投与後 7 時間までに回収された。また同試験において，無処置ラットに ^{14}C-エルダフィチニブを 4 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，投与後 48 時間までに回収された放射能は糞及び尿中でそれぞれ投与放射能の 95.1 及び 2.57%であった。

2.6.4.6.2 ヒト

【資料番号 4.2.2.4.3】

健康男性成人 8 例（CYP2D6 の EM 及び PM がそれぞれ 5 及び 3 例）に ^{14}C-エルダフィチニブを 12 mg の用量で単回経口投与し，最長で投与後 384 時間までに糞及び尿中から回収された放射能を評価した【2.6.5.13C】。投与放射能の 87.4%（個別値は 79.2～93.1%）が回収され，糞及び尿中排泄率はそれぞれ投与放射能の 68.7 及び 18.7%であった。なお，CYP2D6 の EM 及び PM 群における放射能の回収率は同程度であった（糞：それぞれ投与放射能の 69.9 及び 66.4%，尿：それぞれ投与放射能の 19.2 及び 17.8%）。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 酵素誘導及び阻害

2.6.4.7.1.1 酵素誘導

【資料番号 4.2.2.4.11，4.2.2.4.12】

最初の試験では，ヒトの肝細胞を用いて CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 に対するエルダフィチニブの誘導作用を評価した【2.6.5.12A】。3 例のドナー由来の肝細胞をエルダフィチニブ（0.4～15 μmol/L）又は陽性対照とともに 2 日間インキュベーションしたときの各 CYP 分子種の mRNA を測定した。10 μmol/L 以上の濃度では，細胞毒性のため誘導作用を結論づけられなかったが，7.5 μmol/L までのエルダフィチニブは CYP1A2 及び CYP2B6 を顕著に誘導しないことが示

された。一方，3 例中 1 例において，エルダフィチニブは 0.4～5 μmol/L で CYP3A4 の mRNA を溶媒対照の 2 倍超（4.18～6.50 倍）に増加させたことから，エルダフィチニブは CYP3A4 の誘導薬である可能性が示唆された。

2 つ目の試験では，最初の試験と同じ 3 例のドナー由来のヒトの肝細胞を用いて，細胞毒性を示さないエルダフィチニブの濃度範囲（0.005～3 μmol/L）で，CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用を評価した【2.6.5.12B】。その結果，エルダフィチニブは CYP1A2 及び CYP2B6 を顕著に誘導しないことが示された。一方，3 例中 1 例において，エルダフィチニブは 1 μmol/L 以上で CYP3A4 の mRNA を溶媒対照の 2 倍超（3.2～5.5 倍）に増加させた。エルダフィチニブの CYP3A4 誘導作用は最大効果（E_{max}）に到達せず，E_{max} 及び 50%作用濃度（EC_{50}）を算出することはできなかったことから，3 例のドナーでの用量反応関係の直線の傾きを陽性対照（リファンピシン）と比較した。その結果，エルダフィチニブの直線の傾きは，同一ドナーにおけるリファンピシンの 0.40～2.37%であったことから，エルダフィチニブの CYP3A4 誘導作用はリファンピシンよりも非常に弱いと考えられた。

2.6.4.7.1.2 酵素阻害

【資料番号 4.2.2.4.13，4.2.2.4.14，4.2.2.4.15】

CYP 分子種（CYP1A2，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A）に対するエルダフィチニブ（0.021～15 μmol/L）の可逆的阻害作用を，ヒトの肝ミクロソームを用いて検討した【2.6.5.12C】。検討した最高濃度（15 μmol/L）における酵素活性の阻害率は CYP2D6 で 25%，その他の CYP 分子種で 4～18%であったことから，IC_{50} 値は算出できなかった。エルダフィチニブは評価した濃度範囲で，いずれの CYP 分子種に対しても明確な阻害を示さなかったが，ワーストケースシナリオとしてエルダフィチニブの K_i を 15 μmol/L（*in vitro* 阻害試験で検討した最高濃度）と仮定し，薬物相互作用に関する本邦の通知で推奨されているベーシックモデル（肝臓における阻害：$R=1+I_{max,u}/K_i$，消化管における阻害：$R=1+I_g/K_i$）を用いて臨床最高用量における *in vivo* での薬物相互作用の可能性を評価した。$I_{max,u}$ を 5.1 ng/mL（0.0115 μmol/L：EDI1001 試験の定常状態における非結合型 C_{max}）としたとき，得られた R 値はいずれの CYP 分子種に対しても 1.02 未満であった。また，I_g を 9 mg/250mL（80.62 μmol/L：臨床最高用量 9 mg を水 250 mL で服用したときの消化管内薬物濃度）としたとき，得られた R 値はいずれの CYP 分子種に対しても 11 未満であった。したがって，エルダフィチニブは CYP の可逆的阻害を介して臨床的に重要な薬物相互作用を起こさないことが示された。

CYP 分子種に対するエルダフィチニブ（0.1～100 μmol/L）の時間依存的阻害（TDI）作用を，ヒトの肝ミクロソームを用いて，ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）生成系の存在下及び非存在下でプレインキュベーションすることにより検討した【2.6.5.12D】。エルダフィチニブは 100 μmol/L の濃度で CYP3A4（基質：テストステロン）の残存活性を 67.3%阻害した。また，エルダフィチニブの apparent partition ratio（APR）（Lim 2005）は 225 であり，陽性対照（ミフェプリストン）の 39 倍であったこと，並びに臨床で CYP3A4 に対して弱い TDI 作用を示す 3,7-ヒドロキシベルガモチン，エリスロマイシン，フルオキセチン及びイリノテカンの APR は，同様の実験条件下でそれぞれ 16.6，95.2，250 及び 543 であったことから，エルダフィチニブは CYP3A4 に対して弱い TDI 薬であることが示された。一方，エルダフィチニブは CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 に対して TDI 作用を示さなかった。

エルダフィチニブ（0.3～100 μmol/L）をヒトの肝ミクロソームとプレインキュベーションし，CYP3A4 に対する K_I 及び k_{inact} を算出した【2.6.5.12E】。ミクロソームタンパク質への非特異的結合率で補正したとき，CYP3A4（基質：ミダゾラム）に対するエルダフィチニブ及びエリスロマイシン（陽性対照）の k_{inact}/K_I 比は，それぞれ 11.5 及び 12.7 L/min/mmol であったことから，エルダフィチニブの CYP3A4 に対する TDI 作用は，エリスロマイシンと同程度であることが示された。

2.6.4.7.2　薬物トランスポーター

【資料番号 4.2.2.6.1，4.2.2.6.2，4.2.2.6.3，4.2.2.6.4，4.2.2.6.5，4.2.2.6.6，4.2.2.6.7】

Caco-2 細胞の単層培養系を用いて，エルダフィチニブ（1 μmol/L）の膜透過性を検討した結果，頂端膜側から側底膜側（A→B）方向へのみかけの透過係数（P_{app}）は 7.0×10^{-6} cm/s であり，側底膜側から頂端膜側（B→A）方向への P_{app} は 10.1×10^{-6} cm/s であった。アテノロール及びレボカバスチン（それぞれ低い及び高い膜透過性の対照物質）の P_{app} は，A→B 方向でそれぞれ 0.3×10^{-6} 及び 11.3×10^{-6} cm/s であり，B→A 方向でそれぞれ 0.63×10^{-6} 及び 16.7×10^{-6} cm/s であった。これらの結果から，エルダフィチニブは中程度～高い膜透過性を示した【2.6.5.15A】。

次に，トランスポーターを発現させた細胞株又は反転膜小胞を用いてエルダフィチニブがトランスポーターの基質又は阻害薬となる可能性を検討した。

P-gp を発現させた LLC-PK1 細胞を用いて，P-gp 阻害薬である GF120918（5 μmol/L）の存在下及び非存在下でエルダフィチニブ（1 μmol/L）の輸送について検討した。その結果，GF120918 非存在下でのエルダフィチニブの efflux ratio（B→A/A→B）は 2.54～2.60 であり，GF120918 により efflux ratio は 1 付近まで顕著に低下したことから，エルダフィチニブは P-gp の基質であることが示唆された。続いて，P-gp を発現させた LLC-PK1 細胞を用いて，エルダフィチニブの P-gp を介した輸送について検討した【2.6.5.15B】。エルダフィチニブの濃度を 0.007～0.3 μmol/L としたときの efflux ratio は 3.44～4.47 であり，1 及び 3 μmol/L としたときの efflux ratio は 1 に近かった（それぞれ 1.43 及び 0.83）ことから，エルダフィチニブは P-gp の基質であり，0.3 μmol/L を超えると P-gp の輸送は飽和することが示唆された。

BCRP を発現させた Madin-Darby canine kidney（MDCK）II 細胞におけるエルダフィチニブ（0.00608～9.43 μmol/L）の efflux ratio は親細胞と同程度であり，また BCRP 阻害薬である Ko143（1 μmol/L）による影響を受けなかった。これらのことから，エルダフィチニブは BCRP の基質ではないことが示された【2.6.5.15C】。

OATP1B1 又は OATP1B3 を発現させた human embryonic kidney 293（HEK293）細胞におけるエルダフィチニブ（0.329～27.3 μmol/L）の取込みは，親細胞と同程度であり，また OATP1B1 及び OATP1B3 阻害薬であるリファンピシン（25 μmol/L）による影響を受けなかった。これらのことから，エルダフィチニブは OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないことが示された【2.6.5.15D】。

P-gp，BCRP，OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OCT2，OAT1，OAT3，MATE1 又は MATE2-K を発現させた細胞株又は反転膜小胞を用いて，それぞれの典型基質の輸送に対するエルダフィチニブの阻害作用を評価した。表 2.6.4-3 に示すとおり，エルダフィチニブの P-gp，OCT1，OCT2，MATE1 及び MATE2-K に対する IC_{50} 値は 0.0434～2.26 μmol/L【2.6.5.15B，2.6.5.15E，2.6.5.15G】であり，BCRP 及び OATP1B1 に対する IC_{50} 値はそれぞれ 14.9 及び 36.5 μmol/L

【2.6.5.15C，2.6.5.15D】であった。一方，OATP1B3，OAT1 及び OAT3 に対する阻害は認められず，IC_{50} 値は算出できなかった【2.6.5.15D，2.6.5.15F】。

表 2.6.4-3 典型基質の輸送に対するエルダフィチニブの阻害作用

Transporter	Test System	Prototypical Substrate	IC_{50} μM (μg/mL)[a]	Study No.
P-gp/MDR1 (ABCB1)	LLC-PK1 cells	^{3}H-Digoxin	0.666 (0.3)	FK11164
BCRP (ABCG2)	Inside-out vesicles	^{3}H-Estrone-3-Sulfate	14.9 (6.7)	FK11162
OATP1B1 (SLCO1B1)	HEK293 cells	^{3}H-Estradiol-17β-glucuronide	36.5 (16.3)	FK11163
OATP1B3 (SLCO1B3)	HEK293 cells	^{3}H-Estradiol-17β-glucuronide	>63.1 (>28.2)	FK11163
OCT1 (SLC22A1)	CHO cells	^{14}C-Tetraethylammoniumbromide	0.73 (0.33)	FK11156
OCT2 (SLC22A2)	CHO cells	^{14}C-Metformin	0.0434 (0.019)	FK11156
OAT1 (SLC22A6)	CHO cells	^{14}C-*p*-Aminohippuric acid	>20.7 (>9.2)	FK11157
OAT3 (SLC22A8)	MDCK II cells	^{3}H-Estrone-3-sulfate	>68.6 (>30.6)	FK11157
MATE1 (SLC47A1)	MDCK II cells	^{14}C-Metformin	2.26 (1.01)	FK11158
MATE2-K (SLC47A2)	MDCK II cells	^{14}C-Metformin	1.89 (0.84)	FK11158

[a] A value preceded by > is the highest concentration tested

BCRP = breast cancer resistance protein; CHO = Chinese hamster ovary; HEK293 = human embryonic kidney 293; IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration; LLC-PK = Lilly laboratory cancer porcine kidney; MATE = multidrug and toxin extrusion protein; MDCK = Madin-Darby canine kidney; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp/MDR1 = P-glycoprotein/multi-drug resistance 1 protein

IC_{50} 値が算出されたトランスポーターについて，薬物相互作用に関する本邦の通知で推奨されているカットオフ基準に基づき，*in vivo* での薬物相互作用の可能性を評価した（表 2.6.4-4）。その結果，エルダフィチニブは OCT2 及び P-gp（消化管）以外のトランスポーターに対する阻害を介した臨床的に重要な薬物相互作用を起こさないと考えられた。なお，P-gp の阻害を介した *in vivo* での薬物相互作用の可能性は，臨床薬物相互作用試験と並行して生理学的薬物速度論（PBPK）モデルを用いたシミュレーションでも評価した【2.7.2.2.3.2】。

表 2.6.4-4 カットオフ基準に基づいたエルダフィチニブによるトランスポーター阻害を介した薬物相互作用の可能性の評価

		PMDA DDI guideline	
Location & Transporter	*In vitro* Inhibition IC_{50} (μM)	R Value	*In vivo* Interaction Expected
Intestinal		$R = I_{gut}/IC_{50}$	If R≥10
P-gp	0.666	121	Yes
BCRP	14.9	5.41	No
Hepatic		$R = 1 + f_{u,p} \times I_{inlet,max}/K_i$	If R≥1.1
OATP1B1	36.5	1.00	No
Renal		$R = 1 + I_{max,u}/K_i$	If R≥1.1[a]
OCT2	0.0434	1.53	Yes
BCRP	14.9	1.00	No
MATE1	2.26	1.01	No
MATE2-K	1.89	1.01	No

[a] R value for MATE1 and MATE2-K is 1.02.

Definition of equation terms:

I_{gut}	Highest clinical dose of erdafitinib (9 mg/250 mL)
$I_{max,u}$	Unbound mean steady-state plasma C_{max} value (5.1 ng/mL = 0.0115 μM) following administration of highest clinical dose 9 mg q.d. in clinical study EDI1001
$f_{u,p}$	Assumed to be 0.01, since the measured unbound fraction in plasma was 0.003
$I_{inlet,max}$	Estimated maximum plasma inhibitor concentration at the inlet to the liver (I_{max} + $(k_a \times Dose \times F_a \times F_g)/(Q_h/R_b)$). I_{max} = 1911 ng/mL, C_{max} plasma at 9 mg dose; k_a = 2.2 h^{-1}; F_a = 1; F_g = 1; Q_h = 96 L/h; R_b = 0.6
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration
K_i	IC_{50}/2 assuming competitive inhibition
R	R = ratio of victim AUC in the presence of perpetrators (inhibitors or inducers)

Other definitions:

BCRP = breast cancer resistance protein; C_{max} = maximum observed plasma concentration; DDI = drug-drug interaction; F_a = fraction absorbed; F_g = intestinal availability; $f_{u,b}$ = unbound fraction in blood; I_{max} = maximal plasma concentration of the interacting drug; $I_{max,b}$ = maximal blood concentration of the interacting drug; k_a = absorption rate constant; MATE = multidrug and toxin extrusion; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein; PMDA = Pharmaceuticals and Medical Devices Agency; Q_h = hepatic blood flow rate; q.d. = quaque die (once a day); R_b = blood to plasma ratio

2.6.4.8　考察及び結論

エルダフィチニブの非臨床薬物動態試験は，薬理及び毒性試験に用いた動物における吸収，分布，動物及びヒトにおける代謝及び排泄，並びに CYP 及びトランスポーターを介した薬物相互作用の可能性を評価することを目的として実施した。

エルダフィチニブをマウス，ラット及びイヌに単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態を評価した。静脈内投与したときの V_{ss} は 3 動物種で 2.3～11 L/kg であり，総体液量を上回った。エルダフィチニブの CL_p は大きく，ラット及びイヌでは肝血流量を上回り，マウスでは肝血流量と同程度であった。経口投与したときの T_{max} は，マウスでは 1 時間以内であり，ラット及びイヌではそれぞれ 3.3 及び 3.0～5.5 時間であった。$T_{1/2}$ はマウス及びラットでは 1.1～4.0 時間，イヌでは 3.3～10 時間であった。経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティはマウス及びラットでそれぞれ 12 及び 1.8%であったが，イヌでは 100%超であった。イヌで絶対的バイオアベイラビリティが 100%超であった原因は不明であった。

マウス（雄）を用いた 2 週間反復投与毒性試験，並びにラット及びイヌを用いた最長 3 カ月間の反復投与毒性試験において，エルダフィチニブ（1 日 1 回又は週 2 回経口投与）のトキシコキネティクスを評価した。イヌを用いた 2 週間忍容性試験（隔日投与），並びにラット及びイヌを用いた 1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験（週 2 回投与を 1 カ月間及び 7 日間投与／7 日間休薬を 3

カ月間）では，間欠投与のトキシコキネティクス評価も実施した。全ての動物種において，反復投与したときのエルダフィチニブの曝露量（C_{max} 及び AUC）は，投与レジメンにかかわらず，用量増加に伴い増加し，概して累積が認められた。ラットを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験，並びにイヌを用いた 1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験では雌ラット及び雄イヌで曝露量が高い傾向がみられたものの，個体間変動が大きく，性差は明確ではなかった。ラットを用いた 1 カ月間反復投与毒性試験では顕著な性差は認められなかった。

妊娠ラットに 1 日 1 回反復経口投与したとき，曝露量は用量増加に伴い増加した。妊娠ラットにおける曝露量は，非妊娠ラットと同程度であった。胎児におけるエルダフィチニブの曝露量は母動物と比較して低かった。

SD ラット及び有色 LH ラットにエルダフィチニブ又は ^{14}C-エルダフィチニブをそれぞれ 10 及び 4 mg/kg の用量で単回経口投与し，エルダフィチニブ又は ^{14}C-エルダフィチニブ由来放射能の組織分布を評価した。SD ラットを用いた試験では，エルダフィチニブを投与し，組織内及び血漿中エルダフィチニブ濃度は LC-MS/MS 法を用いて定量した。エルダフィチニブの組織内／血漿中 AUC 比は肺（133）及び肝臓（114）で最も高く，次いで腎臓（30）で高かった。脳内エルダフィチニブ濃度は，投与後 24 時間までの全ての試料採取時点で定量下限（20 ng/g）未満であった。ラットとヒトの血漿タンパク結合率及び分布容積の違いを考慮すると，ラットにおける組織内／血液中濃度比のヒトへの外挿性は限定的であることが考えられた。有色 LH ラットを用いた試験では，^{14}C-エルダフィチニブを投与し，放射能の分布は WBA を用いて定量した。放射能濃度は，多くの組織で投与後 0.5～1 時間で最高濃度に達し，投与後 72 時間までに定量下限（0.01 μg eq/g）付近又は未満となった。放射能の組織内／血液中 AUC 比は，腎髄質外層，盲腸壁，肝臓，ぶどう膜及び小腸壁で 30 を超え，膀胱壁で 6.4，皮膚で 1.9，水晶体で 1.1 であった。白色皮膚と有色皮膚で組織内／血液中 AUC 比は同程度であったことから，エルダフィチニブ関連物質はメラニンに結合しないことが示唆された。

非臨床試験に用いた動物（マウス，ラット及びイヌ）及びヒトの血漿を用いて，^{3}H-エルダフィチニブの血漿タンパク結合率を評価した。評価濃度は動物では 2 濃度（15 及び 750 ng/mL：それぞれ 0.034 及び 1.68 μmol/L）とし，ヒトでは 5 濃度（15～1500 ng/mL：0.034～3.36 μmol/L）とした。マウス，ラット及びイヌの血漿タンパク結合率はエルダフィチニブ濃度に依存せず，非結合型分率はそれぞれ 5.9～11.3，2.2～7.2 及び 13.7%であった。ヒトにおける血漿タンパク結合率は，150 ng/mL（0.336 μmol/L）までエルダフィチニブ濃度に依存しなかった（非結合型分率：0.55～0.56%）が，より高濃度である 750 及び 1500 ng/mL（それぞれ 1.68 及び 3.36 μmol/L）では濃度の上昇とともに非結合型分率は上昇した（それぞれ 0.62 及び 0.74%）。精製ヒト血漿タンパク質を用いた結合試験において，エルダフィチニブは HSA（HSA 濃度を 6.0%としたときの結合率：83.9%）と比較して，AGP（AGP 濃度を 0.2%としたときの結合率：99.5%）と顕著に結合した。動物及びヒトの血液中におけるエルダフィチニブの分布を検討したとき，動物ではヒトと比較して血漿成分に分布する割合が高かった。この結果は，動物の血漿タンパク結合率がヒトと比較して低いという結果と一致するものであった。

マスバランス試験において，ヒトに ^{14}C-エルダフィチニブを単回経口投与したとき，投与放射能の 66.4～69.9%が糞中から回収された。動物（ラット及びイヌ）に ^{3}H-エルダフィチニブを単回経口投与したとき，投与放射能の 75.2～88.7%が糞中から回収された。尿中からは，ヒトでは

投与放射能の 17.8～19.2%が，動物では投与放射能の 2.32～6.30%が回収された。エルダフィチニブの排泄速度は，動物と比較してヒトで遅く，これはヒト及び動物における血漿中エルダフィチニブの $T_{1/2}$（ラット：4.0 時間，イヌ：3.3～10 時間，ヒト：42.4～73.9 時間）に差異が認められたことと一致した。エルダフィチニブは，主に糞中に排泄されたため，胆管カニューレ処置ラットに ^{14}C-エルダフィチニブを単回経口投与する試験を実施した。その結果，投与後 48 時間までに胆汁，糞及び尿中からそれぞれ投与放射能の 47.9，30.6 及び 12.4%が回収された（総回収率：91.0%）。これらのことから，ラットにおけるエルダフィチニブ関連物質の主排泄経路は，胆汁中であることが示された。

エルダフィチニブはヒトよりもラットで顕著に代謝された。尿又は糞中の微量代謝物 M27 及び M28（いずれも投与放射能の 2%未満）を除き，ヒトで認められた全ての代謝物は，エルダフィチニブの安全性評価に用いた少なくとも 1 動物種で認められた。ラット，イヌ及びヒトにおけるエルダフィチニブの主要な代謝経路は，酸化的代謝であった。酸化的代謝物である M6 の下流代謝物（更なる酸化的代謝物及びグルクロン酸抱合体）はヒトよりもラットで顕著に認められた。

第 I 相試験及び ^{14}C-エルダフィチニブを用いたヒトマスバランス試験において，ヒトの血漿中の主要な薬物関連物質はエルダフィチニブであり，薬物関連物質の総曝露量の 10%を超える代謝物は認められなかった。ヒトマスバランス試験では，未変化体が糞中（投与放射能の 14.1～22.6%）及び尿中（投与放射能の 9.84～15.6%）から回収された。M6 の大部分（投与放射能の 23.8～24.3%）は糞中から回収され，尿中には投与放射能の 1.93～2.3%が回収された。M8 は糞及び尿中で認められた微量代謝物であり（それぞれ投与放射能の 2.94～3.51 及び 1.07～1.17%），M11，M27 及び M28 も糞又は尿中に認められた微量代謝物であった（いずれも投与放射能の 2.5%未満）。マスバランス試験では，CYP2D6 の EM 及び PM の被験者間で代謝物の種類及び量に差は認められなかった。

動物の血漿中の主要な薬物関連物質は，ラットでは未変化体及び M2 であり，イヌでは未変化体，M2 及び M11 であった。ラット及びイヌの糞中の主要な成分は，未変化体及び M6 であった。ラット及びイヌの尿中には，未変化体及び M2 がわずか（いずれも投与放射能の 1.5%未満）に認められた。なお，ラット及びイヌの血漿及び糞中で認められた M4 及び M7 は，試料処理溶媒として DMSO を用いた場合にのみ認められた。その後の検討により，M4 及び M7 は，DMSO 中に含まれるホルムアルデヒドと M6 が反応することで生成することが示された。その後に実施した代謝物プロファイルの検討（胆管カニューレ処置ラットを用いた試験【2.6.5.10C】及びヒトマスバランス試験【2.6.5.10D】）では，試料処理溶媒をメタノール／酢酸に変更したことにより，M4 及び M7 は認められなかった。

ラットの胆汁中排泄試験において，^{14}C-エルダフィチニブを投与したときの糞及び胆汁中代謝物プロファイルを定量的に検討した。また，無処置ラットの糞中代謝物も定量した。胆管カニューレ処置ラットの胆汁中において認められた 14 種類の代謝物の大部分は，グルクロン酸抱合体であった。胆汁中の主要な代謝物は M2（投与放射能の 14.18%），M13（投与放射能の 4.08%）及び M15（投与放射能の 9.24%）であった。胆汁中のグルクロン酸抱合体を β-グルクロニダーゼにより加水分解したところ，M6，M20 及び M26 が認められたことから，無処置ラットの糞中に回収された M6，M20 及び M26 は，それぞれ M2，M13 及び M15 のアグリコンであると考えられ

た。M6 は無処置ラットの糞中で最も多い代謝物であり，投与放射能の 46.2%を占めた。以上から，エルダフィチニブは酸化代謝及びそれに続くグルクロン酸抱合を受けた後に胆汁を介して糞中へ排泄され，それらの代謝物は糞中で脱抱合を受けると考えられた。

ヒトにおいてエルダフィチニブの主要な代謝経路は *O*-脱メチル化（M6）であり，M8 はマイナーな代謝経路であった。M6 及び M8 の生成に関与する代謝酵素を同定するため，ヒトの肝ミクロソーム，肝細胞及び rCYP 発現系を用いて，^{3}H-エルダフィチニブの CYP 代謝試験を実施した。ヒトの肝ミクロソーム及び rCYP 発現系では，ヒトで生成した M6／M8 の比を反映しなかったものの，エルダフィチニブの代謝には CYP2D6，CYP3A4 及び CYP2C9 が関与する可能性が示唆された。

M6 及び M8 の相対比は，ヒトの肝ミクロソームと比較してヒトの肝細胞による代謝が *in vivo* の代謝物プロファイルに近いため，CYP 特異的阻害薬及びヒトの肝細胞を用いた試験により，エルダフィチニブの代謝に関与する CYP 分子種を同定した。固有クリアランスに基づくと，エルダフィチニブの代謝は 1-ABT（非特異的 CYP 阻害薬）存在下で 50%阻害され，これは M6 及び M8 の生成阻害によるものであった。また，エルダフィチニブの代謝は 1-ABT＋チエニル酸（非特異的 CYP 阻害薬＋CYP2C9 阻害薬）存在下で 84%阻害された。スルファフェナゾール（CYP2C9 阻害薬）存在下では，M6 及び M2 の生成はそれぞれ 91 及び 77%阻害され，ケトコナゾール（CYP3A4 阻害薬）存在下では，M8 及び M6 の生成はそれぞれ 73 及び 22%阻害された。一方，ケルセチン又はゲムフィブロジル（いずれも CYP2C8 阻害薬），若しくはパロキセチン又はキニジン（いずれも CYP2D6 阻害薬）の存在下では，エルダフィチニブの代謝は顕著に阻害されなかった。以上の結果に基づき，CYP2C9 及び CYP3A4 がエルダフィチニブの代謝に関与する主要な CYP 分子種であると結論づけられた。

エルダフィチニブの代謝に関与する主要な代謝酵素は，CYP2C9 及び CYP3A4 であるため，フルコナゾール（CYP2C9 及び CYP3A4 阻害薬）又はイトラコナゾール（CYP3A4 及び P-gp 阻害薬）とエルダフィチニブを併用投与する臨床薬物相互作用試験（EDI1007 試験）を実施し，薬物相互作用の可能性を検討した【2.7.2.2.3.1】。その結果，エルダフィチニブの曝露量（AUC）は，フルコナゾールとの併用により 1.48 倍上昇し，イトラコナゾールとの併用により 1.34 倍上昇した。また，エルダフィチニブの曝露量に対する CYP 誘導薬の影響を検討するため，カルバマゼピン（CYP3A4 及び CYP2C9 誘導薬）との臨床薬物相互作用試験（NAP1001 試験）を実施したところ，カルバマゼピンがエルダフィチニブの薬物動態に顕著な影響を及ぼすことが示唆された【2.7.2.2.3.1】。

ヒトの肝細胞を用いて，CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 に対するエルダフィチニブの誘導作用を評価する 2 つの試験を実施した。最初の試験では，エルダフィチニブの濃度範囲を 0.4～15 μmol/L としたところ，10 μmol/L 以上で細胞毒性が認められた。エルダフィチニブは CYP1A2 及び CYP2B6 に対して顕著な誘導作用を示さず，CYP3A4 に対しても 3 例中 2 例のドナー由来の肝細胞で mRNA の誘導作用を示さなかった。しかし，3 例中 1 例において，最低濃度である 0.4 μmol/L から溶媒対照と比較して 2 倍超の CYP3A4 mRNA の増加が認められ，増加の程度は 5 μmol/L まで同程度であったことから，最低濃度（0.4 μmol/L）でほぼ最大の誘導作用が得られた可能性が示唆された。これらの結果から，2 つ目の試験では，エルダフィチニブの濃度範囲を 0.005～3 μmol/L と低く設定して評価した。本試験では，最初の試験と同じドナー由来の肝細胞を

用いた。その結果，最初の試験と同様に，CYP1A2 及び CYP2B6 に対する顕著な誘導作用は認められなかったが，CYP3A4 では 3 例中 1 例において，1 μmol/L 以上で溶媒対照と比較して 2 倍超（3.2～5.5 倍）の mRNA の増加が認められた。エルダフィチニブの E_{max} 及び EC_{50} を算出することはできなかったが，用量反応関係の直線の傾きを陽性対照（リファンピシン）と比較したところ，エルダフィチニブの CYP3A4 誘導作用は弱く，臨床的に重要ではないと考えられた。このことは，臨床薬物相互作用試験（BLC2001 試験）において，エルダフィチニブはミダゾラムの薬物動態に影響しなかったことからも支持される【2.7.2.2.3.2】。

CYP 分子種に対するエルダフィチニブの可逆的阻害作用を 0.021～15 μmol/L の濃度範囲でヒトの肝ミクロソームを用いて検討した。検討した最高濃度における酵素活性の阻害率は CYP2D6 で 25%，その他の CYP 分子種で 4～18%であったことから，IC_{50} 値は算出できなかった。エルダフィチニブは評価した濃度範囲で，いずれの CYP 分子種に対しても明確な阻害を示さなかったが，ワーストケースシナリオとしてエルダフィチニブの K_i を 15 μmol/L（*in vitro* 阻害試験で検討した最高濃度）と仮定し，薬物相互作用に関する本邦の通知で推奨されているベーシックモデル（肝臓における阻害：$R=1+I_{max,u}/K_i$，消化管における阻害：$R=1+I_g/K_i$）を用いて，臨床最高用量における $I_{max,u}$ を 5.1 ng/mL（0.0115 μmol/L：EDI1001 試験の定常状態における非結合型 C_{max}），及び I_g を 9 mg/250mL（80.62 μmol/L：臨床最高用量 9 mg を水 250 mL で服用したときの消化管内薬物濃度）としたときの *in vivo* での薬物相互作用の可能性を評価した。得られた R 値はいずれの CYP 分子種に対してもそれぞれ 1.02 未満及び 11 未満であったことから，エルダフィチニブは CYP の可逆的阻害を介した臨床的に重要な薬物相互作用を起こさないことが示された。

CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A4 に対するエルダフィチニブの TDI 作用を 0.1～100 μmol/L の濃度範囲でヒトの肝ミクロソームを用いて評価した。エルダフィチニブは CYP1A2，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 に対して TDI 作用を示さなかった。しかしながら，エルダフィチニブは CYP3A4（基質：テストステロン）の残存活性を 67.3%阻害したことから，CYP3A4 に対して TDI 作用を示す可能性が示唆された。そのため，ミダゾラム（CYP3A4 基質）に対するエルダフィチニブ及び陽性対照（エリスロマイシン）の k_{inact}/K_I 比を比較することにより，CYP3A4 に対する TDI 作用の程度を評価した。その結果，エルダフィチニブ及びエリスロマイシンの k_{inact}/K_I 比は同程度であったことから，CYP3A4 に対するエルダフィチニブの TDI 作用はエリスロマイシンと同程度であることが示された。一方，臨床薬物相互作用試験（BLC2001 試験）において，エルダフィチニブはミダゾラムの薬物動態に対して臨床的に意味のある影響を及ぼさなかったことから，臨床におけるエルダフィチニブの CYP3A4 に対する TDI 作用は限定的であると考えられた。

Caco-2 細胞におけるエルダフィチニブの A→B 方向への P_{app} を，低い及び高い膜透過性の対照物質（それぞれアテノロール及びレボカバスチン）と比較したところ，エルダフィチニブは中程度～高い膜透過性を有することが示された。エルダフィチニブが P-gp の基質であるかを明らかにするため，P-gp を発現させた LLC-PK1 細胞を用いて，エルダフィチニブの efflux ratio を算出した。その結果，エルダフィチニブの efflux ratio は，0.3 μmol/L 以下では 3 超であり，1 及び 3 μmol/L では 1 に近かったことから，エルダフィチニブは P-gp の基質であり，0.3 μmol/L を超えると P-gp の輸送は飽和することが示唆された。臨床最高用量を投与したとき，ヒトで予想される消化管管腔内の最高濃度（9 mg/250 mL）の 1/10（8.1 μmol/L）は 0.3 μmol/L を超えることか

ら，消化管においてP-gpを介したエルダフィチニブの輸送は飽和している可能性がある。そのため，エルダフィチニブが消化管においてP-gp阻害を介した薬物相互作用を受ける可能性は低いと考えられた。エルダフィチニブが消化管以外のP-gp阻害を介した薬物相互作用を受ける可能性は除外できないものの，エルダフィチニブをイトラコナゾール（CYP3A4及びP-gp阻害薬）と併用投与した臨床薬物相互作用試験では，臨床的に重要な薬物相互作用は認められなかった【2.7.2.2.3.1】。

BCRP，OATP1B1又はOATP1B3を発現させた細胞株におけるエルダフィチニブの輸送は，いずれもその親細胞株と同程度であったこと，並びにこれらのトランスポーターの典型阻害薬（Ko143又はリファンピシン）による影響は認められなかったことから，エルダフィチニブはこれらのトランスポーターの基質ではないことが示された。したがって，エルダフィチニブはこれらのトランスポーター阻害を介した薬物相互作用を受けないと考えられた。

トランスポーターに対するエルダフィチニブの阻害作用は，P-gp，BCRP，OCT1，OCT2，MATE1，MATE2-K，OATP1B1，OATP1B3，OAT1又はOAT3を発現させた細胞株又は反転膜小胞を用いて検討した。エルダフィチニブのP-gp，OCT1，OCT2，MATE1及びMATE2-Kに対するIC_{50}値は0.0434～2.26 μmol/Lであり，エルダフィチニブはこれらのトランスポーターに対する強い阻害薬であることが示された。また，BCRP及びOATP1B1に対するIC_{50}値はそれぞれ14.9及び36.5 μmol/Lであり，これら2種類のトランスポーターに対する阻害作用は弱かった。一方，OATP1B3，OAT1及びOAT3に対する阻害は認められず，IC_{50}値は算出できなかった。薬物相互作用に関する本邦の通知で推奨されているモデルに基づき，臨床最高用量における*in vivo*での薬物相互作用の可能性を評価した。その結果，エルダフィチニブは，OCT2及びP-gp（消化管）以外のトランスポーター阻害を介した臨床的に重要な薬物相互作用を起こさないと考えられた。

エルダフィチニブによるP-gpの阻害を介した薬物相互作用を，PBPKモデルによるシミュレーション及び臨床薬物相互作用試験により評価した【2.7.2.2.3.2】。その結果，エルダフィチニブをジゴキシン（P-gp基質）と併用投与したとき，ジゴキシンのC_{max}は1.45倍に上昇すると予測された。なお，エルダフィチニブを臨床最高用量で経口投与したときに予測される消化管管腔内及び消化管上皮細胞内濃度，並びにP-gpに対するIC_{50}値に基づくと，P-gpに対するエルダフィチニブの阻害が認められる可能性があるのは，投与後5時間までであることが示された。したがって，この薬物相互作用は，エルダフィチニブ及びP-gp基質薬の投与間隔を6時間以上あけることによって回避できると予測された。一方，メトホルミン（OCT2基質）との臨床薬物相互作用試験（BLC2001試験）において，エルダフィチニブはOCT2を介して臨床的に重要な薬物相互作用を起こさないことが示された。

2.6.4.9 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.4.10 参考文献

Klein SM, et al. Production of formaldehyde during metabolism of dimethyl sulfoxide by hydroxyl radical generating systems. Biochemistry. 1981;20:6006-12.

Lim HK, et al. Automated screening with confirmation of mechanism-based inactivation of CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP1A2 in pooled human liver microsomes. Drug Metab Dispos. 2005;33:1211-9.

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

Test Article: JNJ-42756493

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Absorption						
Pharmacokinetics, single dose	Mouse, Swiss SPF (CD-1)	IV/Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	ADME_22464/ ADME_22667/ ADME_24482	4.2.2.2.1
Pharmacokinetics, single dose	Rat, Sprague-Dawley	IV/Oral gavage (20% HP-β-CD) Oral gavage (0.5% Methocel)	No	JRD Beerse, Belgium	ADME_23459	4.2.2.2.2
Pharmacokinetics, single dose	Rat, Sprague-Dawley	IV (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	FK10134	4.2.2.2.3
Pharmacokinetics, single dose	Rat, Nude (Hsd rnu/rnu)	IV (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	FK7512	4.2.2.2.4
Pharmacokinetics, single dose	Dog, Beagle	IV/Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	ADME_22654	4.2.2.2.5
Pharmacokinetics, single dose	Dog, Beagle	IV (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	FK10139	4.2.2.2.6
Pharmacokinetics, single dose	Dog, Beagle	Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	FK7511	4.2.2.2.7
Pharmacokinetics, single dose	Dog, Beagle	Oral gavage, oral capsule (20% HP-β-CD, API in capsule)	No	JRD Beerse, Belgium	FK7455	4.2.2.2.8
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 2-week toxicity study	Mouse, albino Swiss SPF (CD-1)	Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	TOX9565	4.2.3.2.1
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 2-week toxicity study with a single dose phase	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% HP-β-CD, 0.5% HPMC[a])	No	JRD Beerse, Belgium	TOX9501	4.2.3.2.2
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 2-week toxicity study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	TOX9601	4.2.3.2.3

[a] 0.5% HPMC only for the high dose (1000 mg/kg) in the single dose phase

(Continued)

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Absorption (continued)						
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 1-month toxicity study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% HP-β-CD)	Yes	JRD Beerse, Belgium	TOX10080	4.2.3.2.4
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 3-month toxicity study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% HP-β-CD)	Yes	JRD Beerse, Belgium	TOX10846	4.2.3.2.5
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in an embryo-fetal development study	Rat, Sprague-Dawley (pregnant)	Oral gavage (20% HP-β-CD)	Yes	[redacted] France	TOX12329	4.2.3.5.2.2
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 4-day investigative study on soft tissue mineralization	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	TOX9636	4.2.3.7.3.1
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 2-week investigative study on soft tissue mineralization when fed standard or special (low phosphate or vitamin D_3 deficient) diets	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	TOX10177	4.2.3.7.3.2
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 2-week investigative study on soft tissue mineralization when fed special (low phosphate or phosphate-scavenger) diets	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	TOX10178	4.2.3.7.3.3
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 5-day toxicity study with a single dose phase	Dog, Beagle	Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	TOX9500	4.2.3.2.6
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 2-week toxicity study	Dog, Beagle	Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	TOX9571	4.2.3.2.7
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 1-month toxicity study	Dog, Beagle	Oral gavage (20% HP-β-CD)	Yes	JRD Beerse, Belgium	TOX10083	4.2.3.2.8
Pharmacokinetics, repeat-dose: TK in a 3-month toxicity study	Dog, Beagle	Oral gavage (20% HP-β-CD)	Yes	JRD Beerse, Belgium	TOX10849	4.2.3.2.9

(Continued)

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Distribution						
Tissue distribution	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	ADME_22761	4.2.2.3.1
Tissue distribution, whole-body autoradiography	Rat, Lister-Hooded (partially pigmented)	Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	[redacted], UK	FK10843	4.2.2.3.2
Plasma protein binding	Guinea pig	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	ADME_22460-ADME_22786	4.2.2.3.3
Plasma protein binding, blood distribution, and microsomal binding	Whole blood and plasma from mice, rats, dogs, and human	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK10117	4.2.2.3.4
Metabolism and excretion						
In vitro, metabolism	Liver microsomes, 12,000 x *g* liver supernatant fractions and hepatocytes (mouse, nude mouse, rat, nude rat, dog, and human)	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK10111	4.2.2.4.6
In vitro, metabolism	Liver & intestinal microsomes (rat, dog, and human); hepatocytes (dog, human)	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK10105	4.2.2.4.7
In vitro, metabolism	Rat liver 12,000 x *g* supernatant fraction	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK10253	4.2.2.4.8
In vitro, CYP identification	Recombinant human CYPs, human liver microsomes & hepatocytes	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK10116	4.2.2.4.9
In vitro, metabolism and CYP identification	Recombinant human CYPs, human liver microsomes & hepatocytes	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK11143	4.2.2.4.10
In vitro, CYP induction	Human hepatocytes	In vitro	No	JRD Spring House, PA	FK12003	4.2.2.4.11
In vitro, CYP induction	Human hepatocytes	In vitro	No	JRD Spring House, PA	FK13265	4.2.2.4.12
In vitro, CYP inhibition	Human liver microsomes	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	ADME_22183 and ADME_31191	4.2.2.4.13

(Continued)

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Metabolism and excretion (continued)						
In vitro, CYP time-dependent inhibition	Human liver microsomes	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK10109	4.2.2.4.14
In vitro, CYP3A4 time-dependent inhibition	Human liver microsomes	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK11141	4.2.2.4.15
In vivo, metabolism and excretion	Mouse, FVB/NTac (P-gp knockout and wild type)	IV/Oral gavage (20% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	FK12185	4.2.2.4.5
In vivo, metabolism and excretion	Rat, Sprague-Dawley; Dog, Beagle	Oral gavage (10% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	FK10110	4.2.2.4.1
In vivo, metabolism and excretion	Rat, Sprague-Dawley (bile-duct cannulated)	Oral gavage (10% HP-β-CD)	No	JRD Beerse, Belgium	FK11144	4.2.2.4.2
In vivo, metabolism and excretion	Human (male subjects)	Oral (aqueous solution)	No	JRD Beerse, Belgium	FK12055	4.2.2.4.3
In vivo, metabolite identification	Human plasma (male and female subjects; 9 mg dose from phase I clinical trial (42756493EDI1001)	Oral (aqueous solution)	No	JRD Beerse, Belgium	FK10678	4.2.2.4.4
Pharmacokinetic Drug Interactions						
Transepithelial transport	Caco-2 cells and LLC-PK1 cells expressing P-glycoprotein (MDR1 protein)	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	ADME_14455 & ADME_24540 & ADME_24456	4.2.2.6.1
Transporter assay: P-gp	Stably transfected LLC-PK1 cells expressing P-gp (MDR1 protein)	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK11164	4.2.2.6.2
Transporter assay: BCRP	Stably transfected MDCKII cell line expressing BCRP	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK11162	4.2.2.6.3
Transporter assay: OAT1B1 and OATP1B3	Stably transfected HEK293 cell lines expressing OATP1B1 and OATP1B3	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK11163	4.2.2.6.4
Transporter assay: OCT1 and OCT2	Stably transfected CHO cell lines expressing OCT1 or OCT2	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK11156	4.2.2.6.5

(Continued)

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Pharmacokinetic Drug Interactions (continued)						
Transporter assay: OAT1 and OAT3	Stably transfected cell lines expressing OAT1 (CHO cells) or OAT3 (MDCK II cells)	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK11157	4.2.2.6.6
Transporter assay: MATE1 and MATE2-K	Stably transfected MDCK II cell lines expressing MATE1 or MATE2-K	In vitro	No	JRD Beerse, Belgium	FK11158	4.2.2.6.7

API = active pharmaceutical ingredient; BCRP = breast cancer resistance protein; CHO = Chinese hamster ovary; [redacted] CYP = cytochrome P450; GLP = Good Laboratory Practice; HEK293 = human embryonic kidney 293; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; HPMC = hydoxypropyl methylcellulose (Methocel); IV = intravenous; JRD = Janssen Research & Development; LLC-PK = Lilly laboratory cancer porcine kidney; MATE = multidrug and toxin extrusion; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR1 = multidrug resistance 1; NA = not applicable; No. = number; OAT = organic anion transporter; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein; TK = toxicokinetics

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

Please refer to 【CTD 2.6.4.2.1】

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3 A 薬物動態試験：単回投与後の吸収（静脈内）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**ADME_22464/ ADME_22667/ ADME_24482**	**ADME_23459**	**FK10134**			**FK7512[a]**		**ADME_22654**	**FK10139**	
Location in CTD	4.2.2.2.1	4.2.2.2.2	4.2.2.2.3			4.2.2.2.4		4.2.2.2.5	4.2.2.2.6	
Species	Swiss SPF (CD-1) Mouse	Sprague-Dawley Rat	Sprague-Dawley Rat			Nude (Hsd rnu/rnu) Rat		Beagle Dog	Beagle Dog	
Feeding Condition	Fed	Fed	Fed			Fed		Fasted	Fasted	
Sample	Plasma	Plasma	Plasma			Plasma		Plasma	Plasma	
Assay	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS			LC-MS/MS		LC-MS/MS	LC-MS/MS	
Analyte	JNJ-42756493	JNJ-42756493	JNJ-42756493			JNJ-42756493		JNJ-42756493	JNJ-42756493	
Vehicle/Formulation	20% HP-β-CD	20% HP-β-CD	20% HP-β-CD			20% HP-β-CD		20% HP-β-CD	20% HP-β-CD	
Route	IV	IV	IV			IV		IV	IV	
Gender: Number of Animals	M: 3/time point	M: 3	M: 3/group			M: 3/group		M: 3	M: 3/group	
Dose (mg/kg)	**2.5**	**2.5**	**1.25**	**5**	**7.5**	**2.5**	**5**	**1**	**0.625**	**2.5**
Pharmacokinetic Parameters										
C_0 (ng/mL)	1432	434 (33)	681 (267)	1360 (282)	1910 (365)	325 (276)	974 (551)	212 (86)	3790 (3860)	6040 (2210)
AUC_{inf} (ng·h/mL)	487	435 (60)	315 (10.7)	1160 (124)	1810 (7.10)	515 (135)	1193 (36.2)	469 (150)	327 (68.0)	-[g]
AUC_{last} (ng·h/mL)	486	433 (59)	-	-	-	512 (137)	1189 (33.9)	-[f]	277 (68.4)	937 (256)
T_{last} (h)	7	8	-	-	-	14[b]	19[c]	-	7	7
$T_{1/2}$ (h) [range if no mean]	0.95	1.1 (0.1)	1.1 (0.1)	1.1 (0.0)	1.2 (0.0)	2.0[d] (0.7)	3.2[e] (1.5)	[2.3-4.5]	3.2 (0.2)	-[g]
Clearance (L/h/kg)	4.7	5.6 (0.8)	3.97 (0.14)	4.35 (0.44)	4.14 (0.02)	5.05 (1.17)	4.20 (0.13)	2.2 (0.7)	1.98 (0.465)	-[g]
V_{ss} (L/kg)	2.3	6.7 (0.4)	4.87 (0.64)	6.77 (0.48)	7.34 (0.23)	10.80 (4.24)	8.36 (4.67)	11 (6)	7.06 (3.10)	-[g]
V_z (L/kg)	6.4	8.8 (0.7)	6.20 (0.38)	6.88 (0.74)	7.41 (0.15)	13.90 (1.21)	19.58 (8.88)	12 (7)	9.16 (2.62)	-[g]

Note: Mean (SD) values

[a] FK7512 in nude (Hsd rnu/rnu) rats was conducted in support of a pharmacology study.

[b] T_{last} = 9 h in 2 animals, 24 h in 1 animal

[c] T_{last} = 9 h in 1 animal, 24h in 2 animals

[d] $T_{1/2}$ = 2.8 h for the 1 animal with T_{last} = 24 h

[e] $T_{1/2}$ = 3.9 h for the 2 animals with T_{last} = 24 h

[f] AUC_{last} = 318 and 619 ng·h/mL for the 2 animals with T_{last} = 24.5 h, and 405 ng·h/mL for the 1 animal with T_{last} = 7 h

[g] AUC_{inf} values after dosing at 2.5 mg/kg were calculated with >25% extrapolation; therefore, resulting $T_{1/2}$, clearance, and volume of distribution values could not be calculated accurately.

- = not calculated/not applicable; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; AUC_{last} = AUC from time 0 to the last quantifiable time; C_0 = plasma concentration at time 0; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; No. = number; SD = standard deviation; $T_{1/2}$ = half-life; T_{last} = last quantifiable time; V_{SS} = volume of distribution at steady state; V_z = volume of distribution based on terminal phase

2.6.5.3 B 薬物動態試験：単回投与後の吸収（経口）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**ADME_22464/ ADME_22667/ ADME_24482**			**ADME_23459**		**ADME_22654**	**FK7511**			**FK7455**	
Location in CTD	4.2.2.2.1			4.2.2.2.2		4.2.2.2.5	4.2.2.2.7			4.2.2.2.8	
Species	Swiss SPF (CD-1) Mouse			Sprague-Dawley Rat		Beagle Dog	Beagle Dog			Beagle Dog	
Feeding Condition	Fed			Fed		Fasted	Fasted			Fed	
Sample	Plasma			Plasma		Plasma	Plasma			Plasma	
Assay	LC-MS/MS			LC-MS/MS		LC-MS/MS	LC-MS/MS			LC-MS/MS	
Analyte	JNJ-42756493			JNJ-42756493		JNJ-42756493	JNJ-42756493			JNJ-42756493	
Vehicle/Formulation	20% HP-β-CD			20% HP-β-CD	0.5% methocel	20% HP-β-CD	20% HP-β-CD			20% HP-β-CD	API in capsule
Route	Oral gavage			Oral gavage	Oral gavage	Oral gavage	Oral gavage			Oral gavage	Oral capsule
Gender: Number of Animals	M: 3/time point/group			M: 3	M: 3	M: 3	M: 4	M: 4	M: 2[d]	M: 4	M: 4
Dose (mg/kg)	**3**	**6.25**	**10**	**10**	**10**	**5**	**0.5**	**2.5**	**2.5**	**5**	**5**
Pharmacokinetic Parameters											
C_{max} (ng/mL)	4.99 (2.02)	16.6 (2.4)	202 (40)	5.26 (1.44)	6.61 (3.30)	309 (83)	1.68 (0.49)	64.6 (42.4)	30	208 (82.2)	243 (72.8)
T_{max} (h)	0.5	0.5	1.0	-	3.3 (1.2)	3.3 (1.2)	3.50 (1.00)	4.75 (1.50)	5.5	3.50 (1.00)	3.0 (1.15)
AUC_{inf} (ng·h/mL)	6.09[a]	29.7[a]	229	60.2 (25.9)	50.4 (10.4)	5219 (535)[a]	-[c]	1037 (732)	425	3693 (1673)	4069 (1522)
AUC_{last} (ng·h/mL)	4.36	24.5	218	30.7 (3.3)	35.1 (14.7)	4114 (797)	7.91 (1.70)	845 (571)[e]	370[f]	3637 (1663)[g]	4034 (1516)[h]
T_{last} (h)	2	7	7	8	8	24.5	7	24	24	54 (12)	60 (13.86)
$T_{1/2}$ (h)	1.1	3.1	1.9	-	4.0 (2.4)	10 (4)	3.3 (0.3)	8.3 (1.6)	7.0	7.6 (2.2)	7.4 (1.4)
Bioavailability (%)	1.1[j]	2.3[j]	12[j]	1.8[b]	1.9[b]	>100[k]	-	-	-	100[i,j]	110[i,j]

Notes: (1) Mean (SD) values. (2) Single dose phase data are presented in 0B for TOX9501, in 0G for TOX9636 and in 0J for TOX9500.

[a] AUC_{inf} >120% of AUC_{last}

[b] Calculated with AUC_{last}.

[c] AUC_{inf} value was not calculated because there was >25% extrapolation.

[d] Data for dogs #6 and #7; excluded data for 2 dogs that suffered from diarrhea.

[e] $AUC_{0\text{-}7h}$ = 327 (240) ng·h/mL

[f] $AUC_{0\text{-}7h}$ = 126 ng·h/mL

[g] $AUC_{0\text{-}24h}$ = 3041 (1276) ng·h/mL, $AUC_{0\text{-}48h}$ = 3613 (1624) ng·h/mL

[h] $AUC_{0\text{-}24h}$ = 3405 (1183) ng·h/mL, $AUC_{0\text{-}48h}$ = 3997 (1485) ng·h/mL

[i] The value represents the relative bioavailability compared to the bioavailability with 20% HP-β-CD.

[j] Calculated with AUC_{inf}.

[k] Calculated with AUC_{last} or AUC_{inf}.

- = not calculated/not applicable; API = active pharmaceutical ingredient; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; AUC_{last} = AUC from time 0 to the last quantifiable time; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; HPMC = hydroxypropyl methylcellulose; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; No. = number; SD = standard deviation; $T_{1/2}$ = half-life; T_{last} = last quantifiable time; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

2.6.5.4 A 薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：マウス 2 週間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX9565**			
Location in CTD		4.2.3.2.1			
Species		Albino Swiss SPF (CD-1) Mouse			
Feeding Condition		Fed			
Sample		Plasma			
Assay		LC-MS/MS			
Analyte		JNJ-42756493			
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD			
Route		Oral gavage			
Gender: Number of Animals		M: 18[a]	M: 18[a]	M: 18[a]	M: 18[a]
Dose (mg/kg) [total dose]		**12.5 [25]**	**25 [50]**	**50 [100]**	**100**
Dose Regimen		Twice daily[b]			Once daily
Pharmacokinetic Parameters					
C_{max} 1 / 2 (ng/mL)[c]	**Day 0**	83.9 / 410	283 / 1720	1947 / 3787	5280 / -
	Day 13	320 /518	658 / 2133	3907 /2403	6433 / -
T_{max} 1 / 2 (h)[c]	**Day 0**	1 / 7	1 / 7	1 / 7	1 / -
	Day 13	2 / 7	1 / 7	1 / 7	1 / -
AUC_{inf} (ng·h/mL)[d]	**Day 0**	1369	5015	13849	15075
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)[d]	**Day 0**	1368	5014	13846	15072
	Day 13	2216	6817	18196	22005

Note: First day of dosing designated as Day 0 (single dose).

[a] Blood samples were collected from 18 mice, with 3 mice per sampling time point.

[b] 6-h interval between doses. On Days 0 and 13, blood was collected at the 6-h time point prior to the second dose administration.

[c] Following first and second twice daily dose

[d] Total exposure could not be calculated adequately because of limited time points after the second daily dose and/or the increasing plasma levels between 6 h and 7 h followed by a 24-h level which was below the limit of quantification. An estimate of the total exposure was calculated with 24-h plasma levels equated to the lower limit of quantification (0.400 or 1.00 ng/mL), leading to AUC_{inf} and $AUC_{0\text{-}24h}$ values which were most likely somewhat overestimated.

- = not applicable; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; No. = number; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4 B 薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：ラット２週間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX9501**					
Location in CTD		4.2.3.2.2					
Species		Sprague-Dawley Rat					
Feeding Condition		Fed					
Sample		Plasma					
Assay		LC-MS/MS					
Analyte		JNJ-42756493					
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD			0.5% HPMC	20% HP-β-CD	
Route		Oral gavage			Oral gavage	Oral gavage	
Gender: Number of Animals		M: 6	M: 6	M: 6	M: 1	M: 6	M: 1
Dose (mg/kg)		**50**	**100**	**200**	**1000**[a]	**50**	**100**
		single dose phase[a]				repeat dose phase[a]	
						Day 21	**Day 14**
Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)							
C_{max} (ng/mL)	**single dose**	375 (154)	853 (330)	1077 (498)	5777	-	-
	multiple doses	-	-	-	-	1972 (1102)	19300
T_{max} (h)	**single dose**	2.33 (0.82)	6.0 (1.55)	7.0 (0.00)	24.0	-	-
	multiple doses	-	-	-	-	3.33 (1.03)	4.0
AUC_{inf} (ng·h/mL)	**single dose**	3677 (280)[b]	7514 (2650)	12533 (4567)	-[c]	-	-
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	**single dose**	2381 (1433)	7465 (2630)	11382 (4392)	95036	-	-
	multiple doses	-	-	-	-	15020 (8313)	199976
$T_{1/2}$ (h)	**single dose**	2.1 (0.1)[b]	2.7 (0.4)	6.0 (1.5)	-[c]	-	-
	multiple doses	-	-	-	-	2.1 (0.1)	7.4

Note: First day of dosing designated as Day 0 (single dose).

[a] This study included a single-dose phase and a repeat-dose phase. In the single-dose phase, 5 days after a 100 mg/kg dose, males were administered a single 1000 mg/kg dose. In the 14-day repeat-dose phase, samples were not collected after a single dose, and the 100 mg/kg dose group was terminated due to early mortality and clinical signs of moribund condition.

[b] N = 3; excluded animals with AUC_{inf} values calculated with >25% extrapolation.

[c] Not calculated as terminal phase plasma concentrations increased.

- = not calculated/not applicable; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; HPMC = hydroxypropyl methylcellulose; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; N = number of animals; No. = number; SD = standard deviation; $T_{1/2}$ = half-life; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4　C　薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：ラット２週間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX9601**	
Location in CTD		4.2.3.2.3	
Species		Sprague-Dawley Rat	
Feeding Condition		Fed	
Sample		Plasma	
Assay		LC-MS/MS	
Analyte		JNJ-42756493	
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD	
Route		Oral gavage	
Gender: Number of Animals		M: 3	M: 3
Dose (mg/kg once daily)		**10**	**30**
Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)			
C_{max} (ng/mL)	**Day 0**	15.3 (6.08)	133 (18.7)
	Day 13	49.5 (13.8)	395 (234)
T_{max} (h)	**Day 0**	2.00 (0.00)	2.00 (0.00)
	Day 13	2.00 (0.00)	2.00 (0.00)
AUC_{inf} (ng·h/mL)	**Day 0**	69.5 (17.9)	558 (-)[a]
AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	**Day 0**	69.4 (18.0)	557 (-)[a]
	Day 13	215 (66.6)	2270 (1207)
$T_{1/2}$ (h)	**Day 0**	2.2 (0.4)	2.0 (-)[a]
	Day 13	2.3 (0.5)	3.3 (1.4)

Note: First day of dosing designated as Day 0 (single dose).

[a] N = 2; excludes values for 1 animal with Day 0 AUC values calculated with >25% extrapolation.

- = not calculated; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; AUC_{t1-t2} = AUC from time t_1 to t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; N = number of animals; No. = number; SD = standard deviation; $T_{1/2}$ = half-life; T_{last} = last quantifiable time; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4 D 薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：ラット１カ月間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX10080**							
Location in CTD		4.2.3.2.4							
Species		Sprague-Dawley Rat							
Feeding Condition		Fed							
Sample		Plasma							
Assay		LC-MS/MS							
Analyte		JNJ-42756493							
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD							
Route		Oral gavage							
Gender: Number of Animals		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Dose (mg/kg)		**4**	**4**	**8**	**8**	**16**	**16**	**32**	**32**
Dose Regimen		once daily						twice weekly	
Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)									
C_{max} (ng/mL)	**Day 0**	2.65 (0.45)	3.11 (0.11)	12.1 (2.77)	10.1 (1.38)	30.3 (8.45)	36.4 (14.8)	257 (136)	455 (76.0)
	Day 28	3.70 (1.17)	6.29 (1.67)	33.1 (9.06)	46.5 (16.8)	103 (9.79)	201 (37.2)	254 (87.3)	608 (221)
T_{max} (h)	**Day 0**	1.00 (0.00)	0.83 (0.29)	1.67 (0.58)	1.67 (0.58)	2.00 (0.00)	2.00 (0.00)	2.67 (1.15)	2.00 (0.00)
	Day 28	1.67 (0.58)	1.00 (0.00)	2.00 (0.00)	1.00 (0.00)	2.67 (1.15)	2.00 (0.00)	2.67 (1.15)	2.00 (0.00)
AUC_{inf} (ng·h/mL)	**Day 0**	12.6 (-)[a]	13.0 (1.98)	51.4 (9.49)	45.3 (1.79)	182 (-)[c]	185 (-)[a]	1459 (-)[a]	1996 (368)
$AUC_{0\text{-}7h}$ (ng·h/mL)	**Day 0**	10.4 (1.68)	10.6 (1.88)[b]	46.0 (9.32)	38.8 (2.55)	139 (28.1)	136 (42.8)	1056 (385)	1758 (354)
	Day 28	14.0 (3.86)[b]	17.4 (5.58)[b]	105 (34.7)	125 (25.7)	472 (18.7)	611 (122)	-	2230 (771)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	**Day 28**	16.9 (4.56)	18.7 (5.34)	113 (40.6)	128 (25.0)	573 (-)[a]	632 (120)	1639 (242)	2489 (925)

Notes: (1) The twice weekly dosed group was dosed every Tuesday and Friday. (2) First day of dosing was designated as Day 0 (single dose) for both once daily and twice weekly administration.

[a] N = 2; value calculated with >25% extrapolation for 1 animal was excluded.

[b] $AUC_{0\text{-}6h}$

[c] N = 1; values calculated with >25% extrapolation for 2 animals were excluded.

- = not calculated/not applicable; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; N = number of animals; No. = number; SD = standard deviation; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4 E 薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：ラット3カ月間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX10846**							
Location in CTD		4.2.3.2.5							
Species		Sprague-Dawley Rat							
Feeding Condition		Fed							
Sample		Plasma							
Assay		LC-MS/MS							
Analyte		JNJ-42756493							
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD							
Route		Oral gavage							
Gender: Number of Animals		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Dose (mg/kg)		**4**	**4**	**8**	**8**	**16**	**16**	**32**	**32**
Dose Regimen		once daily				intermittent (7 days on/7 days off)			
Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)									
C_{max} (ng/mL)	**Day 6**	2.64 (0.03)	6.43 (4.18)	6.40 (0.77)	31.9 (13.2)	28.0 (5.91)	257 (212)	524 (537)	886 (568)
	Day 90	6.98 (1.60)	13.4 (9.31)	26.2[c] (-)	59.7 (23.9)	88.5 (28.7)	462 (209)	360[c] (-)	929 (1070)
T_{max} (h) (median)	**Day 6**	0.500	2.00	1.00	1.00	2.00	1.00	2.00	2.00
	Day 90	1.00	1.00	2.00[c]	1.00	2.00	1.00	2.00[c]	1.00
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	**Day 6**	10.1[a,b] (-)	29.6[b,c] (-)	29.6[a,b] (-)	94.3[c,d] (-)	105[a,b] (-)	936 (842)	5580[a,b] (-)	4170 (3000)
	Day 90	26.3[b,c] (-)	45.2 (26.4)	99.8[c] (-)	231[b,c] (-)	327[b,c] (-)	1780 (988)	1910[c] (-)	10000[c,d] (-)
Additional Information		High inter-animal variability in F across all dose groups and in M at 32 mg/kg/day dosed intermittently; the observed differences in exposure on repeat dosing should be interpreted with caution and a gender-related difference in exposure could not be concluded.							

Notes: (1) First day of dosing was designated as Day 0 (single dose). (2) Samples were taken only on Days 6 and 90; therefore, AUC_{inf} was not determined.

[a] N = 1

[b] Not reported for the other animal(s) because extrapolation of AUC_{inf} was >20% of the total area and/or the coefficient of determination of the elimination phase was <0.800.

[c] N = 2

[d] Less than 3 quantifiable concentrations for the third animal

- = not calculated; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; AUC_{last} = AUC from time 0 to the last quantifiable time; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; N = number of animals; No. = number; SD = standard deviation; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4 F 薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：ラット胚・胎児発生）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX12329**		
Location in CTD		4.2.3.5.2.2		
Species		Sprague-Dawley Rat, pregnant		
Feeding Condition		Fed		
Sample		Plasma		
Assay		LC-MS/MS		
Analyte		JNJ-42756493		
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD		
Route		Oral gavage		
Gender: Number of Animals		F: 6	F: 6	F: 6
Dose (mg/kg once daily)		**1**	**4**	**8**
Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)				
C_{max} (ng/mL)[a]	**GD 6**	0.679 (0.266)[b]	4.93 (2.06)[b]	12.7 (3.38)[b]
	GD 17	0.728 (0.232)[b]	10.0 (3.44)[b]	38.8 (13.9)[b]
T_{max} (h)[a]	**GD 6**	1	1	1
	GD 17	1	1	1
$AUC_{0\text{-}7h}$ (ng·h/mL)	**GD 6**	-[c]	14.4	47.1
	GD 17	-[c]	24.1	105
$T_{1/2}$ (h)	**GD 6**	-	2.48	-
	GD 17	-	2.45	-
Additional Information		• Plasma concentrations were quantifiable up to 2 h for 1 mg/kg/day animals and up to 7 h for 4 and 8 mg/kg/day animals. • Plasma concentrations of JNJ-42756493 1 and 2 h postdose on GD 17 were lower in fetuses than in dams. Fetus/dam ratio was 0.04 at 8 mg/kg 1 h postdose (1.34/32.2 ng/mL), 0.11 at 4 mg/kg (0.545/5.17 ng/mL) and 0.07 at 8 mg/kg 2 h postdose (2.63/38.2 ng/mL). Conversely, dam/fetus ratios were 24 and 14.5 at 1 h and 2 h after 8 mg/kg, and 9.5 at 2 h after 4 mg/kg/day.		

Notes: Animals (6/group) were dosed on GD 6 (single dose) to GD 17. Plasma samples collected from 3 F/group/time point.

[a] Due to limited plasma concentrations available for the 1 mg/kg/day group, no full toxicokinetic evaluation was performed. T_{max} and C_{max} values were assessed directly from measured plasma concentrations.

[b] N = 3, values for 1-hour time point

[c] Not calculated due to the limited plasma concentrations available.

- = not applicable/not reported; AUC = area under the plasma concentration-time curve; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GD = gestation day; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; N = number of animals; No. = number; SD = standard deviation; $T_{1/2}$ = half-life; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4　G　薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：ラット 4 日間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX9636**			
Location in CTD		4.2.3.7.3.1			
Species		Sprague-Dawley Rat			
Feeding Condition		Fed			
Sample		Plasma			
Assay		LC-MS/MS			
Analyte		JNJ-42756493			
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD			
Route		Oral gavage			
Gender: Number of Animals		M: 3 main study	M: 6 main study	M: 6 main study	M: 3 toxicokinetic
Dose (mg/kg once daily)		**50**	**100**	**100**	**100**
		single dose phase		repeat dose phase	
Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)					
C_{max} (ng/mL)	**Day 0**	484 (162)	800 (559)	837 (333)	1129 (544)
	Day 1	-	-	1184 (279)	-
	Day 2	-	-	3683 (2048)	4177 (1401)
	Day 3	-	-	14385 (3036)	-
T_{max} (h)	**Day 0**	3.50 (0.00)	2.83 (1.44)	9.33 (7.28)	6.00 (1.73)
	Day 1	-	-	4.00 (0.00)	-
	Day 2	-	-	6.50 (122)	12.67 (9.81)
	Day 3	-	-	5.50 (1.64)	-
$AUC_{0\text{-}4h}$ (ng·h/mL)	**Day 0**	1351 (324)	2219 (1516)	-	-
AUC_{inf} (ng·h/mL)	**Day 0**	-	-	7495 (1216)[a]	8891 (-)[b]
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	**Day 0**	-	-	7470 (1322)	16427 (13691)
	Day 1	-	-	8161 (1774)	-
	Day 2	-	-	54961 (37900)	76238 (32610)
	Day 3	-	-	229999 (104142)	-
$T_{1/2}$ (h)	**Day 0**	1.8 (0.9)	7.3 (7.1)[c]	3.6 (2.1)[a]	9.4 (10.6)
	Day 1	-	-	3.0 (0.6)	-
	Day 2	-	-	23.1 (30.8)	36.5 (-)[b]
	Day 3	-	-	13.1 (14.2)[d]	-

Notes: (1) This study assessed when oral administration of JNJ-42756493 to male rats induced soft tissue mineralization and investigated whether a relevant biomarker could be identified. (2) Day 0 designates a single dose or the first day of dosing.

[a] N = 5; for the sixth animal, $T_{1/2}$ not calculated because terminal plasma concentrations increased.

[b] N = 2; for the third animal, AUC_{inf} value was calculated with >25% extrapolation and excluded, and $T_{1/2}$ was not calculated because terminal plasma concentrations increased.

[c] N = 4; for other 2 animals, $T_{1/2}$ not calculated because terminal plasma concentrations increased.

[d] N = 4

- = not calculated/not applicable; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; N = number of animals; No. = number; SD = standard deviation; $T_{1/2}$ = half-life; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4　H　薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：ラット２週間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX10177**		
Location in CTD		4.2.3.7.3.2		
Species		Sprague-Dawley Rat		
Feeding Condition		Fed		
Sample		Plasma		
Assay		LC-MS/MS		
Analyte		JNJ-42756493		
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD		
Route		Oral gavage		
Gender: Number of Animals		M: 3	M: 3	M: 1[a]
Dose (mg/kg once daily)		**50**	**50**	**50**
Diet		**standard**	**low phosphate** (0.22%)	**vitamin D_3 deficient**
Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)				
C_{max} (ng/mL)	**Day 13**	2787 (473)	2320 (219)	4310 (-)
T_{max} (h)	**Day 13**	3.67 (2.89)	2.00 (0.00)	2.00 (-)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	**Day 13**	18119 (4408)	16878 (938)	40329 (-)

Note: Because the development of soft tissue mineralization in the repeat-dose toxicity studies with JNJ-42756493 (Mod2.6.6) was considered directly related to increases in serum phosphate and 1,25-dihydroxyvitamin D_3, this study investigated the effect of specific diets to reduce the dietary intake of phosphate and/or vitamin D_3 on the soft tissue mineralization in rats administered JNJ-42756493 for 2 weeks (Days 0 to 13).

[a] Two animals died during the study (Days 4 and 13), possibly related to high exposures.

- = not calculated; AUC = area under the plasma concentration-time curve; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; No. = number; SD = standard deviation; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4 I 薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：ラット 2 週間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX10178**		
Location in CTD		4.2.3.7.3.3		
Species		Sprague-Dawley Rat		
Feeding Condition		Fed		
Sample		Plasma		
Assay		LC-MS/MS		
Analyte		JNJ-42756493		
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD		
Route		Oral gavage		
Gender: Number of Animals		M: 3	M: 3	M: 3
Dose (mg/kg once daily)		**30**	**30**	**50**
Diet		**low phosphate** (0.22%)	**phosphate-scavenger** (3% sevelamer)	**phosphate-scavenger** (3% sevelamer)
Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)				
C_{max} (ng/mL)	**Day 13**	382 (144)	1019 (802)	1341 (455)
T_{max} (h)	**Day 13**	2.00 (0.00)	3.67 (2.89)	2.00 (0.00)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	**Day 13**	2190 (-)[a]	8451 (-)[a]	8787 (3996)

Note: Because of the excessive toxicity and mortality in the first diet study with 50 mg/kg/day JNJ-42756493 administered for 2 weeks (TOX10177), this study investigated 2-week (Days 0 to 13) oral administration of 30 mg/kg/day JNJ-42756493 in animals fed a low phosphate (0.22%) diet, and 30 or 50 mg/kg/day JNJ-42756493 in animals fed a phosphate-scavenger diet (supplemented with 3% sevelamer, a gastrointestinal phosphate binder), compared to a vehicle group fed a standard diet.

[a] N = 2

- = not calculated; AUC = area under the plasma concentration-time curve; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; N = number of animals; No. = number; SD = standard deviation; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4 J 薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：イヌ 5 日間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**TOX9500**									
Location in CTD	4.2.3.2.6									
Species	Beagle Dog									
Feeding Condition	Fed									
Sample	Plasma									
Assay	LC-MS/MS									
Analyte	JNJ-42756493									
Vehicle/Formulation	20% HP-β-CD									
Route	Oral gavage									
Gender: Number of Animals	M: 2			F: 2			M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Dose (mg/kg once daily)	**5**	**15**	**45**	**5**	**15**	**45**	**5**	**5**	**15**	**15**
	single dose phase						repeat dose phase[c]			
Pharmacokinetic Parameters, Mean										
C_{max} (ng/mL)	330	834[b]	2035[b]	229	633[b]	1985[b]	-	-	-	-
T_{max} (h)	2.00	4.50	2.00	2.00	3.00	1.00	-	-	-	-
AUC_{inf} (ng·h/mL)	4170	17735[b]	39142[b]	2932	16516[a]	43641[a,b]	-	-	-	-
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	3791	12539[b]	27216[b]	2704	9034[b]	23205[b]	-	-	-	-
$T_{1/2}$ (h)	4.9	11.9	6.8	4.5	45.5[a]	5.6[a]	-	-	-	-
Additional Information	Mean trough levels after 5 days of repeated dosing in male and female dogs (784 and 320 ng/mL at 5 mg/kg/day, and 2755 and 2380 ng/mL at 15 mg/kg/day, respectively) were at least 8 times higher than after a single dose.									

[a] N = 1. Not calculated for the other animal because terminal plasma concentrations increased.
[b] Vomiting occurred before 0.5 h postdose for 1 M and 1 F given 15 mg/kg and all dogs given 45 mg/kg, reducing the C_{max} and AUC values at 15 mg/kg based on individual values and likely reducing these at 45 mg/kg.
[c] The planned 2-week repeat dose phase was stopped after 5 doses due to severe clinical signs (TOX9571), and toxicokinetic evaluations were not conducted.

- = not applicable; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; No. = number; $T_{1/2}$ = half-life; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4　K　薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：イヌ２週間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX9571**			
Location in CTD		4.2.3.2.7			
Species		Beagle Dog			
Feeding Condition		Fed			
Sample		Plasma			
Assay		LC-MS/MS			
Analyte		JNJ-42756493			
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD			
Route		Oral gavage			
Gender: Number of Animals		M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Dose (mg/kg)		**1**	**1**	**5**	**5**
Dose Regimen		once daily		every other day	
Pharmacokinetic Parameters, Mean					
C_{max} (ng/mL)	**Day 0**	23.8	7.87	338	333
	Day 10	52.6	17.8	469[a]	561[a]
T_{max} (h)	**Day 0**	2.00	2.00	3.00	2.00
	Day 10	1.00	1.50	1.00[a]	1.00[a]
AUC_{inf} (ng·h/mL)	**Day 0**	146	33.2	3846	4491
	Day 10	-	-	-	-
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	**Day 0**	144	-	-	-
	Day 10	337	83.5	4956[a]	8850[a]

Note: Day 0 is the first day of dosing (single dose).

[a] N = 1; 1 M & 1 F in the 5 mg/kg group were euthanized on Day 8 due to moribund condition.

- = not calculated/not applicable; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; N = number of animals; No. = number; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4 L 薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：イヌ１カ月間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX10083**							
Location in CTD		4.2.3.2.8							
Species		Beagle Dog							
Feeding Condition		Fed							
Sample		Plasma							
Assay		LC-MS/MS							
Analyte		JNJ-42756493							
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD							
Route		Oral gavage							
Gender: Number of Animals		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Dose (mg/kg)		**0.25**	**0.25**	**0.5**	**0.5**	**1**	**1**	**2**	**2**
Dose Regimen		once daily						twice weekly	
Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)									
C_{max} (ng/mL)	**Day 0**	2.15 (1.44)	0.44 (0.09)	4.63 (5.96)	1.27 (0.50)	17.3 (12.0)	9.38 (6.27)	53.9 (34.1)	99.2 (61.0)
	Day 26/28	1.88 (0.72)	0.79 (0.01)	7.05 (6.14)	4.68 (0.32)	39.8 (18.5)	38.5 (24.1)	60.4 (10.7)	102 (73.6)
T_{max} (h)	**Day 0**	1.67 (0.58)	1.67 (0.58)	2.00 (0.00)	2.00 (0.00)	2.00 (0.00)	2.00 (0.00)	1.67 (0.58)	1.67 (0.58)
	Day 26/28	2.33 (1.53)	1.67 (0.58)	2.67 (1.15)	2.00 (0.00)	3.33 (1.15)	2.33 (1.53)	2.00 (0.00)	1.67 (0.58)
AUC_{inf} (ng·h/mL)	**Day 0**	13.6 (-)[a,b]	-[b]	35.8 (-)[a,b]	5.32 (-)[a,b]	102 (80.7)	36.3 (26.3)	377 (134)	782 (598)
	Day 26/28	-	-	-	-	-	-	-	-
AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	**Day 0**	-	-	-	-	-	-	367 (139)	757 (573)
	Day 26/28	9.66 (-)[a,b]	-[b]	49.2 (52.4)	17.1 (-)[a,b]	305 (118)	251 (161)	429 (34.9)	823 (668)
Additional Information		High inter-animal variability (more pronounced in M); therefore, a gender-related difference in exposure could not be concluded.							

Note: Day 0 is the first day of dosing (single dose). Day 26 values for the daily dosing regimen. Day 28 values for the twice weekly dosing regimen.

[a] N = 2

[b] Excluded animal(s) with calculated AUC value of more than 25% extrapolation or insufficient plasma concentration data.

- = not calculated/not applicable; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; AUC_{t1-t2} = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; No. = number; SD = standard deviation; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.4 M 薬物動態試験：反復投与後の吸収（経口：イヌ３カ月間）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**TOX10849**					
Location in CTD		4.2.3.2.9					
Species		Beagle Dog					
Feeding Condition		Fed					
Sample		Plasma					
Assay		LC-MS/MS					
Analyte		JNJ-42756493					
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD					
Route		Oral gavage					
Gender: Number of Animals		M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Dose (mg/kg)		**0.5**	**0.5**	**0.75**	**0.75**	**1.5**	**1.5**
Dose Regimen		once daily				intermittent (7 days on/7 days off)	
Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)							
C_{max} (ng/mL)	**Day 6**	18.5 (5.68)	8.45 (5.88)	27.2 (11.0)	20.7 (11.9)	117 (45.2)	71.0 (10.5)
	Day 90	21.6 (5.82)	15.9 (11.3)	38.9 (14.8)	26.1 (16.0)	113 (249)	98.1 (27.8)
T_{max} (h) (median)	**Day 6**	2.00	2.00	2.00	2.00	3.00	3.00
	Day 90	2.00	2.00	3.00	4.00	3.00	2.00
AUC_{last} (ng·h/mL)[a]	**Day 6**	90.2 (46.5)	33.5 (23.8)	218 (123)	145 (84.1)	1130 (517)	682 (111)
	Day 90	169 (102)	91.6 (65.8)	394 (174)	211 (138)	1300 (342)	969 (235)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	**Day 6**	108 (41.4)	40.2 (30.0)	218 (123)	146 (82.1)	1130 (517)	682 (111)
	Day 90	172 (97.0)	92.0 (65.1)	394 (174)	213 (134)	1300 (342)	969 (235)
Additional Information		High inter-animal variability (generally greater in F); therefore, a gender-related difference in exposure could not be concluded.					

Note: Day 0 is the first day of dosing (single dose).

[a] Time of the last quantifiable was as follows: 0.5 mg/kg/day once daily - 7 h in all profiles except 24 h on Day 6 for 1 M (#22) and on Day 90 for 3 of 4 M (all except #23) and 3 of 4 F (all except #121); 0.75 mg/kg/day once daily - 24 h in all profiles except 7 h on Days 6 and 90 for 1 F (#143); 1.5 mg/kg/day intermittent (7 days on/7 days off) - 24 h.

AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{last} = AUC from time 0 to the last quantifiable time; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; No. = number; SD = standard deviation; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.5 薬物動態試験：組織分布

2.6.5.5 A 薬物動態試験：組織分布（ラット）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**ADME_22761**					
Location in CTD	4.2.2.3.1					
Species	Sprague-Dawley rat					
Gender: Number of Animals	M: 3/time point					
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	20% HP-β-CD					
Route	Oral gavage					
Duration of Dosing	Once					
Dose (mg/kg)	10					
Analyte	JNJ-42756493					
Assay	LC-MS/MS					
	Tissue Concentration (ng/g or ng/mL [plasma]), Mean (SD)					
	Sampling Time					
Tissue/Organ	0.5 h	1 h	2 h	4 h	7 h	24 h
Plasma	4.42 (2.52)	4.75 (0.76)	4.54 (1.08)	2.88 (0.71)	2.02[a]	BLQ[b]
Kidney	75.0 (22.5)	101 (34)	163 (91)	87.0 (28.3)	74.9 (37.5)	10.0
Liver	633 (274)	658 (426)	632 (161)	260 (69)	153 (58)	10.0
Lung	325 (96)	394 (135)	559 (203)	480 (185)	337 (198)	20.0
Heart	47.4 (26.1)	63.7 (10.8)	75.9 (29.1)	29.1 (7.1)	30.2 (12.5)	BLQ[b]
Muscle	18.1 (9.7)	22.7 (7.0)	32.1 (13.3)	27.1 (10.8)	11.2[a]	BLQ[b]
Skin	BLQ[b]	22.1 (-)[c]	28.5 (7.2)	18.9 (3.9)	15.9 (3.9)	BLQ[b]
Eye	16.3 (-)[c]	-	19.2 (3.4)	18.8 (-)[c]	-	BLQ[b]

Pharmacokinetic Parameters, Mean (SD)	**Plasma**	**Kidney**	**Liver**	**Lung**	**Heart**	**Muscle**	**Skin**	**Eye**
C_{max} (ng/mL or ng/g)	4.75 (0.76)	163 (91)	658 (426)	559 (203)	75.9 (29.1)	32.1 (13.3)	28.5 (7.2)	19.2[e]
T_{max} (h)	1.0	2.0	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
$AUC_{0\text{-}7h}$ (ng·h/mL or ng·h/g)	22.5	679	2569	2987	296	155	135	-
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL or ng·h/g)	-	1227	3460	4895	-	-	-	-
AUC_{inf} (ng·h/mL or ng·h/g)	35.4[f]	1317	3522	5019	475[f]	207[f]	277[f]	-
$T_{1/2}$ (h)	4.4	6.2	4.3	4.3	4.1	3.2	6.2	-
(Time interval used for calculation, h)	2-7	4-24	4-24	4-24	2-7	2-7	2-7	-
Tissue/Plasma ratio[d]	-	30	114	133	13	6.9	6.0	-

Additional Information: PK parameters could not be determined for epididymal fat or brain. Brain levels were BLQ (<20.0 ng/g) at all sampling time points. Epididymal fat levels were low (21.6 to 41.1 ng/g) between 0.5 and 4 hours postdose, but not enough values were reported to obtain a mean PK profile.

(Continued)

2.6.5.5　A　薬物動態試験：組織分布（ラット）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**ADME_22761**
Location in CTD	4.2.2.3.1

[a] median value
[b] BLQ (<2.00 ng/mL for plasma; <10.0 ng/g for muscle, heart, kidney and liver; <20.0 ng/g for lung; and ranged between 9.33 and 34.3 ng/g for skin and eye)
[c] N = 2
[d] Ratio calculated with $AUC_{0\text{-}7h}$ values
[e] Maximum level observed; C_{max} not calculated due to insufficient data.
[f] AUC_{ext} >20%

- = not determined; AUC = area under the plasma or tissue concentration-time curve; AUC_{ext} = AUC extrapolated from the time corresponding to the last quantifiable concentration to infinity expressed as a percentage of AUC_{inf}; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; $AUC_{t1\text{-}t2}$ = AUC from time t_1 to time t_2; BLQ = below the lower limit of quantification; C_{max} = maximum plasma or tissue concentration; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; N = number of animals; No. = number; SD = standard deviation; $T_{1/2}$ = half-life; T_{max} = time to reach the C_{max}

2.6.5.5　B　薬物動態試験：組織分布（有色ラット）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK10843**										
Location in CTD		4.2.2.3.2										
Species		Lister-Hooded (partially pigmented) rat										
Gender: Number of Animals		M: 1/time point										
Feeding Condition		Fed										
Vehicle/Formulation		20% HP-β-CD in demineralized water										
Route		Oral gavage										
Dose (mg/kg)		4										
Radionuclide		[^{14}C]JNJ-42756493										
Specific Activity		2.30 GBq/mmol; 20.70 MBq/mL										
Analytical Methods		Whole body autoradiography (liquid scintillation counting for blood/plasma; radioluminography for tissue)										
		Radioactivity Concentration (µg eq/g)					**Pharmacokinetic Parameters**					
		Sampling Time					C_{max}	T_{max}	$AUC_{0\text{-}96h}$	AUC_{inf}	$T_{½}$	Tissue:Blood
		0.5 h	1 h	4 h	24 h	72 h	(µg eq/g)	(h)	(µg eq·h/g)	(µg eq·h/g)	(h)	Ratio [c]
Tissue Type	**Tissue/Organ**											
Circulatory	Aorta	0.245	0.091	0.104	BLQ	BLQ	0.245	0.5	1.48	-[a]	-	1.7
	Plasma	0.259	0.097	0.037	0.007	BLQ	0.259	0.5	0.963	0.879	8.3	1.1
	Whole blood (cardiac)	0.197	0.089	0.053	0.011	BLQ	0.197	0.5	1.24	1.11	8.8	1.5
	Whole blood	0.165	0.064	0.036	0.007	BLQ	0.165	0.5	0.847	0.764	8.5	1.0
	Vena cava wall	0.238	0.134	0.079	BLQ	BLQ	0.238	0.5	1.26	0.921[b]	3.9[b]	1.5
Nervous	Brain	0.015	0.014	0.016	BLQ	BLQ	0.016	4	0.216	-[a]	-	0.26
	Pineal body	0.214	NS	NS	BLQ	NS	0.214	0.5	2.57	-[a]	-	3.0
	Spinal cord	0.018	0.013	0.012	BLQ	BLQ	0.018	0.5	0.170	0.500[b]	26.0[b]	0.20
Ocular	Eye (lens)	BLQ	BLQ	BLQ	0.018	0.015	0.018	24	0.972	4.92[b]	182.5[b]	1.1
	Uveal tract/ciliary body	0.156	0.183	0.610	0.921	0.561	0.921	24	52.2	107[b]	67.1[b]	61.6
Visceral organs	Kidney cortex	0.709	0.663	0.468	0.125	0.060	0.709	0.5	12.6	16.5	45.3	14.9
	Kidney inner medulla	0.498	0.577	0.237	0.028	0.012	0.577	1	5.22	5.90	39.3	6.2
	Kidney outer medulla	1.03	1.36	0.545	0.516	0.156	1.36	1	30.5	36.7	27.8	36.0
	Liver	2.26	2.61	1.47	0.565	0.198	2.61	1	46.6	55.6	31.7	55.0
	Lung	0.338	0.340	0.161	0.020	BLQ	0.340	1	3.30	3.01	6.6	3.9
	Myocardium	0.206	0.137	0.058	BLQ	BLQ	0.206	0.5	1.01	0.632[b]	2.4[b]	1.2
	Spleen	0.255	0.352	0.244	0.024	0.016	0.352	1	4.75	6.64[b]	82.1[b]	5.6
Glandular/ Secretory	Adrenal cortex	0.306	0.328	0.180	0.026	BLQ	0.328	1	3.68	3.33	7.2	4.3
	Adrenal medulla	0.235	0.234	NS	BLQ	BLQ	0.235	0.5	2.87	27.6[b]	81.3[b]	3.4
	Extraorbital lacrimal gland	0.168	0.178	0.101	0.013	0.013	0.178	1	2.31	2.71	28.2	2.7
	Harderian gland	0.094	0.105	0.143	0.041	BLQ	0.143	4	3.27	2.94	11.1	3.9
	Intra-orbital lacrimal gland	0.130	0.134	0.096	0.023	0.018	0.134	1	2.62	6.14[b]	135.7[b]	3.1
	Mandibular lymph node	0.152	0.127	0.103	BLQ	BLQ	0.152	0.5	1.48	1.93[b]	9.9[b]	1.7

(Continued)

2.6.5.5　B　薬物動態試験：組織分布（有色ラット）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK10843**										
Location in CTD		4.2.2.3.2										
		Radioactivity Concentrations (µg eq/g)					**Pharmacokinetic Parmameters**					
		Sampling Time					C_{max}	T_{max}	$AUC_{0\text{-}96h}$	AUC_{inf}	$T_{½}$	Tissue:Blood
		0.5 h	1 h	4 h	24 h	72 h	(µg eq/g)	(h)	(µg eq·h/g)	(µg eq·h/g)	(h)	Ratio [c]
Tissue Type	**Tissues/Organs**											
Glandular/ Secretory	Mesenteric lymph node	0.164	0.140	1.34	BLQ	0.013	1.34	4	16.0	16.2	10.2	18.9
	Nasal mucosa	0.074	0.051	0.065	0.022	BLQ	0.074	0.5	1.62	1.50 [b]	12.8 [b]	1.9
	Pancreas	0.296	0.321	0.189	0.024	0.014	0.321	1	4.04	5.28	61.7	4.8
	Pituitary	0.203	0.037	0.455	0.179	BLQ	0.455	4	11.5	11.0 [b]	14.9 [b]	13.6
	Salivary gland	0.230	0.219	0.169	BLQ	BLQ	0.230	0.5	2.44	2.71 [b]	8.0 [b]	2.9
	Thymus	0.073	0.073	0.086	BLQ	BLQ	0.086	4	1.15	- [a]	-	1.4
	Thyroid	0.304	0.252	0.146	0.048	BLQ	0.304	0.5	3.90	3.61	12.5	4.6
	Esophagus	3.77	0.240	0.162	0.020	BLQ	3.77	0.5	4.85	4.56	6.6	5.7
Reproductive	Bulbo-urethral gland	0.169	0.163	0.086	BLQ	BLQ	0.169	0.5	1.36	0.902 [b]	3.3 [b]	1.6
	Epididymis	0.055	0.022	0.028	BLQ	BLQ	0.055	0.5	0.388	- [a]	-	0.46
	Preputial gland	0.110	0.175	0.145	0.146	BLQ	0.175	1	6.99	- [a]	-	8.3
	Prostate	0.130	0.087	0.079	0.019	BLQ	0.130	0.5	1.77	1.58	9.7	2.1
	Seminal vesicles	BLQ	BLQ	0.034	0.011	BLQ	0.034	4	0.765	0.696 [b]	12.3 [b]	0.90
	Testis	0.028	0.019	0.019	0.015	BLQ	0.028	0.5	0.776	1.68 [b]	58.6 [b]	0.92
Musculoskeletal	Bone marrow	0.141	0.126	0.103	BLQ	BLQ	0.141	0.5	1.48	1.98 [b]	10.3 [b]	1.7
	Bone surface	0.045	0.048	0.115	BLQ	BLQ	0.115	4	1.43	- [a]	-	1.7
	Fat (abdominal)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	-	-	- [a]	-	0
	Fat (brown)	0.096	0.077	0.099	BLQ	BLQ	0.099	4	1.32	- [a]	-	1.6
	Muscle (skeletal)	0.030	0.041	0.031	0.021	BLQ	0.041	1	1.16	1.73 [b]	35.6 [b]	1.4
	Skin (non-pigmented)	0.105	0.056	0.060	0.012	0.016	0.105	0.5	1.63	2.31 [b]	38.5 [b]	1.9
	Skin (pigmented)	0.125	0.076	0.043	0.014	0.017	0.125	0.5	1.57	2.34 [b]	40.1 [b]	1.9
	Tongue	0.198	0.109	0.116	0.029	BLQ	0.198	0.5	2.61	2.33	10.0	3.1
	Fur	0.031	0.071	BLQ	BLQ	BLQ	0.071	1	0.140	- [a]	-	0.17
Extrathoracic	Oral cavity	0.200	0.190	0.087	BLQ	BLQ	0.249	4	3.14	- [a]	-	3.7
	Nasal cavity	0.012	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.012	0.5	0.006	- [a]	-	0.0071

(Continued)

2.6.5.5 B 薬物動態試験：組織分布（有色ラット）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK10843**										
Location in CTD		4.2.2.3.2										
		Radioactivity Concentrations (µg eq/g)					**Pharmacokinetic Parameters**					
		Sampling Time					C_{max}	T_{max}	$AUC_{0\text{-}96h}$	AUC_{inf}	$T_{½}$	Tissue:Blood
		0.5 h	1 h	4 h	24 h	72 h	(µg eq/g)	(h)	(µg eq·h/g)	(µg eq·h/g)	(h)	Ratio [c]
Tissue Type	**Tissues/Organs**											
Extrathoracic	Pharynx	0.110	0.072	0.037	BLQ	BLQ	0.200	0.5	1.43	0.897 [b]	2.7 [b]	1.7
	Larynx	0.065	0.137	0.249	BLQ	BLQ	0.110	0.5	0.607	0.403 [b]	3.1 [b]	0.72
Excretory	Stomach wall	0.630	0.328	0.882	0.024	0.018	0.882	4	12.3	15.3	115.7	14.5
	Small intestinal wall	18.6	29.3	2.14	0.130	0.031	29.3	1	90.3	91.4	23.2	107
	Caecum wall	0.139	0.102	2.31	0.189	0.048	2.31	4	34.4	36.1	24.3	40.6
	Large intestinal wall	0.062	0.067	0.536	0.058	0.056	0.536	4	9.63	86.2 [b]	948.1 [b]	11.4
	Urinary bladder wall	0.506	0.357	NS	0.028	BLQ	0.506	0.5	5.44	5.02	6.3	6.4
	Rectum	0.119	0.074	BLQ	BLQ	BLQ	0.119	0.5	0.189	0.156 [b]	0.7 [b]	0.22

Additional Information: Six 30 µm sagittal sections were used for analysis, obtained at the level of the kidney, intra-orbital lacrimal gland, harderian gland, adrenal gland, half brain and thyroid, and brain and spinal cord. A maximum area for each tissue within a single autoradiogram was defined for measurement, except for the aorta wall, vena cava wall, gastrointestinal wall, spinal cord and skin where representative areas were used.

[a] Could not be estimated; tissue concentrations increased between last 2 quantifiable samples or there were insufficient quantifiable samples.
[b] AUC_{ext} >25%; interpret with caution.
[c] Ratio calculated with $AUC_{0\text{-}96h}$ values

- = not determined; AUC = area under the plasma, whole blood, or tissue concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from 0 to infinity; AUC_{ext} = AUC extrapolated from the last quantifiable time to infinity expressed as a percentage of AUC_{inf}; BLQ = below the limit of quantification (<0.01 µg eq/g); C_{max} = maximum plasma, whole blood, or tissue concentration; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M = male; No. = number; NS = not sampled; $T_{1/2}$ = half-life; T_{max} = time to reach the maximum plasma, whole blood, or tissue concentration

2.6.5.6 薬物動態試験：血漿タンパク結合

2.6.5.6 A 薬物動態試験：血漿タンパク結合（モルモット）

In vitro における血漿タンパク結合 **Test Article:** JNJ-42756493

Study No.	**ADME_22460-ADME_22786**		
Location in CTD	4.2.2.3.3		
Study System	Plasma protein binding of JNJ-42756493 (5 µmol/L, 2233 ng/mL) in pooled plasma samples from male guinea pigs was evaluated by rapid equilibrium dialysis (performed in triplicate) following a 4.5-hour incubation. LC-MS/MS was used for analysis.		
	ADME_22460 (Batch [redacted])	**ADME_22786** (Batch [redacted])	**Average**
Species	Guinea pig	Guinea pig	Guinea pig
Plasma % Bound Fraction (median)	93.8	85.1	89.4
Plasma % Free Fraction (median)	6.2	14.9	10.6

LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; No. = number

2.6.5.6 B 薬物動態試験：血漿タンパク結合及び血球移行，並びにミクロソーム結合

In vitro における血漿タンパク結合

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK10117**								
Location in CTD	4.2.2.3.4								
Study System	Binding to Plasma Protein and Purified Human Proteins: [^{3}H]JNJ-42756493 binding in pooled plasma from animal species (mouse, rat, dog) and in individual plasma samples from 3 healthy male subjects, and to purified human proteins was evaluated by RED following a 24-hour incubation at 37°C. Samples were tested in duplicate. Blood Distribution: Pooled blood samples from preclinical animal species (mouse, rat, dog) and individual samples from 3 healthy male subjects were spiked with [^{3}H]JNJ-42756493 and incubated at 37°C for 30 minutes. Distribution of [^{3}H]JNJ-42756493 in the various blood components was determined at the end of the incubation period. Samples were tested in duplicate. Binding to Liver Microsomes: Binding of [^{3}H]JNJ-42756493 to rat, dog, and human liver microsomal proteins was determined by RED following 7-hour and 24-hour of incubation. Incubations were performed in triplicate. For all assays, radioactivity in the samples was determined by liquid scintillation counting.								
Plasma Protein Binding	[^{3}H]JNJ-42756493 Concentration								
	0.0336 µmol/L (15 ng/mL)		**1.68 µmol/L (750 ng/mL)**		**Mean (SD) Combined Data for 0.0336 and 1.68 µmol/L (15 and 750 ng/mL)**				
	% Free Fraction		% Free Fraction		% Free Fraction (N=4)	% Bound[a]			
	Pool	Pool Duplicate	Pool	Pool Duplicate					
CD-1 mouse (M)	12.3	10.3	12.1	10.6	11.3 (1.0)	88.7			
CD-1 mouse (F)	6.6	6.2	6.6	6.5	6.5 (0.2)	93.5			
NMRI mouse (M)	5.8	5.7	6.1	6.1	5.9 (0.2)	94.1			
Sprague-Dawley rat (M+F)	6.3	6.5	8.1	7.8	7.2 (0.9)	92.8			
Nude RNU rat (M)[b]	2.0	2.1	2.4	2.4	2.2 (0.2)	97.8			
Dog (M+F)[b]	13.4	13.5	14.1	13.7	13.7 (0.3)	86.3			
Human Subjects (M)	[^{3}H]JNJ-42756493 Concentration								
	0.0336 µmol/L (15 ng/mL)	**0.168 µmol/L (75 ng/mL)**	**0.336 µmol/L (150 ng/mL)**	**1.68 µmol/L (750 ng/mL)**	**3.36 µmol/L (1500 ng/mL)**				
% Free Fraction, Mean (SD)	0.55 (0.10)	0.56 (0.12)	0.55 (0.10)	0.62 (0.14)	0.74 (0.19)				
% Bound[a]	99.45	99.44	99.45	99.38	99.26				
Binding to Purified Human Proteins									
	0.0336 µmol/L (15 ng/mL) [^{3}H]JNJ-42756493 added to:								
	α_1-AGP				**HSA**				**0.07% α_1-AGP + 4.3% HSA**
	0.20%	**0.10%**	**0.05%**	**0.02%**	**6.0%**	**4.3%**	**2.0%**	**1.0%**	
% Free Fraction, Mean (N=2)	0.52	0.94	2.27	5.87	16.1	19.7	32.2	46.6	0.39
% Bound[a]	99.48	99.06	97.73	94.13	83.9	80.3	67.8	53.4	99.61

(Continued)

2.6.5.6 B 薬物動態試験：血漿タンパク結合及び血球移行，並びにミクロソーム結合（続き）

In vitro における血球移行及びミクロソーム結合

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK10117**							
Location in CTD	4.2.2.3.4							
Blood Distribution (Mean)	[^{3}H]JNJ-42756493 Concentration							
	0.0336 µmol/L (15 ng/mL)				**1.68 µmol/L (750 ng/mL)**			
	$R_{bl/pl}$	**λ_{pw}**	**λ_{pp}**	**λ_{bc}**	**$R_{bl/pl}$**	**λ_{pw}**	**λ_{pp}**	**λ_{bc}**
CD-1 mouse (M)	0.90	0.069	0.545	0.386	0.91	0.069	0.535	0.396
CD-1 mouse (F)	1.01	0.036	0.527	0.437	0.97	0.038	0.547	0.415
NMRI mouse (M)	0.92	0.036	0.592	0.371	1.03	0.035	0.532	0.433
Sprague-Dawley rat (M+F)	1.05	0.036	0.521	0.443	1.15	0.040	0.470	0.490
Nude RNU rat (M)[b]	0.76	0.016	0.765	0.219	0.84	0.017	0.685	0.298
Beagle dog (M+F)[b]	1.69	0.041	0.261	0.698	1.53	0.046	0.287	0.667
Human (M)	0.60	0.005	0.961	0.034	0.60	0.006	0.937	0.057

Mean Binding to Liver Microsomes			[^{3}H]JNJ-42756493 Concentration					
	Protein (mg/mL)	**Incubation Time**	**0.0336 µmol/L (15 ng/mL)**		**3.36 µmol/L (1500 ng/mL)**		**336 µmol/L (150044 ng/mL)**	
			% Unbound (SD)	% Bound[a]	% Unbound (SD)	% Bound[a]	% Unbound (SD)	% Bound[a]
Sprague-Dawley rat (M)	0.01	7 h	98.0 (2.46)	2.0	-	-	-	-
		24 h	96.4 (2.18)	3.6	-	-	-	-
Beagle dog (M)	0.1	7 h	77.0 (1.31)	23.0	-	-	-	-
		24 h	76.4 (2.31)	23.6	-	-	-	-
Human (M+F)	0.15	7 h	72.7 (2.05)	27.3	73.4 (2.98)	26.6	84.6 (1.24)	15.4
		24 h	75.3 (1.10)	24.7	75.9 (1.11)	24.1	86.1 (1.40)	13.9
	1	7 h	24.84 (3.09)	75.16	28.10 (2.09)	71.90	54.13 (3.06)	45.87
		24 h	26.32 (0.91)	73.68	27.14 (0.99)	72.86	37.79 (1.72)	62.21

[a] Calculated using mean % free fraction or % unbound.

[b] Blood samples from nude rat and dog were lost during combustion, therefore average blood concentrations from CD-1 mouse (M), CD-1 mouse (F), NMRI mouse (M), and Sprague-Dawley rat (M+F) were used for the calculations of $R_{bl/pl}$, λ_{pw}, λ_{pp} and λ_{bc}.

- = not assessed; α_1-AGP = α_1-acid glycoprotein; F = female; HSA = human serum albumin; λ_{bc} = fraction of JNJ-42756493 in blood bound to blood cells; λ_{pp} = fraction of JNJ-42756493 in blood bound to plasma proteins; λ_{pw} = fraction of JNJ-42756493 in blood present in the plasma water; M = male; N = number of samples tested; No. = number; $R_{bl/pl}$ = blood-to-plasma concentration ratio; RED = rapid equilibrium dialysis; SD = standard deviation

2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

Test Article: JNJ-42756493

Please refer to 0F for pharmacokinetic information for the embryo-fetal development study in rats (TOX12329).

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

Test Article: JNJ-42756493

Other distribution studies were not conducted.

2.6.5.9 薬物動態試験：*In vitro* における代謝

2.6.5.9 A 薬物動態試験：*In vitro* における代謝（動物及びヒト肝細胞画分及び肝細胞）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK10111**											
Location in CTD		4.2.2.4.6											
Purpose: Evaluate turnover (% metabolism) of [^{3}H]JNJ-42756493 and metabolite profiles in liver subcellular fraction (microsomes, 12,000 x *g* supernatant fraction) and cryopreserved hepatocytes from animals (males) and humans (male/female).													
		Percent Metabolism of [^{3}H]JNJ-42756493											
		Mouse				**Rat**				**Dog**		**Human**	
Strain		CD-1		Nude (NMRI/Nu)		Sprague-Dawley		Nude (RNU)		Beagle		-	
Concentration (µmol/L)		0.3	3	0.3	3	0.3	3	0.3	3	0.3	3	0.3	3
Test System	**Time (min)[a]**												
Microsomes	5 / 30	18.5	13.7	9.19	0.00	51.7	7.94	42.2	11.7	3.75	2.50	36.7	31.3
	10 / 60	22.8	0.00	30.7	3.69	71.1	21.1	62.0	22.1	13.2	0.94	64.9	44.9
	30 / 120	58.2	20.5	58.8	12.3	95.5	45.0	92.8	37.7	27.5	7.18	65.9	54.3
12,000 x *g* supernatant fraction	5 / 30	33.5	0.00	30.9	1.00	87.6	28.0	64.5	13.5	30.6	4.09	34.0	15.7
	10 / 60	65.4	6.22	55.5	10.6	97.8	32.1	88.2	28.4	31.5	8.10	34.4	35.1
	30 / 120	97.1	37.1	88.5	20.4	98.9	76.0	98.3	55.3	52.8	13.0	55.0	42.7
Hepatocytes	5 / 30	-	-	-	-	77.6	24.8	-	-	21.7	0.00	9.45	12.7
	10 / 60	-	-	-	-	94.8	35.8	-	-	27.8	3.15	11.9	13.4
	30 / 120	-	-	-	-	100	70.5	-	-	50.5	13.6	25.9	22.3
Additional Information: Liver subcellular fraction (microsomes, 12,000 x *g* supernatant fraction) and hepatocyte suspension cultures were incubated with [^{3}H]JNJ-42756493 (0.3 and 3 µmol/L) for 5, 10 and 30 minutes (animals) and 30, 60 and 120 minutes (human). The liver microsomal protein concentrations were 0.1 mg/mL for animals and 1.0 mg/mL for human. Incubations were terminated by addition of dimethyl sulfoxide (1:1, v/v). The amount of unchanged drug remaining at each time point was determined by UPLC with radioactivity detection.													

[a] Animal / human

- = not applicable; min = minutes; No. = number; UPLC = ultra performance liquid chromatography; v/v = volume/volume

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：*In vitro* における代謝（動物及びヒト肝細胞画分及び肝細胞）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK10111**											
Location in CTD		4.2.2.4.6											
Test System		Liver microsomes											
Analytes		[^{3}H]JNJ-42756493 and its metabolites											
		Percentage of Sample Radioactivity											
		Mouse				**Rat**				**Dog**		**Human**	
Strain		CD-1		Nude (NMRI/Nu)		Sprague-Dawley		Nude (RNU)		Beagle		-	
Concentration (µmol/L)		0.3	3	0.3	3	0.3	3	0.3	3	0.3	3	0.3	3
M1	O-demethylation, -2H	14.2	-	14.2	-	17.1	4.17	13.0	-	-	-	-	-
M4[a]	-2H	14.0	4.40	12.6	4.60	17.0	11.9	20.7	8.73	4.55	-	2.50	3.13
M6	O-demethylation	-	-	2.70	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M7[a]	-2H	20.7	6.03	22.4	5.03	28.2	16.8	29.8	12.0	10.2	2.10	-	2.80
M8	N-dealkylation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.4	18.7
M9	-CH2, -4H, +1O	-	-	-	-	25.7	5.20	23.0	2.73	3.30	-	-	-
M12[b]	+CH2-2H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS only	5.73	5.40
UD	JNJ-42756493	45.6	86.1	45.6	86.8	5.43	61.1	10.2	74.3	78.6	94.1	45.8	51.9
Total:		94.5	96.5	97.5	96.4	93.4	99.2	96.7	97.8	96.7	96.2	78.4	81.9

Additional Information:
Liver microsomes (0.1 mg/mL for animals; 1.0 mg/mL for human) were incubated with [^{3}H]JNJ-42756493 (0.3 and 3 µmol/L) for 30 minutes (animals) and 120 minutes (human). Incubations were terminated by addition of DMSO (1:1, v/v). Mass balance of unchanged [^{3}H]JNJ-42756493 and its metabolites was determined by UPLC with radioactivity detection; metabolites were identified by LC-MS/MS.

[a] The results from a later investigative study (Mod4.2.2.4.8/FK10253) confirmed that M4 and M7 were formed artifactually from M6 due to reaction with formaldehyde present in DMSO used as the sample processing solvent.

[b] The results from a later investigative study (Mod4.2.2.4.8/FK10253) confirmed that M12 was formed artifactually from JNJ-42756493 due to reaction with formaldehyde present in DMSO used as the sample processing solvent.

- = not observed/not applicable; DMSO = dimethyl sulfoxide; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MS = mass spectrometry; No. = number; UPLC = ultra performance liquid chromatography; UD = unchanged drug; v/v = volume/volume

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：*In vitro* における代謝（動物及びヒト肝細胞画分及び肝細胞）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK10111**											
Location in CTD		4.2.2.4.6											
Test System		12,000 x *g* liver supernatant fraction											
Analytes		[^{3}H]JNJ-42756493 and its metabolites											
		Percentage of Sample Radioactivity											
		Mouse				**Rat**				**Dog**		**Human**	
Strain		CD-1		Nude (NMRI/Nu)		Sprague-Dawley		Nude (RNU)		Beagle		-	
Concentration (µmol/L)		0.3	3	0.3	3	0.3	3	0.3	3	0.3	3	0.3	3
M1	O-demethylation, -2H	67.9	4.43	33.3	2.57	27.2	8.17	21.6	15.5	3.37	-	-	-
M4[a]	-2H	6.33	9.87	11.5	5.47	-	20.4	8.77	16.6	6.03	3.43	-	2.67
M6	O-demethylation	-	-	4.17	1.90	-	-	-	-	-	-	-	-
M7[a]	-2H	9.77	12.7	33.4	9.80	-	26.4	11.7	20.4	24.2	4.23	2.47	2.17
M8	N-dealkylation	-	3.73[c]	-	2.75[c]	-	10.9[c]	-	5.10[c]	-	1.37[c]	21.3	12.5[c]
M9	-CH2, -4H, +1O	8.80		3.63		39.3		34.8		6.47		-	
M10	N-demethylation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.05	-	1.70
M12[b]	+CH2-2H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS only	-	3.10
UD	JNJ-42756493	3.63	68.5	12.0	78.3	1.20	32.2	1.90	53.4	49.2	87.0	54.0	69.4
Total:		96.4	99.2	98.0	101	67.7	98.1	78.8	111	89.3	98.1	77.8	91.5

Additional Information:
The 12,000 x *g* liver supernatant fraction was incubated with [^{3}H]JNJ-42756493 (0.3 and 3 µmol/L) for 30 minutes (animals) and 120 minutes (human). Incubations were terminated by addition of dimethyl sulfoxide (1:1, v/v). Mass balance of unchanged [^{3}H]JNJ-42756493 and its metabolites was determined by UPLC with radioactivity detection; metabolites were identified by LC-MS/MS.

[a] The results from a later investigative study (Mod4.2.2.4.8/FK10253) confirmed that M4 and M7 were formed artifactually from M6 due to reaction with formaldehyde present in DMSO used as the sample processing solvent.

[b] The results from a later investigative study (Mod4.2.2.4.8/FK10253) confirmed that M12 was formed artifactually from JNJ-42756493 due to reaction with formaldehyde present in DMSO used as the sample processing solvent.

[c] M8 and M9 co-eluted

- = not observed/not applicable; DMSO = dimethyl sulfoxide; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MS = mass spectrometry; No. = number; UD = unchanged drug; UPLC = ultra performance liquid chromatography; v/v = volume/volume

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：*In vitro* における代謝（動物及びヒト肝細胞画分及び肝細胞）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK10111**					
Location in CTD		4.2.2.4.6					
Test System		Hepatocytes (suspension cultures)					
Analytes		[^{3}H]JNJ-42756493 and its metabolites					
		Percentage of Sample Radioactivity					
		Rat		**Dog**		**Human**	
Strain		Sprague-Dawley		Beagle		-	
Concentration (µmol/L)		0.3	3	0.3	3	0.3	3
Incubation time (minutes)		5	30	30	30	120	120
M2	O-demethylation, glucuronidation	19.5[a]	25.5	10.9	4.57	2.63	2.30
M3	addition of 1O, glucuronidation		-	-	-	-	-
M4[b]	-2H	2.80	3.27	-	-	-	3.27
M5	addition of 1O	6.60	4.95	-	-	-	-
M6	O-demethylation	7.00	11.5	-	-	-	3.60
M7[b]	-2H	9.50	9.07	MS only	MS only	6.80	6.77
M8	N-dealkylation	-	-	-	-	2.87	3.17
M9	-CH2, -4H, +1O	2.90	2.93	4.93	-	-	-
UD	JNJ-42756493	16.9	28.5	54.3	88.3	82.7	80.5
Total:		65.2	85.7	70.1	92.9	95.0	99.6

Additional Information:
Hepatocyte suspension culture incubations with [^{3}H]JNJ-42756493 were terminated by addition of DMSO (1:1, v/v). Mass balance of unchanged [^{3}H]JNJ-42756493 and its metabolites was determined by UPLC with radioactivity detection; metabolites were identified by LC-MS/MS.

[a] M2 and M3 co-eluted

[b] The results from a later investigative study (Mod4.2.2.4.8/FK10253) confirmed that M4 and M7 were formed artifactually from M6 due to reaction with formaldehyde present in DMSO used as the sample processing solvent.

- = not observed/not applicable; DMSO = dimethyl sulfoxide; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MS = mass spectrometry; No. = number; UD = unchaged drug; UPLC = ultra performance liquid chromatography; v/v = volume/volume

2.6.5.9 B 薬物動態試験：*In vitro* における代謝（動物及びヒト肝及び小腸ミクロソーム，並びに肝細胞）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK10105**		
Location in CTD	4.2.2.4.7		
Purpose: Determine intrinsic clearance and enzyme kinetic parameters (K_m and V_{max}) for [^{3}H]JNJ-42756493 in liver and intestinal microsomes, and hepatocytes from animals (male) and human (male/female).			
Test System	Liver microsomes		
Final [S] (µmol/L)	0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100		
Species (strain)	Rat (Sprague-Dawley)	Dog (Beagle)	Human
Incubation time (minutes)	10	10	30
Protein concentration (mg/mL)	0.010	0.10	1.0
Parameter[a,b]			
V_{max} (nmol/min/mg)[c]	1.4 (0.47)	0.032 (0.0036)	0.115 (0.010)
K_m (µmol/L)[c]	0.72 (0.48)	0.055 (0.019)	8.49 (1.31)
Additional Information: The low range of metabolism at higher concentrations of JNJ-42756493 resulted in less reliable analytical precision for the measurement of turnover of unchanged drug. Therefore, the data sets used to calculate K_m and V_{max} for each species were based on a limited concentration range.			

[a] The amount of unchanged drug at each substrate concentration was determined by HPLC with radioactivity detection.
[b] Concentrations ranges used for K_m and V_{max} calculations: ≤1 µmol/L for rat; ≤0.3 µmol/L for dog; and ≤10 µmol/L for human.
[c] Mean (SD)

HPLC = high performance liquid chromatography; K_m = substrate concentration at 50% of the maximal reaction velocity; No. = number; [S] = substrate concentration; SD = standard deviation; V_{max} = maximal reaction velocity

(Continued)

2.6.5.9 B 薬物動態試験：*In vitro* における代謝（動物及びヒト肝及び小腸ミクロソーム，並びに肝細胞）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK10105**	
Location in CTD	4.2.2.4.7	
Test System	Hepatocytes	
Final [S] (µmol/L)	0.003, 0.03, 0.3, 3	0.003, 0.03, 0.3, 3
Species (strain)	Dog (Beagle)	Human
Incubation time (minutes)	0, 5, 10, 30	0, 10, 30, 60
Cell concentration (cells/mL)	0.5×10^6	2.0×10^6
Parameter[a]		
V_{max} (nmol/min/million cells)	0.013	NC[b]
Unbound K_m (µmol/L)	0.018	NC[b]

[a] The amount of unchanged drug at each substrate concentration was determined by UPLC with radioactivity detection.
[b] Not calculable for human hepatocytes due to low metabolic turnover of JNJ-42756493 under the experimental conditions.

K_m = substrate concentration at 50% of the maximal reaction velocity; NC = not calculated; No = number; [S] = substrate concentration; UPLC = ultra performance liquid chromatography; V_{max} = maximal reaction velocity

(Continued)

2.6.5.9　B　薬物動態試験：*In vitro* における代謝（動物及びヒト肝及び小腸ミクロソーム，並びに肝細胞）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK10105**					
Location in CTD	4.2.2.4.7					
Test System	Intestinal microsomes					
Species (strain)	Rat (Sprague-Dawley)		Dog (Beagle)		Human	
Concentration (µmol/L)	0.03	3	0.03	3	0.03	3
Parameter						
Cl_{int} (mL/min/mg)	0.2599	0.0352	0.0035	0.0055	0.0087	0.0061
V (nmol/min/mg)	0.0078	0.1057	0.0001	0.0164	0.0003	0.0183
Additional Information: Intestinal microsomes (0.1 mg/mL) were incubated with 0.03 and 3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 for 5, 10 and 60 minutes. The amount of unchanged drug at each time point was determined by UPLC with radioactivity detection. The turnover of [^{3}H]JNJ-42756493 after 60 minutes for rat was 81% (0.03 µmol/L) and 21% (3 µmol/L), insignificant (≤3%) for dog, and minimal (≤8%) for human.						

Cl_{int} = intrinsic clearance; No. = number; UPLC = ultra performance liquid chromatography; V = rate of metabolism at the concentration tested

2.6.5.9　C　薬物動態試験：*In vitro* における代謝（ヒト肝ミクロソーム及び肝細胞，並びに rCYP 発現系）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK10116**
Location in CTD	4.2.2.4.9
Purpose: To characterize CYP forms involved in the metabolism of [^{3}H]JNJ-42756493 in human liver microsomes and human hepatocytes using CYP-specific chemical inhibitors, and to examine the extent of JNJ-42756493 metabolism by human recombinant CYP isoforms overexpressed in *E. coli* cells. **Methods:** [^{3}H]JNJ-42756493 was incubated with human liver microsomes (1 mg/mL) for 30 minutes, human hepatocytes (2 million cells/mL) for 120 minutes, and for 5 minutes with *E. coli* membranes containing a single CYP. Samples were analyzed for unchanged drug and metabolites by UPLC with radioactivity detection and/or LC-MS.	
Test System	**Results**
Liver Microsomes	Overall metabolism of [^{3}H]JNJ-42756493 (0.3 µmol/L) was limited (~30%). Formation of the major metabolite M8 (N-dealkylation) was completely inhibited by the CYP3A4 inhibitors ketoconazole (1 µmol/L), troleandomycin (5 and 50 µmol/L), and the poly-CYP inhibitor 1-aminobenzotriazole (100 and 1000 µmol/L).
Hepatocytes[a]	Turnover of [^{3}H]JNJ-42756493 (3 µmol/L) was 20%. Metabolites formed during the incubation included M6 (O-demethylation) and its glucuronide (M2), and M8. Due to limitations in the analytical technique (radiochromatography), the effects of CYP inhibitors were derived from MS peak areas. Ketoconazole inhibited the formation of M8 (37% at 1 µmol/L and 69% at 10 µmol/L), and M6 (40% to 50% at 10 µmol/L). At 1000 µmol/L, 1-aminobenzotriazole inhibited formation of M8 by 82% and M6 by 68%. The extent of inhibition of M2 by a specific CYP inhibitor was related to the level of inhibition of M6 formation.
Recombinant CYP isoforms	Relative contribution of the tested CYP isoforms (1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4, 3A5) was determined from the percent metabolism of [^{3}H]JNJ-42756493 (0.3 µmol/L) by each isoform. These values were highest for CYP2D6 (47%), CYP2C9 (13.5%), and CYP3A4 (11.6%).
Conclusions: Based on results from the 3 test systems, the involvement of CYP3A4 was established in the formation of M8. The CYP isoform(s) involved in the formation of M6 in hepatocytes could not be established from the test systems used in this study.	

[a] The results from a later investigative study (Mod4.2.2.4.8/FK10253) confirmed that analytes M4 and M7 observed in samples from this study were formed artifactually from M6 due to reaction with formaldehyde present in dimethyl sulfoxide used as the sample processing solvent.

CYP = cytochrome P450; LC-MS = liquid chromatography-mass spectrometry; MS = mass spectrometry; No. = number; UPLC = ultra performance liquid chromatography

2.6.5.9　D　薬物動態試験：*In vitro* における代謝（ヒト肝ミクロソーム及び肝細胞，並びに rCYP 発現系）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11143**
Location in CTD	4.2.2.4.10
Purpose: To determine the intrinsic clearance and the formation of metabolites of [^{3}H]JNJ-42756493 (1 µmol/L) in human hepatocytes in the absence and presence of diagnostic CYP inhibitors, and to evaluate the metabolism of [^{3}H]JNJ-42756493 in human liver microsomes and CYP isoforms overexpressed in Supersomes®. **Methods:** Aliquots of incubation mixtures were taken at 6 designated time points during incubation of [^{3}H]JNJ-42756493 (1 µmol/L) with human liver microsomes (1.0 mg protein/mL), human hepatocytes (0.5 million cells/mL), and recombinant human CYP isoforms (100 pmol/mL) (3 additional time points for CYP2D6). These subsamples were analyzed for unchanged drug and its metabolites by UPLC with radioactivity detection and/or LC-MS.	
Test System	**Results**
Liver Microsomes	Overall metabolism of [^{3}H]JNJ-42756493 after 30 minutes was limited (~30%). CYP3A4 was involved in the formation of the major metabolite M8 (N-dealkylation) based on 90% inhibition with ketoconazole (1 µmol/L) and 80% with troleandomycin (25 µmol/L). The poly-CYP inhibitor 1-aminobenzotriazole (1000 µmol/L) completely inhibited M8 formation.
Hepatocytes	Turnover of [^{3}H]JNJ-42756493 was 20%. Metabolites formed during the incubation included M6 (O-demethylation) and its glucuronide (M2), M8, and M10 (N-demethylation). Due to limitations in the analytical technique (radiochromatography), the effects of CYP inhibitors were derived from MS peak areas. Formation of M6-related radiolabeled metabolites in human hepatocytes was inhibited by approximately 22% with 1 µmol/L ketoconazole (CYP3A4 inhibitor), and around 60% with 15 µmol/L tienilic acid (CYP2C9 inhibitor). Ketoconazole (1 µmol/L) and 1-aminobenzotriazole (1000 µmol/L) both inhibited M8 formation by 73%, and its formation was unaffected by tienilic acid (15 µmol/L). No substantial inhibitory effect on the metabolic turnover or metabolite formation of JNJ-42756493 was observed with CYP2C8 inhibitors (quercetin or gemfibrozil) or CYP2D6 inhibitors (paroxetine or quinidine).
Recombinant CYP isoforms (Supersomes)	Turnover of JNJ-42756493 was substantial after incubation with CYP3A4 for 120 minutes and CYP2D6 for 60 minutes. M8 accounted for around 82% of the turnover with CYP3A4, and M6 accounted for around 27% of the turnover with CYP2C9. Minor entities formed included M6 and M10 with CYP3A4 and M8 with CYP2C9. M10 was the main metabolite formed with CYP2C9; however, small amounts were observed in control Supersomes®. The results for clearance of JNJ-42756493 are summarized below:

Cl_{int} (µL/min/pmol P450)			
CYP3A4	CYP2C8	CYP2C9	CYP2D6
0.15	0.08	0.04	0.24[a]

[a] Mean of 3 experiments

CL_{int} = intrinsic clearance; CYP = cytochrome P450; LC-MS = liquid chromatography-mass spectrometry; MS = mass spectrometry; No. = number; UPLC = ultra performance liquid chromatography

(Continued)

2.6.5.9 D 薬物動態試験：*In vitro* における代謝（ヒト肝ミクロソーム及び肝細胞，並びに rCYP 発現系）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11143**						
Location in CTD	4.2.2.4.10						
				Cl_{int} in the Absence and Presence of Diagnostic Inhibitors			
				Human Liver Microsomes		**Human Hepatocytes**	
Preincubation (min)[a]	CYP Inhibitor	Conc (µmol/L)	Target CYP	Cl_{int} (µL/min/mg)	Percent Inhibition	Cl_{int} (µL/min/million cells)	Percent Inhibition
0	(Control)			14.3		2.53	
	Ketoconazole	1	CYP3A4	1.56	89	1.46	42
	Quercetin	10	CYP2C8	7.17	50	2.72	-
	Sulfaphenazole	10	CYP2C9	11.8	17	1.27	50
	Quinidine	1	CYP2D6	12.0	16	3.33	-
15	(Control)			13.3		3.50	
	Troleandomycin	25	CYP3A4	2.61	80	2.93	16
	Paroxetine	1.8	CYP2D6	12.2	8	3.11	11
	1-ABT	1000	Poly-CYP	0.48	96	1.75	50
30	(Control)			11.3		4.94	
	Gemfibrozil	100	CYP2C8	8.82	22	4.99	-
	Tienilic acid	15	CYP2C9	7.76	31	2.49	50
	1-ABT+ Tienilic acid	1000/15	Poly-CYP + CYP2C9	2.35	79	0.77	84
Conclusions: Based on the comparison of the intrinsic clearances and the metabolic profiles in human hepatocytes in the absence and presence of specific CYP450 inhibitors, CYP2C9 and CYP3A4 appear as the major CYP450 enzymes involved in the metabolism of [^{3}H]JNJ-42756493.							

[a] For time dependent inhibitors

- = Cl_{int} >control; ABT = aminobenzotriazole; Cl_{int} = intrinsic clearance; Conc = concentration; CYP = cytochrome P450; No. = number

2.6.5.10　薬物動態試験：*In vivo* における代謝

2.6.5.10　A　薬物動態試験：*In vivo* における代謝（経口及び静脈内：マウス）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.				**FK12185**									
Location in CTD				4.2.2.4.5									
Species				Mouse									
Feeding Condition				Fed									
Vehicle/Formulation				20% HP-β-CD									
Radionuclide				[^{14}C]JNJ-42756493									
Specific Activity				1.97 GBq/mmol									
Route				Oral gavage				IV (slow bolus: 2 minutes)					
Gender (M/F)/Number of Animals				M:3 (Wild type: FVB/NTac); M:2 (P-gp knockout: Mdr1a/b-Bcrp)				M:3 (Wild type: FVB/NTac); M:3 (P-gp knockout: Mdr1a/b-Bcrp)					
Dose				1 mg/kg [4.412 MBq (119 µCi)/kg]				0.5 mg/kg [2.206 MBq (60 µCi)/kg]					
Assay				UPLC/RAD/MS									
				Excretion of Total Radioactivity (Percent of Administered Dose)									
	Route	Time (h)	Strain	**UD** (Unchanged drug)		**M2** [Glucuronidation of M6]		**M6** (*O*-demethylation)		**M9** (-CH2 -2H +1O)		**M13** [Glucuronidation of M20]	**M20** [*O*-demethylation of M6]
Urine[a]	Oral	(0-24)	WT	-		0.29		0.04		-		0.75	0.17
			KO	-		1.00		0.07		-		1.99	0.18
	IV	(0-48)	WT[b]	1.52		0.86		0.76		-		3.49	0.32
			KO	1.47		1.26		0.43		-		5.49	0.84
Feces[a]	Oral	(0-24)[c]	WT	0.52		-		19.9		2.7		-	39.27
			KO	1.18		-		9.14		3.06		-	32.94
	IV	(0-48)	WT	0.67		-		3.68		0.94		-	26.5
			KO	NR		-		1.66		0.36		-	24.3
Plasma				**UD** (Unchanged drug)				**M6** (*O*-demethylation)				**M8** (*N*-dealkylation)	
Route				Oral		IV		Oral		IV		Oral	IV
Pharmacokinetic Parameters				WT	KO	WT	KO	WT[d]	KO[d]	WT	KO[e]	WT[d] KO[d]	WT KO
C_{max} (ng/mL)				0.5	0.5	184	173	NA	NA	1.28	0.73	NA NA	2.93 2.24
T_{max} (h)				1.25	1	0.05	0.07	NA	NA	0.61	1.00	NA NA	0.05 0.05
$T_{1/2}$ (h)				NC	NC	2.20	1.69	NA	NA	3.69	2.19	NA NA	0.25 0.35
AUC_{last} (ng·h/mL)				NC	NC	140	112	NA	NA	3.48	1.23	NA NA	0.415 0.300
AUC_{inf} (ng·h/mL)				NC	NC	150	115	NA	NA	6.70[f]	2.92[f]	NA NA	0.680[f] 0.581[f]

[a] Samples from individual animals were pooled prior to analysis.
[b] Urine samples collected prior to the death of 2 animals (0-7 h and 0-24 h) were pooled with the 0-48 h sample.
[c] Sum of peak areas for samples collected from 0-7 h and 7-24 h.
[d] Plasma concentrations at all sampling time points (0.5-24 h) were below the lower limit of quantification (0.50 ng/mL).
[e] N = 1
[f] Extrapolated area >20% of total AUC
- = not detected; AUC = area under the plasma concentration-time curve; AUC_{inf} = AUC from time 0 to infinity; IV = intravenous; AUC_{last} = AUC from time 0 to the last quantifiable time; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; KO = knockout; M = male; N = number of animals; NA = not applicable; NC = not calculated; No. = number; NR = not recovered; P-gp = P-glycoprotein; UPLC/RAD/MS = ultra performance liquid chromatography/radioactivity detection/mass spectrometry; WT = wild type

2.6.5.10　B　薬物動態試験：*In vivo* における代謝（経口：ラット及びイヌ）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK10110**							
Location in CTD		4.2.2.4.1							
Species		Rat				Dog			
Gender (M/F)/Number of Animals		M:3				M:2			
Feeding Condition		Fed				Fed			
Vehicle/Formulation		10% HP-β-CD				10% HP-β-CD			
Route		Oral gavage				Oral gavage			
Radionuclide		[^{3}H]JNJ-42756493				[^{3}H]JNJ-42756493			
Specific Activity		517 GBq/mmol				518 GBq/mmol			
Assay		UPLC/RAD/MS				UPLC/RAD/MS			
		Percent of Dose in Sample							
Sample		Urine[a]		Feces[b,c]		Urine[a]		Feces[b,c]	
Time (h)		0-24		0-24		0-24		0-24	24-48
Dose (mg/kg)		**4**	**60**	**4**	**60**	**0.25**	**1**	**0.25**	**1**
UD	Unchanged drug	-	-	4.56	3.56	0.237	0.360	1.39	5.37
M1	O-demethylation, -2H	-	-	-	-	-	-	-	-
M2	O-demethylation, glucuronidation	0.970[d]	1.09[d]	-	-	0.740	1.09	-	-
M3	addition of 1 O, glucuronidation			-	-	-	-	-	-
M4[e]	-2H	-	-	6.64	8.00	-	-	-	7.46
M5	addition of 1 O	-	-	1.68	7.94	-	-	-	-
M6	O-demethylation	0.120	0.900	9.55	13.6	-	-	-	-
M7[e]	-2H	-	-	5.01	5.19	-	-	1.01	2.50
M8	N-dealkylation	-	-	-	-	-	-	-	-
M9	-CH2 -2H +O	0.059	-	-	-	-	-	-	-
M11	addition of 1 O	-	-	-	-	-	-	-	-
M12[f]	+CH2-4H	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Information: ***The abundance of metabolites in feces is considered qualitative*** due to poor recovery of radioactivity after sample processing of pooled feces extracts. Total recovery of radioactivity (relative to the percent of dose recovered in feces homogenates) was approximately 59% (0-24 h) for rat, and 22% (0-24 h) and 44% (24-48 h) for dog.									

[a] The percentage of each metabolite was calculated from radiochromatogram peak areas in samples pooled from 0-8 h and 8-24 h collection periods.

[b] The percentage of each metabolite was calculated by multiplying the percent sample radioactivity by the percentage of the dose recovered in pooled samples from 0-24 h or 24-48 h collection periods.

[c] Radioactivity levels in the pooled 24-48 h samples were insufficient for identification of metabolites by UPLC/RAD/MS.

[d] M2 and M3 co-eluted

[e] The results from a later investigative study (Mod4.2.2.4.8/FK10253) confirmed that M4 and M7 were formed artifactually from M6 due to reaction with formaldehyde present in DMSO used as the sample processing solvent. Therefore, the actual percent of dose accounted as M6 in feces is the sum of M4, M7, and M6.

[f] M12 appeared in reference samples spiked with JNJ-42756493; the results from a later investigative study (Mod4.2.2.4.8/FK10253) confirmed it was formed artifactually from JNJ-42756493 due to reaction with formaldehyde present in DMSO used as the sample processing solvent.

- = not detected/not observed; F = female; DMSO = dimethyl sulfoxide; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M = male; No. = number; UPLC/RAD/MS = ultra performance liquid chromatography/radioactivity detection/mass spectrometry

(Continued)

2.6.5.10　B　薬物動態試験：*In vivo* における代謝（経口：ラット及びイヌ）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK10110**	
Location in CTD		4.2.2.4.1	
Species		Rat	Dog
Gender (M/F)/Number of Animals		M:3	M:2
Feeding Condition		Fed	Fed
Vehicle/Formulation		10% HP-β-CD	10% HP-β-CD
Route		Oral gavage	Oral gavage
Radionuclide		[^{3}H]JNJ-42756493	[^{3}H]JNJ-42756493
Specific Activity		517 GBq/mmol	518 GBq/mmol
Dose		4 or 60 mg/kg	0.25 or 1 mg/kg
Assay		UPLC/RAD/MS	UPLC/RAD/MS
Sample Type		Plasma[a]	Plasma[a]
Circulating Entities[b,c]	Major:	JNJ-42756493, M2	JNJ-42756493, M2, M4, M11
	Minor:	M1, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9	M3, M5, M6, M7, M8

[a] Rat and dog plasma samples from individual animals were proportionally pooled for each collection time point (1, 3, and 6 h).

[b] Incomplete recovery of radioactivity after processing of sample pools resulted in insufficient radioactivity levels in UPLC injection samples for accurate calculation of plasma metabolite concentrations. Therefore, metabolite profiling based on radiochromatogram peak areas is considered qualitative.

[c] M4 and M7 were formed artifactually from M6 due to reaction with formaldehyde present in DMSO used as the sample processing solvent. Therefore, the total amount of M6 includes the fraction of M6 converted to M4/M7 during sample preparation with DMSO.

DMSO = dimethyl sulfoxide; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M = male; No. = number; UPLC/RAD/MS = ultra performance liquid chromatography/radioactivity detection/mass spectrometry

2.6.5.10　C　薬物動態試験：*In vivo* における代謝（経口：胆管カニューレ処置ラット）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK11144**				
Location in CTD		4.2.2.4.2				
Species		Rat				
Gender (M/F)/Number of Animals		M:3 (BDC); M:2 (Intact)				
Feeding Condition		Fed				
Vehicle/Formulation		10% HP-β-CD, pH 4.0				
Route		Oral gavage				
Dose		4 mg/kg [1.48 MBq (40 μCi)/kg]				
Radionuclide		[^{14}C]JNJ-42756493				
Specific Activity		1.97 GBq/mmol				
Assay		UPLC/RAD/MS				
		Excretion of Total Radioactivity (Percent of Administered Dose)				
		BDC Rats			**Intact Rats**	
		Bile[a]	Urine[a]	Feces	Urine	Feces
Time (h)		0-24	0-24	0-48[f]	0-24[f]	0-24[f]
UD	Unchanged drug	-	-	21.5	-	8.85
M1	O-demethylation, -2H	-	0.24[d]	-	-	-
M2	O-demethylation, glucuronidation	14.18[b,e]	2.62[b]	-	1.27	-
M3	addition of 1 O, glucuronidation	0.27[d]	-	-	-	-
M5	addition of 1 O	-	-	-	-	2.78
M6	-14, O-demethylation	-	0.26[b]	16.3	0.34	46.2
M9	-CH2, -4H, +1O	2.90[c]	0.13[b]	-	0.15	7.11
M13	-14-14(-CH2-CH2)+176	4.08[b]	1.43[c]	-	-	-
M14	-14-2(-CH2-2H)+176	2.85[d]	0.58[d]	-	-	-
M15	-14+16(-CH2+O)+176	9.24[b,e]	1.69[c]	-	-	-
M16	+16(+O)+176	-[g]	0.80[d]	-	-	-
M17	+16-2(+O-2H)+176	3.73[b]	0.85[d]	-	-	-
M18	-14-2(-CH2-2H)+176	2.28[d]	0.49[d]	-	-	-
M19	-14+16(-CH2+O)+176	3.35[c]	-	-	-	-
M20	-14-14(-CH2-CH2)	1.43[d]	-	1.94	-	14.1
M21	O-demethylation, -2H	1.26[d]	-	-	-	-
M22	-14-2+16-2(-CH2-2H+O-2H)	2.51[c]	-	-	-	-
M23	-2(-2H)	1.17[d]	-	-	-	-
M25	-14-2-14+14(-CH2-2H-CH2+CH2)+176	2.43[b]	0.28[d]	-	-	-
M26	-14+16(-CH2+O)	-	-	-	-	4.68

[a] Mean value (when metabolite is detectable in 2 or 3 rats)
[b] Detected in 3 rats.
[c] Detected in 2 rats.
[d] Detected in 1 rat.
[e] Total amount in 1 rat includes small amounts of radioactivity (% of dose) recovered in the 24-48 h period (0.49% for M2; 0.13% for M15).
[f] Pooled samples
[g] M16 was co-eluted with M15.
- = not detected; BDC = bile duct-cannulated; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M = male; No. = number; UPLC/RAD/MS = ultra performance liquid chromatography/radioactivity detection/mass spectrometry

2.6.5.10　D　薬物動態試験：*In vivo* における代謝（経口：ヒト）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK12055**					
Location in CTD		4.2.2.4.3					
Species		Human					
Gender (M/F)/Number of Subjects		M:8 (5 extensive and 3 poor CYP2D6 metabolizers)					
Feeding Condition		Fasted					
Vehicle/Formulation		Aqueous solution					
Route		Oral					
Radionuclide		[^{14}C]JNJ-42756493					
Specific Activity		147 kBq/mg					
Dose		12 mg [1.85 MBq (~50 µCi)/subject]					
Assay		UPLC/RAD/MS					
		Excretion of Total Radioactivity (Percent of Administered Dose)					
		Urine			**Feces**		
CYP2D6 Metabolizer Phenotype		Extensive		Poor	Extensive		Poor
		Pooled[a]	Individual[b]	Pooled[c]	Pooled[a]	Individual[b]	Pooled[c]
Time (h)		0-384[d]	0-312	0-360	0-384	0-312	0-360
UD	Unchanged drug	15.6	9.84	9.96	22.6	18.9	14.1
M5	addition of 1 O	-	-	-	-	1.20	-
M6	O-demethylation	2.30	2.04	1.93	24.0	24.3	23.8
M8	N-dealkylation	1.07	-	1.17	2.94	3.51	3.24
M11	addition of 1 O	-	-	-	1.51	1.53	2.04
M27	M6+O	-	-	-	1.79	-	1.20
M28	(unidentified)	1.32	-	1.25	-	-	-
Plasma Analytes: Plasma samples collected at the T_{max} (2 h) from 8 subjects were subdivided and pooled by CYP2D6 metabolizer phenotype: extensive (5 subjects); poor (3 subjects). JNJ-42756493 was the only radioactive entity identified in pooled plasma samples analyzed by UPLC coupled to off line radioactivity detection and mass spectrometry.							
Additional Information: The product formulation, and procedures for dose administration and sample collection (blood, plasma, urine and feces) are described in clinical study report Mod5.3.3.1/42756493EDI1005.							

[a] Pooled samples per time collection periods from 4 subjects
[b] Separate analysis of samples from 1 subject
[c] Pooled samples per time collection periods from 3 subjects
[d] The last sample collection periods were 96-312 h for 3 subjects and 312-384 h for 1 subject. The radioactivity level in the UPLC injection sample for the 312-384 h period represented 0.77% of the administered dose.

- = not detected; F = female; M = male; No. = number; T_{max} = time to reach the maximum plasma concentration; UPLC/RAD/MS = ultra performance liquid chromatography/radioactivity detection/mass spectrometry

2.6.5.10　E　薬物動態試験：*In vivo* における代謝（経口：ヒト）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK10678**				
Location in CTD	4.2.2.4.4				
Species	Human				
Gender (M/F)/Number of Subjects	M+F:4				
Feeding Condition	Fed				
Vehicle/Formulation	Aqueous solution				
Route	Oral				
Dose	9 mg				
Assay	UPLC/MS				
Study Overview: The plasma pools were created using samples collected at 1, 2, 4, 8 and 24 hours after the dose on Day 1 and Day 8. Relative differences in unchanged drug and metabolites were established by comparing their MS peak areas.					
	MS Peak Area x 10^7 (Min-Max)[a]	**MS Peak Area Ratio: UD/Metabolite (Min-Max)[a]**			
Day	UD (Unchanged drug)	M6 (O-demethylation)	M8 (N-dealkylation)	M10 (N-demethylation)	M11 (addition of 1O)
1	1.429 - 2.193	735 - 1217	2132 - 4405	858 - 5670	ND
8[b]	4.849 - 6.204	1326 - 1614	1852 - 2692	479 - 673	2510 - 4032
Additional Information: The product formulation, and procedures for dose administration and sample collection (blood, plasma, urine and feces) are described in clinical study report Mod5.3.3.2/42756493EDI1001. Subjects enrolled in this study had advanced or refractory solid malignancy or lymphoma.					
Conclusions: Comparison of JNJ-42756493 and metabolite MS peak areas showed that unchanged drug was by far the main circulating entity in human plasma on Day 1 and 8. The results suggest that no metabolites should represent more than 10% of the total drug related material at steady state.					

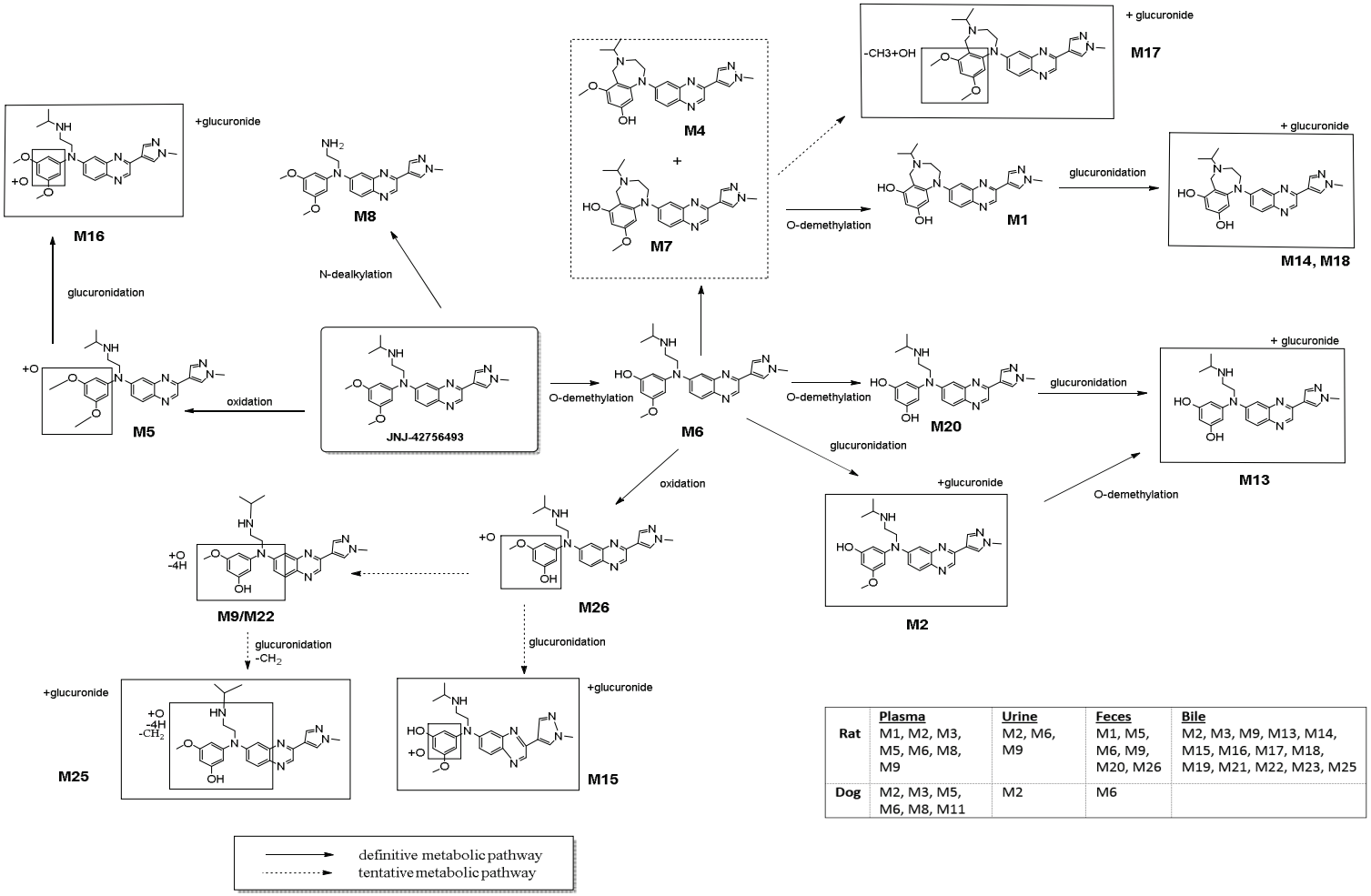
[a] Range of values for sample pools at the 1 to 24-h time points
[b] Plasma pooled from 3 subjects at 2-h time point

F = female; M = male; Max = maximum; Min = minimum; ND = not detected; No. = number; UPLC/MS = ultra performance liquid chromatography/mass spectrometry

2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路

2.6.5.11　A　薬物動態試験：推定代謝経路（ラット及びイヌ）

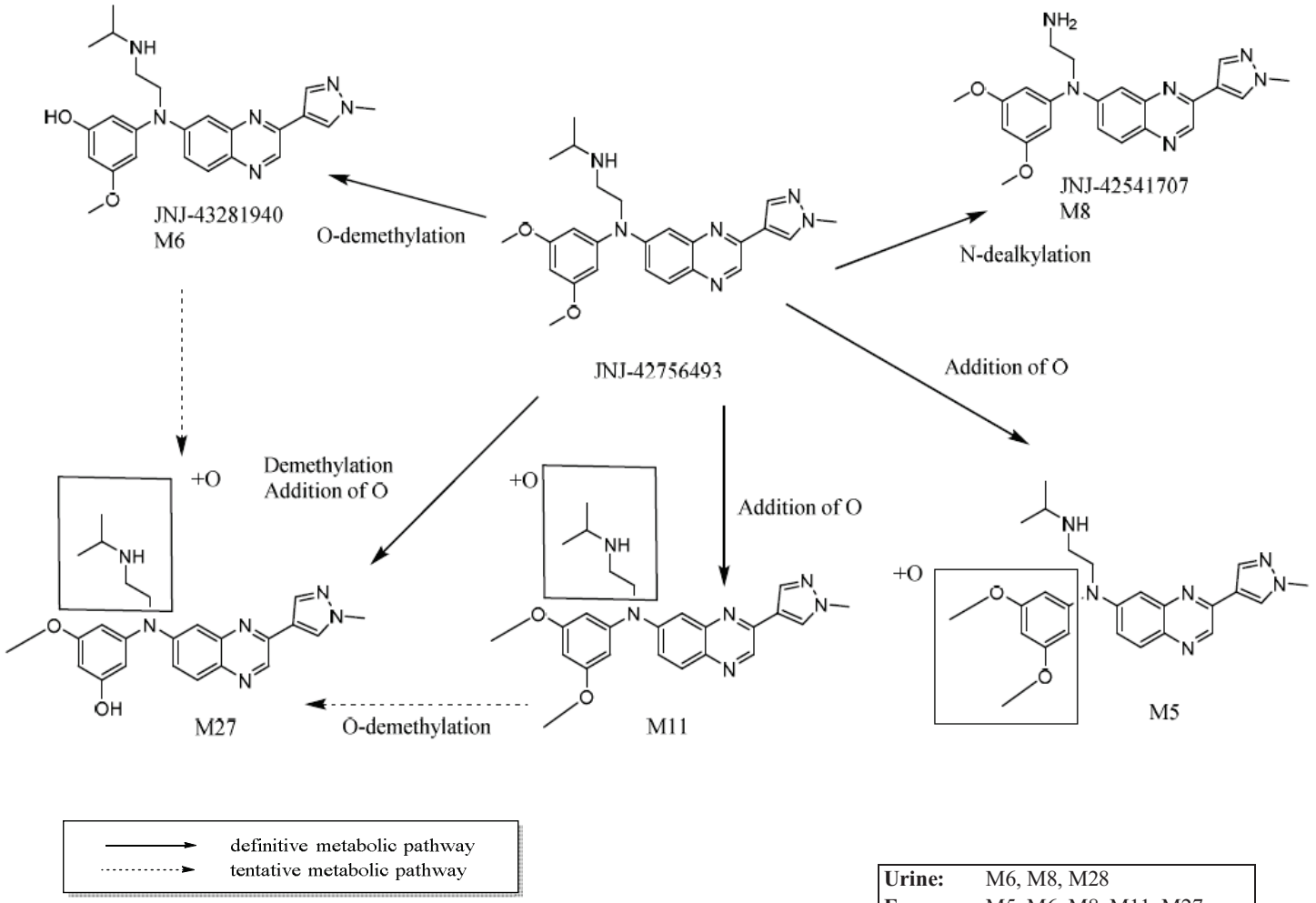
Test Article: JNJ-42756493



	Plasma	Urine	Feces	Bile
Rat	M1, M2, M3, M5, M6, M8, M9	M2, M6, M9	M1, M5, M6, M9, M20, M26	M2, M3, M9, M13, M14, M15, M16, M17, M18, M19, M21, M22, M23, M25
Dog	M2, M3, M5, M6, M8, M11	M2	M6	

2.6.5.11　B　薬物動態試験：推定代謝経路（ヒト）

Test Article: JNJ-42756493



2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12　A　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害：*In vitro* 試験（酵素誘導）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK12003**
Location in CTD	4.2.2.4.11
Type of Study	Induction of CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 in Cryopreserved Human Hepatocytes

Method: The effects of 0.4 to 15 µmol/L JNJ-42756493 or of known CYP enzyme inducers on the expression of CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 were evaluated in cultures of cryopreserved primary human hepatocytes from three male donors (APA, BHL, and Hu8160). Cells were incubated with test compounds and positive controls (CYP1A2 - omeprazole; CYP2B6 - phenobarbital; and CYP3A4 - rifampicin) for 48 hours. Specific mRNA expression level was determined by reverse transcription-polymerase chain reaction. ATP cell viability and LDH release assays were used to assess cytotoxicity. CYP induction by the test compounds was then expressed as fold increases compared to VC levels (0.1% DMSO), and as a percentage relative to the increase observed with the respective PC. Induction was defined as a 2-fold or greater increase over VC values occurring in a dose-dependent manner, which translates into at least 20% of the PC induced levels.

		Fold Induction Relative to VC (VC=1) – mRNA Expression								
		Mean Fold Change ± Standard Error[a]								
Treatment	**Nominal Conc. (µmol/L)**	**CYP1A2**			**CYP2B6**			**CYP3A4**		
		APA	**BHL**	**Hu8160**	**APA**	**BHL**	**Hu8160**	**APA**	**BHL**	**Hu8160**
VC	-[b]	1.00 ± 0.05	1.00 ± 0.05	1.04 ± 0.18	1.03 ± 0.16	1.06 ± 0.27	1.03 ± 0.16	1.01 ± 0.10	1.03 ± 0.20	1.03 ± 0.17
PC	-[c]	334.43 ± 48.43	272.09 ± 16.32	299.18 ± 44.58	12.86 ± 2.14	28.97 ± 6.56	10.27 ± 1.68	15.11 ± 1.33	16.52 ± 1.94	19.70 ± 5.33
JNJ-42756493	0.4	1.19 ± 0.09	2.46 ± 0.14	2.39 ± 0.50	2.38 ± 0.09	6.34 ± 0.55	2.96 ± 0.45	1.16 ± 0.37	4.18 ± 0.34	1.88 ± 0.45
	2.0	1.96 ± 0.13	3.64 ± 0.12	3.80 ± 0.79	2.58 ± 0.09	6.40 ± 0.76	2.74 ± 0.48	1.47 ± 0.18	6.50 ± 0.46	2.16 ± 0.50
	5.0	2.34 ± 0.09	3.80 ± 0.31	3.30 ± 0.23	1.80 ± 0.03	3.80 ± 0.60	1.38 ± 0.04	0.83 ± 0.04	5.05 ± 0.38	1.54 ± 0.23
	7.5	1.47 ± 0.15	1.97 ± 0.65	0.80 ± 0.31	1.03 ± 0.13	2.76 ± 0.54	0.44 ± 0.10	0.41 ± 0.03	2.59 ± 0.67	0.51 ± 0.23
	10.0	*(0.27 ± 0.14)*	*(0.31 ± 0.09)*	*(0.10 ± 0.02)*	*(0.43 ± 0.11)*	*(0.92 ± 0.44)*	*(0.14 ± 0.01)*	*(0.08 ± 0.04)*	*(0.17 ± 0.06)*	*(0.08 ± 0.01)*
	12.5	*(0.06 ± 0.00)*	*(0.12 ± 0.04)*	*(0.08 ± 0.03)*	*(0.17 ± 0.04)*	*(0.48 ± 0.25)*	*(0.15 ± 0.03)*	*(0.02 ± 0.00)*	*(0.03 ± 0.01)*	*(0.06 ± 0.01)*
	15.0	*(0.03 ± 0.01)*	*(0.05 ± 0.02)*	*(0.06 ± 0.01)*	*(0.08 ± 0.00)*	*(0.32 ± 0.10)*	*(0.15 ± 0.02)*	*(0.00 ± 0.00)*	*(0.02 ± 0.01)*	*(0.04 ± 0.01)*

Additional Information: Fold induction versus VC calculated by dividing replicate CYP mRNA gene expression values by the mean of VC group. Values italicized and in parenthesis represent data with observed cytotoxicity.

[a] Data expressed as mean of triplicate samples ± standard error.
[b] VC = 0.1% DMSO
[c] PC for CYP1A2 = 50 µmol/L omeprazole; PC for CYP2B6 = 1 mmol/L phenobarbital; PC for CYP3A4 = 10 µmol/L rifampicin

ATP = adenosine 5'-triphosphate; Conc. = concentration; CYP = cytochrome P450; DMSO = dimethyl sulfoxide; LDH = lactic dehydrogenase; mRNA = messenger ribonucleic acid; No. = number; PC = positive control; VC = vehicle control; - = not applicables

(Continued)

2.6.5.12　A　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害：*In vitro* 試験（酵素誘導）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK12003**								
Location in CTD		4.2.2.4.11								
Type of Study		Induction of CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 in Cryopreserved Human Hepatocytes								
		Percent Induction Relative to Control (PC=100) – mRNA Expression								
	Nominal Conc.	**Mean Percent of Positive Control ± Standard Error[a]**								
		CYP1A2			**CYP2B6**			**CYP3A4**		
Treatment	**(µmol/L)**	**APA**	**BHL**	**Hu8160**	**APA**	**BHL**	**Hu8160**	**APA**	**BHL**	**Hu8160**
PC	-[b]	100.00 ± 14.53	100.00 ± 6.02	100.00 ± 14.95	100.00 ± 18.10	100.00 ± 23.49	100.00 ± 18.21	100.00 ± 9.4	100.00 ± 12.5	100.00 ± 28.53
JNJ-42756493	0.4	0.06 ± 0.03	0.54 ± 0.05	0.45 ± 0.17	11.46 ± 0.78	18.91 ± 1.97	20.98 ± 4.83	1.04 ± 2.64	20.32 ± 2.22	4.52 ± 2.42
	2.0	0.29 ± 0.04	0.97 ± 0.04	0.93 ± 0.27	13.11 ± 0.74	19.14 ± 2.74	18.57 ± 5.19	3.26 ± 1.25	35.27 ± 2.99	6.03 ± 2.67
	5.0	0.4 ± 0.03	1.03 ± 0.12	0.76 ± 0.08	6.48 ± 0.25	9.81 ± 2.14	3.87 ± 0.42	-1.27 ± 0.29	25.92 ± 2.47	2.74 ± 1.24
	7.5	0.14 ± 0.05	0.36 ± 0.24	-0.08 ± 0.10	0.03 ± 1.12	6.08 ± 1.95	-6.39 ± 1.09	-4.29 ± 0.22	10.04 ± 4.33	-2.81 ± 1.23
	10.0	*(-0.22 ± 0.04)*	*(-0.25 ± 0.03)*	*(-0.31 ± 0.01)*	*(-5.09 ± 0.89)*	*(-0.49 ± 1.56)*	*(-9.55 ± 0.13)*	*(-6.61 ± 0.29)*	*(-5.60 ± 0.39)*	*(-5.10 ± 0.07)*
	12.5	*(-0.28 ± 0.00)*	*(-0.33 ± 0.01)*	*(-0.32 ± 0.01)*	*(-7.24 ± 0.33)*	*(-2.08 ± 0.88)*	*(-9.46 ± 0.37)*	*(-7.02 ± 0.02)*	*(-6.46 ± 0.07)*	*(-5.18 ± 0.05)*
	15.0	*(-0.29 ± 0.00)*	*(-0.35 ± 0.01)*	*(-0.33 ± 0.00)*	*(-8.00 ± 0.04)*	*(-2.65 ± 0.35)*	*(-9.52 ± 0.20)*	*(-7.13 ± 0.00)*	*(-6.56 ± 0.04)*	*(-5.31 ± 0.03)*
Additional Information: Percent induction relative to control calculated by subtracting mean VC fold change from individual treatment fold change, then dividing by mean VC fold change subtracted from mean PC fold change. Values italicized and in parenthesis represent data with observed cytotoxicity.										

[a] Data expressed as mean of triplicate samples ± standard error.

[b] PC for CYP1A2 = 50 µmol/L omeprazole; PC for CYP2B6 = 1 mmol/L phenobarbital; PC for CYP3A4 = 10 µmol/L rifampicin

Conc. = concentration; CYP = cytochrome P450; mRNA = messenger ribonucleic acid; No. = number; PC = positive control; VC = vehicle control; - = not applicable

2.6.5.12 B 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害：*In vitro* 試験（酵素誘導）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK13265**
Location in CTD	4.2.2.4.12
Type of Study	Induction of CYPs in Cryopreserved Human Hepatocytes

Method: Cryopreserved human hepatocytes from 3 different donors (APA, BHL, and Hu8160) were incubated with JNJ-42756493 and PCs (CYP1A2 – omeprazole; CYP2B6 - phenobarbital; and CYP3A4 - rifampicin) for 48 hours. In addition, dose response in induction was measured for rifampicin and efavirenz, positive control inducers of CYP3A4 and 2B6, respectively. Specific mRNA expression level was determined by reverse transcription-polymerase chain reaction. An LDH release assay assessed cytotoxicity. CYP induction by the test compounds was then expressed as fold increases compared to VC levels (0.1% DMSO), and as a percentage relative to the increase observed with the respective PC. Induction is defined as a 2-fold or greater increase over VC values occurring in a dose-dependent manner, which translates into at least 20% of the positive control induced levels.

		Fold Induction Relative to VC (VC=1) – mRNA Expression								
		Mean Fold Change ± Standard Error[a]								
Treatment	**Nominal Conc. (µmol/L)**	**CYP1A2**			**CYP2B6**			**CYP3A4**		
		APA	**BHL**	**Hu8160**	**APA**	**BHL**	**Hu8160**	**APA**	**BHL**	**Hu8160**
VC	-[b]	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1
PC	-[b]	298 ± 20	152 ± 16	238 ± 15	9.5 ± 2.1	13 ± 1.9	12 ± 2.2	9.7 ± 0.1	7.0 ± 0.2	19 ± 1.6
JNJ-42756493	0.005	1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.4 ± 0.1	2.1 ± 0.2	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	2.2 ± 0.2	1.3 ± 0.1
	0.01	1.2 ± 0.0	1.6 ± 0.1	1.1 ± 0.0	1.4 ± 0.1	2.2 ± 0.3	1.5 ± 0.0	1.2 ± 0.0	2.3 ± 0.3	1.3 ± 0.1
	0.02	1.2 ± 0.0	1.6 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.4 ± 0.1	2.1 ± 0.2	1.4 ± 0.1	1.1 ± 0.1	2.0 ± 0.2	1.2 ± 0.1
	0.05	1.1 ± 0.1	1.8 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.1	2.3 ± 0.3	1.5 ± 0.1	1.0 ± 0.1	2.2 ± 0.3	1.1 ± 0.1
	0.075	1.1 ± 0.1	1.7 ± 0.2	1.0 ± 0.1	1.4 ± 0.1	2.1 ± 0.3	1.8 ± 0.1	1.0 ± 0.0	2.0 ± 0.4	1.2 ± 0.0
	0.1	1.2 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.2 ± 0.0	1.4 ± 0.1	2.4 ± 0.2	1.9 ± 0.3	1.0 ± 0.0	2.4 ± 0.1	1.2 ± 0.0
	0.2	1.3 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.6 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.1 ± 0.3	1.1 ± 0.0	2.2 ± 0.1	1.5 ± 0.2
	0.4	1.5 ± 0.1	2.2 ± 0.1	1.4 ± 0.1	2.2 ± 0.2	4.2 ± 0.2	2.0 ± 0.4	1.9 ± 0.1	4.4 ± 0.5	1.7 ± 0.3
	1.0	1.8 ± 0.2	2.3 ± 0.0	1.6 ± 0.0	2.0 ± 0.1	2.6 ± 0.1	1.9 ± 0.4	1.3 ± 0.1	3.2 ± 0.2	1.5 ± 0.2
	2.0	2.2 ± 0.1	2.6 ± 0.2	2.0 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.2 ± 0.1	1.4 ± 0.1	3.2 ± 0.3	2.0 ± 0.1
	3.0	2.8 ± 0.1	3.3 ± 0.4	2.6 ± 0.2	2.3 ± 0.3	3.1 ± 0.8	1.6 ± 0.2	2.6 ± 0.1	5.5 ± 1.3	2.9 ± 0.2
Efavirenz	0.05	-	-	-	0.9 ± 0.0	1.1 ± 0.1	2.5 ± 0.8	-	-	-
	0.1	-	-	-	1.0 ± 0.0	1.3 ± 0.1	2.0 ± 0.7	-	-	-
	0.3	-	-	-	1.4 ± 0.1	2.3 ± 0.9	3.0 ± 1.4	-	-	-
	1.0	-	-	-	2.1 ± 0.1	6.3 ± 3.7	6.1 ± 2.7	-	-	-
	3.0	-	-	-	3.7 ± 0.3	13.4 ± 7.0	8.9 ± 3.8	-	-	-
	5.0	-	-	-	3.9 ± 0.4	4.7 ± 0.9	12 ± 4.8	-	-	-
	10	-	-	-	5.2 ± 0.5	9.7 ± 5.7	5.2 ± 2.7	-	-	-
Rifampicin	0.005	-	-	-	-	-	-	1.5 ± 0.3	1.6 ± 0.1	1.4 ± 0.1
	0.025	-	-	-	-	-	-	4.2 ± 2.4	2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.2
	0.125	-	-	-	-	-	-	3.7 ± 0.4	4.4 ± 0.4	5.5 ± 0.2
	0.375	-	-	-	-	-	-	6.4 ± 0.5	7.1 ± 0.1	9.4 ± 0.8
	0.75	-	-	-	-	-	-	6.9 ± 0.7	6.7 ± 0.3	11 ± 0.3
	1.5	-	-	-	-	-	-	8.1 ± 0.5	8.2 ± 0.5	14 ± 0.5
	3.0	-	-	-	-	-	-	8.9 ± 0.3	8.2 ± 0.3	16 ± 0.9
	4.5	-	-	-	-	-	-	9.5 ± 0.1	9.4 ± 0.2	20 ± 0.9
	6.0	-	-	-	-	-	-	11 ± 0.5	7.7 ± 0.3	19 ± 0.3
	8.0	-	-	-	-	-	-	12 ± 0.5	9.4 ± 0.9	21 ± 0.7

[a] Data expressed as mean of triplicate samples ± standard error.
[b] VC = 0.1% DMSO; PC for CYP1A2 = 50 µmol/L omeprazole; PC for CYP2B6 = 1 mmol/L phenobarbital; PC for CYP3A4 =10 µmol/L rifampicin
Conc. = concentration; CYP = cytochrome P450; DMSO = dimethyl sulfoxide; LDH = lactic dehydrogenase; mRNA = messenger ribonucleic acid; PC = positive control; VC = vehicle control; - = not applicable

(Continued)

2.6.5.12 B 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害：*In vitro* 試験（酵素誘導）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK13265**								
Location in CTD		4.2.2.4.12								
Type of Study		Induction of CYPs in Cryopreserved Human Hepatocytes								
		Percent Induction Relative to Control (PC=100) – mRNA Expression								
		Mean Percent of Positive Control ± Standard Error[a]								
	Nominal Conc.	**CYP1A2**			**CYP2B6**			**CYP3A4**		
Treatment	**(µmol/L)**	**APA**	**BHL**	**Hu8160**	**APA**	**BHL**	**Hu8160**	**APA**	**BHL**	**Hu8160**
PC	-[b]	100 ± 6.8	100 ± 10.0	100 ± 6.2	100 ± 24.2	100 ± 15.2	100 ± 19.6	100 ± 1.6	100 ± 3.2	100 ± 9.1
JNJ-42756493	0.005	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.0 ± 0.0	5.0 ± 1.7	9.0 ± 1.3	3.3 ± 0.7	2.9 ± 0.8	20 ± 3.9	1.4 ± 0.3
	0.01	0.1 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.2 ± 1.2	9.3 ± 2.3	3.9 ± 0.4	0.9 ± 0.7	21 ± 4.9	1.5 ± 0.4
	0.02	0.1 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.0 ± 0.0	3.7 ± 1.5	9.1 ± 1.5	3.1 ± 1.0	-0.2 ± 0.5	17 ± 3.3	0.9 ± 0.4
	0.05	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.2	0.0 ± 0.0	4.1 ± 1.5	10 ± 2.2	3.7 ± 1.3	-0.1 ± 0.5	20 ± 5.0	0.6 ± 0.3
	0.075	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.0 ± 0.0	4.5 ± 1.2	8.9 ± 2.4	6.7 ± 0.7	1.9 ± 0.2	16 ± 6.2	0.9 ± 0.1
	0.1	0.1 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.1 ± 0.0	4.3 ± 1.4	12 ± 1.8	7.5 ± 2.5	-0.6 ± 0.7	23 ± 2.4	1.0 ± 0.2
	0.2	0.1 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1	6.6 ± 1.7	10 ± 0.8	9.6 ± 3.1	0.6 ± 0.2	20 ± 1.5	2.5 ± 1.2
	0.4	0.2 ± 0.0	0.8 ± 0.1	0.2 ± 0.1	15 ± 2.0	26 ± 1.6	8.8 ± 3.4	9.7 ± 1.6	56 ± 7.8	3.6 ± 1.5
	1.0	0.3 ± 0.1	0.9 ± 0.0	0.3 ± 0.0	11 ± 1.1	13 ± 0.9	7.7 ± 3.2	2.7 ± 1.1	37 ± 4.1	2.8 ± 1.3
	2.0	0.4 ± 0.0	1.0 ± 0.1	0.4 ± 0.1	14 ± 2.7	9.5 ± 1.2	10 ± 1.0	4.9 ± 1.3	37 ± 4.9	5.5 ± 0.4
	3.0	0.6 ± 0.0	1.5 ± 0.3	0.7 ± 0.1	15 ± 3.3	17 ± 6.1	5.3 ± 1.7	18 ± 0.8	75 ± 22	11 ± 1.2
Efavirenz	0.05	-	-	-	-1.6 ± 0.5	1.0 ± 1.0	13 ± 7.0	-	-	-
	0.1	-	-	-	-0.2 ± 0.5	2.5 ± 0.7	8.2 ± 6.6	-	-	-
	0.3	-	-	-	4.3 ± 1.3	10 ± 7.0	18 ± 13	-	-	-
	1.0	-	-	-	13 ± 1.1	43 ± 30	45 ± 24	-	-	-
	3.0	-	-	-	31 ± 3.4	93 ± 57	71 ± 34	-	-	-
	5.0	-	-	-	34 ± 4.4	30 ± 7.1	95 ± 43	-	-	-
	10	-	-	-	49 ± 5.4	71 ± 47	37 ± 24	-	-	-
Rifampicin	0.005	-	-	-	-	-	-	5.3 ± 3.7	9.4 ± 1.3	2.3 ± 0.4
	0.025	-	-	-	-	-	-	36 ± 28	22 ± 0.9	6.9 ± 1.0
	0.125	-	-	-	-	-	-	31 ± 4.2	57 ± 6.3	25 ± 1.1
	0.375	-	-	-	-	-	-	62 ± 5.2	103 ± 2.2	48 ± 4.6
	0.75	-	-	-	-	-	-	68 ± 8.4	95 ± 5.6	59 ± 1.9
	1.5	-	-	-	-	-	-	82 ± 5.9	120 ± 8.1	74 ± 2.7
	3.0	-	-	-	-	-	-	91 ± 3.3	120 ± 5.6	88 ± 5.1
	4.5	-	-	-	-	-	-	98 ± 1.6	141 ± 3.7	108 ± 5.3
	6.0	-	-	-	-	-	-	119 ± 5.2	112 ± 5.6	105 ± 1.5
	8.0	-	-	-	-	-	-	122 ± 5.7	141 ± 15	116 ± 4.0

Additional Information: FK13265 utilized lower concentrations than a previous study (Mod4.2.2.4.11/FK12003), which showed inconclusive results and potential cytotoxicity at some of the concentrations tested. Cytotoxicity was not observed for any of the tested compounds. Linear slope analysis values for JNJ-42756493 were 0.50 (APA), 0.39 (BHL), and 0.92 (Hu8160). Comparison of JNJ-42756493 slope values to the slope of rifampicin (using E_{max}/EC_{50}) were calculated to be: 1.07 (APA), 0.40 (BHL), and 2.37% (Hu8160).
In human hepatocytes, JNJ-42756493 was a weak inducer of CYP3A4 in 1 of 3 donors tested (BHL: 2.0 to 5.5-fold increase), but was not an inducer of CYP1A2 and CYP2B6 mRNA.

[a] Data expressed as mean of triplicate samples ± standard error.
[b] PC for CYP1A2 = 50 µmol/L omeprazole; PC for CYP2B6 = 1 mmol/L phenobarbital; PC for CYP3A4 =10 µmol/L rifampicin

Conc. = concentration; CYP = cytochrome P450; EC_{50} = 50% effective concentration; E_{max} = maximum effect; mRNA = messenger ribonucleic acid; PC = positive control; - = not applicable

2.6.5.12　C　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害：*In vitro* 試験（酵素阻害）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**ADME_22183 and ADME_31191**
Location in CTD	4.2.2.4.13
Type of Study	CYP Inhibition in Human Liver Microsomes

Method: The inhibition potential of JNJ-42756493 was determined in human liver microsomes using specific probe substrates known to be selectively metabolized to define metabolites by the isoforms under investigation. Samples were analysed by LC/MS method, and % inhibition of substrate metabolism was calculated based on metabolite measured in the presence and absence of the test article. If applicable, IC_{50} was calculated.

CYP Isoform	**Probe Substrate**	**Incubation Time (min)**	**Substrate Concentration (µmol/L)**	**JNJ-42756493 IC_{50} (µmol/L)**	**Inhibition (%)**	**Positive Control Inhibitor**	**Positive Control Inhibitor IC_{50} (µmol/L)**
CYP1A2	Phenacetin	15	80	>15*	4	α-Naphthoflavone	0.009
CYP2C8	Amodiaquine	15	2	>15*	7	Quercetin	4.86
CYP2C9	Tolbutamide	10	100	>15*	15	Sulfaphenazole	0.29
CYP2C19	S-Mephenytoin	30	30	>15*	7	Benzophenobarbital	0.094
CYP2D6	Dextromethorphan	15	3	>15*	25	Quinidine	0.025
CYP3A4/5	Midazolam	5	2	>15*	10	Ketoconazole	0.018
CYP3A4	Testosterone	10	25	>15*	18	Ketoconazole	0.013

Additional Information:
JNJ-42756493 (both batches [redacted] and [redacted]) was not sufficiently soluble under the standard conditions for the assay and hence the maximum tested concentration was reduced. The final incubated concentration range was 15 µmol/L – 0.021 µmol/L (0.15% DMSO and 0.46% acetonitrile).

*IC_{50} not achieved within the study

CYP = cytochrome P450; DMSO = dimethyl sulfoxide; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LC/MS = liquid chromatography-mass spectrometry; No. = number

2.6.5.12　D　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害：*In vitro* 試験（酵素阻害）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK10109**
Location in CTD	4.2.2.4.14
Type of Study	Time-Dependent Inhibition[a] of 5 Major CYP Enzymes in Human Liver Microsomes

Method: Pooled human liver microsomes (mixed gender) were pre-incubated with JNJ-42756493 or reference (PC) inhibitors at a range of concentrations (0.1 to 100 µmol/L) for 60 minutes with and without NRS. At the end of preincubation, mixture was diluted 20-fold with incubation buffer and respective probe substrate was added and after an incubation period of 15 mins (CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) or 40 mins (CYP2C19), incubation was stopped and the samples were analyzed with UPLC. A >15% decrease in CYP activity (or 10% decrease in activity for CYP2C19) with preincubation +NRS compared to preincubation –NRS, along with the % inhibition seen for direct inhibition, is regarded as potential time-dependent interaction; these findings and the addition of a relatively low APR is indicative of time-dependent based inactivation.

			JNJ-42756493 (0.1 to 100 µmol/L during preincubation)			**PC Inhibitors (0.005 to 5 µmol/L during preincubation)**			
CYP Isoform	**Probe Substrate (Conc. in µmol/L)**	**Metabolic Activity**	**% Inactivation at 100 µmol/L (+NRS)**	**% Time-Dependent Effect at 100 µmol/L (-NRS vs. +NRS)**	**APR**	**PC Inhibitor**	**% Inactivation at 5 µmol/L (+NRS)**	**% Time-Dependent Effect at 5 µmol/L (-NRS vs. +NRS)**	**APR**
CYP1A2	Phenacetin (400)	O-deethylation	0.00	0.00	>2000[b]	Furafylline	70.7	72.6	9.02
CYP2C9	Tolbutamide (840)	4-methylhydroxylation	2.38	0.00	>1700[b]	Tienilic Acid	69.0	59.1	40.3
CYP2C19	(S)-Mephenytoin (160)	4-hydroxylation	0.80	0.00	>15000[b]	Ticlopidine	100	89.7	410
CYP2D6	Dextromethorphan (20)	O-demethylation	0.00	0.00	5220[b]	Paroxetine	83.3	66.5	68.9
CYP3A4	Testosterone (250)	6β-hydroxylation	84.86	67.27	225	Mifepristone	94.9	90.1	5.75

Additional Information: Based on an increase in inhibition of CYP3A4-mediated metabolism of testosterone after pre-incubation with JNJ-42756493 (ie, +43% from 10 µmol/L onwards) and the relatively low APR value of 225, it was concluded that JNJ-42756493 demonstrated weak time-dependent inhibition of CYP3A4 activity. JNJ-42756493 showed no signs of time-dependent inhibition on the activity of the additional major CYPs tested (ie, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6).

[a] The terminology mechanism-based inhibition is used in the study report; however, time-dependent inhibition is considered to be acceptable terminology for mechanism-based inhibition and has been used in this table and in Mod2.6.4.

[b] Irrelevantly high

APR = apparent partition ratio; Conc. = concentration; CYP = cytochrome P450; No. = number; NRS = NADPH regenerating system; PC = positive control; UPLC = ultra performance liquid chromatography

2.6.5.12　E　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害：*In vitro* 試験（酵素阻害）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11141**													
Location in CTD	4.2.2.4.15													
Type of Study	Time-Dependent Inhibition[a] Potential of CYP3A4 in Pooled Human Liver Microsomes													
Method: 150 pooled (mixed gender) human liver microsomes (assays performed in triplicate) were pre-incubated with vehicle controls or different concentrations of JNJ-42756493 +NRS or -NRS for up to 100 mins. At the end of preincubation, mixture was diluted 20-fold with buffer and then incubated with the probe substrate (midazolam) +NRS for 5 mins, after which the incubation was stopped. Samples were examined for signs of potential time-dependent inhibition (K_I, $k_{obs,}$ Cl_{inact}), and values corrected for non-specific binding of JNJ-42756493 to microsomal protein. Erythromycin served as a reference inhibitor of CYP3A4 activity; Fu_{mic} values for erythromycin were determined, along with positive reference compounds for low, mid, and high binding (propranolol, amitriptyline, and astemizole). A Fu_{mic} value of 0.155 for JNJ-42756493 at 1 µmol/L and 1 mg microsomal protein/mL was determined in study Mod4.2.2.4.10/FK11143.													
	Average Ln (% Residual CYP3A4 activity) (n=3)													
	+NRS							**-NRS**						
	Total Concentration of JNJ-42756493 During Pre-incubation (µmol/L)							***Total Concentration of JNJ-42756493 During Pre-incubation (µmol/L)***						
	0	0.3	1	3	10	30	100	0	0.3	1	3	10	30	100
PI	***Unbound Concentration of JNJ-42756493 During Pre-incubation (µmol/L)***							***Unbound Concentration of JNJ-42756493 During Pre-incubation (µmol/L)***						
(min)	0	0.0465	0.155	0.465	1.55	4.65	15.5	0	0.0465	0.155	0.465	1.55	4.65	15.5
0	4.61	4.60	4.61	4.60	4.60	4.61	4.60	4.61	4.60	4.60	4.61	4.60	4.60	4.60
5	4.63	4.66	4.63	4.57	4.58	4.52	4.43	4.53	4.60	4.50	4.60	4.56	4.59	4.62
10	4.64	4.65	4.58	4.53	4.50	4.38	4.19	4.55	4.64	4.56	4.60	4.52	4.61	5.58
15	4.55	4.64	4.56	4.36	4.49	4.31	4.07	4.53	4.59	4.51	4.59	4.53	4.52	4.54
30	4.59	4.56	4.53	4.40	4.26	4.07	3.71	4.51	4.62	4.48	4.54	4.57	4.59	4.55
60	4.39	4.39	4.23	4.28	3.99	3.65	3.31	4.46	4.52	4.45	4.50	4.48	4.51	4.55
k_{obs} (min^{-1}) (up to 60 min)	0.00397	0.00422	0.00695	0.00510	0.00107	0.0157	0.0209	0.00187	0.00146	0.00193	0.00177	0.00131	0.00137	0.00093
$k_{obs, corrected}$ (min^{-1})[b]	ND	0.00248	0.00521	0.00336	0.00897	0.01340	0.0192	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Kinetic Inactivation Constants for Total JNJ-42756493 Concentrations													
K_I (µmol/L)	11.7							NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
k_{inact} (min^{-1})	0.0209							NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Cl_{inact} (L min^{-1} $mmol^{-1}$)	1.79							NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Kinetic Inactivation Constants for Unbound JNJ-42756493 Concentrations													
K_I (µmol/L)	1.81							NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
k_{inact} (min^{-1})	0.0209							NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Cl_{inact} (L min^{-1} $mmol^{-1}$)	11.5							NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Additional Information: Signs of time-dependent inhibition were observed from 3 µmol/L onwards. Plotting the natural logarithm of percentage residual CYP3A4 activity as a function of pre-incubation time for each inactivator concentration tested provided the k_{obs}, which was determined from the slopes of the initial linear decline in activity. From there, K_I (11.7 µmol/L) and k_{inact} (0.0209 min^{-1}) values were obtained from plotting k_{obs} against the total inhibitor concentration. After correcting for non-specific binding of JNJ-42756493 to microsomal protein (Fu_{mic} of 0.155), K_I decreased (1.81 µmol/L), and the corresponding CYP3A4 Cl_{inact} (11.5 L min^{-1} $mmol^{-1}$) increased. For erythromycin, a Fu_{mic} of 0.455 provided a calculated K_I of 2.26 µmol/L and a k_{inact} of 0.0287 min^{-1}; the corresponding CYP3A4 Cl_{inact} of erythromycin was 12.7 L min^{-1} $mmol^{-1}$. After correcting for Fu_{mic}, CYP3A4 Cl_{inact} of JNJ-42756493 was comparable to that of erythromycin, indicating that erythromycin and JNJ-42756493 were equally potent time-dependent inhibitors for CYP3A4 activity towards midazolam.													

[a] The terminology mechanism-based inhibition is used in the study report; however, time-dependent inhibition is considered to be acceptable terminology for mechanism-based inhibition and has been used in this table and in Mod2.6.4.

[b] Corrected for decrease in CYP3A4 activity during pre-incubation without NRS under the current experimental conditions.

Cl_{inact} = inactivation clearance, equivalent to k_{inact}/K_I; CYP = cytochrome P450; Fu_{mic} = non-specific binding (% unbound) to microsomes; K_I = half-maximal rate of inactivation; k_{inact} = maximum inactivation rate constant; k_{obs} = apparent inactivation rate constant; $k_{obs} = k_{inact} \times I/K_I + I$; Ln = naturel logarithm; No. or n = number; NA = not applicable; ND = not determined; NRS = NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) regenerating system; PI = pre-incubation

2.6.5.13　薬物動態試験：尿･糞中排泄

2.6.5.13　A　薬物動態試験：尿･糞中排泄（経口：マウス）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.		**FK12185**						
Location in CTD		4.2.2.4.5						
Species		Mouse						
Gender (M/F)/Number of Animals[a]		M:8 (WT) M:5 (P-gp KO: Mdr1a/b-Bcrp)						
Feeding Condition		Fed						
Vehicle/Formulation		20% hydroxypropyl-β-cyclodextrin						
Radionuclide		[^{14}C]JNJ-42756493						
Specific Activity		1.97 GBq/mmol						
Route		Oral gavage				IV (slow bolus: 2 minutes)		
Dose		1 mg/kg [4.412 MBq (119 µCi)/kg]				0.5 mg/kg [2.206 MBq (60 µCi)/kg]		
Assay		Liquid scintillation counting						
		Recovery of Total Radioactivity (Percent of Administered Dose)						
Excretion Route		Feces		Urine		Feces	Urine	
Time (h)		0-7	7-24	0-24	Total[a]	0-48	0-48	Total[a]
Strain	WT	24	50	2	76	38	10	48
	KO	4	51	4	59	38	12	50

[a] Sum of radioactivity recovered in feces and urine

F = female; IV = intravenous; KO = knockout; M = male; No. = number; P-gp = P-glycoprotein; WT = wild type

2.6.5.13　B　薬物動態試験：尿･糞中排泄（経口：ラット及びイヌ）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK10110**							
Location in CTD	4.2.2.4.1							
Species	Rat				Dog			
Gender (M/F)/Number of Animals	M:3				M:2			
Feeding Condition	Fed				Fed			
Vehicle/Formulation	10% hydroxypropyl-β-cyclodextrin				10% hydroxypropyl-β-cyclodextrin			
Route	Oral				Oral			
Radionuclide	[^{3}H]JNJ-42756493				[^{3}H]JNJ-42756493			
Specific Activity	517 GBq/mmol				518 GBq/mmol			
Assay	Liquid scintillation counting				Liquid scintillation counting			
	Recovery of Total Radioactivity (Percent of Administered Dose)[a]							
Dose (mg/kg)	4		60		0.25		1	
Excretion Route	Urine	Feces	Urine	Feces	Urine	Feces	Urine	Feces
Time (h)								
0-8	1.18 (0.35)	-	0.818 (0.419)	-	2.55	-	2.59	-
8-24	0.967 (0.366)	-	1.95 (0.76)	-	1.62	-	1.62	-
0-24	-	85.0 (3.4)	-	77.0 (3.1)	-	32.4	-	0.105
24-48	0.108 (0.011)	3.39 (1.67)	0.134 (0.055)	10.3 (3.9)	0.731	41.8	1.55	69.7
48-72	0.0583 (0.0094)	0.336 (0.318)	0.102 (0.053)	0.275 (0.14)	0.537	1.63	0.530	5.43
Subtotal	2.32 (0.13)	88.7 (1.6)	2.73 (0.26)	87.6 (1.0)	5.44	75.8	6.30	75.2
Total (urine + feces)	91.0 (1.5)		90.4 (0.9)		81.2		81.5	

[a] Mean (SD)

- = not detected; F = female; M = male; SD = standard deviation

2.6.5.13　C　薬物動態試験：尿･糞中排泄（経口：ヒト）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK12055**		
Location in CTD	4.2.2.4.3		
Species	Human		
Gender (M/F)/Number of Subjects	M:8 (5 extensive and 3 poor CYP2D6 metabolizers)		
Feeding Condition	Fasted		
Vehicle/Formulation	Aqueous solution		
Route	Oral		
Radionuclide	[^{14}C]JNJ-42756493		
Specific Activity	147 kBq/mg		
Dose (mg)	12 mg [1.85 MBq (~50 µCi)/subject]		
Assay	Liquid scintillation counting		
	Recovery of Total Radioactivity (Percent of Administered Dose)[a,b]		
	Excretion Route		Total
Time (h)	Urine	Feces	(Urine + Feces)
0-6	0.854 (0.392)	-	0.855 (0.392)
0-12	1.97 (0.575)	-	1.97 (0.575)
0-18	3.09 (0.859)	-	3.10 (0.858)
0-24	4.74 (1.41)	0.126 (0.260)	4.87 (1.36)
0-30	5.64 (1.50)	-	5.77 (1.42)
0-36	6.59 (1.70)	-	6.71 (1.61)
0-48	8.59 (2.14)	4.02 (4.02)	12.6 (5.58)
0-72	11.8 (2.4)	15.5 (9.59)	27.3 (10.3)
0-96	13.5 (2.63)	32.0 (13.1)	45.4 (14.6)
0-120	14.5 (2.67)	41.4 (10.7)	55.9 (12.3)
0-144	15.4 (2.79)	47.4 (11.5)	62.8 (12.9)
0-168	16.3 (2.88)	53.0 (9.43)	69.3 (10.6)
0-192	16.9 (2.94)	56.6 (9.72)	73.5 (11.2)
0-216	17.4 (2.88)	60.1 (8.10)	77.5 (9.54)
0-240	17.9 (2.88)	63.1 (6.99)	81.0 (8.11)
0-264	18.2 (2.87)	65.5 (5.76)	83.6 (6.72)
0-288	18.3 (2.87)	66.8 (5.39)	85.1 (6.50)
0-312	18.6 (2.85)	67.8 (5.46)	86.4 (6.43)
0-336	18.6	68.2	86.8
0-360	18.7	68.7	87.4
0-384	18.7	68.7	87.4
Additional Information: Recovery of radioactivity for extensive and poor CYP2D6 metabolizers was comparable (69.9% and 66.4% in feces; 19.2% and 17.8% in urine).			

[a] Mean (SD) for 8 subjects

[b] Cumulative recovery of radioactivity (0-312 h) for each matrix for the subject was included in the mean and SD calculations for subsequent collection intervals (up to 360 h for 1 subject, and up to 384 h for a second subject).

- = not detected; F = female; M = male; SD = standard deviation

2.6.5.14　薬物動態試験：胆汁中排泄

2.6.5.14　A　薬物動態試験：胆汁中排泄（経口：胆管カニューレ処置ラット）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11144**				
Location in CTD	4.2.2.4.2				
Species	**Rat**				
Gender (M/F)/Number of Animals	M:3 (BDC); M:2 (Intact)				
Feeding Condition	Fed				
Vehicle/Formulation	10% hydroxypropyl-β-cyclodextrin, pH 4.0				
Route	Oral gavage				
Dose (mg/kg)	4 mg/kg [1.48 MBq (40 µCi)/kg]				
Radionuclide	[^{14}C]JNJ-42756493				
Specific Activity	1.97 GBq/mmol				
Assay	Liquid scintillation counting				
	Excretion of Total Radioactivity (Percent of Administered Dose)[a]				
	BDC Rats			Intact Rats	
Time (h)	Bile	Urine	Feces	Urine	Feces
0-4	29.90 (13.20)	-	-	-	-
4-7	11.40 (3.04)	-	-	-	-
7-24	7.77 (3.11)	-	-	-	-
0-24	-	10.80 (11.50)	24.70 (20.40)	2.51	92.50
24-48	0.82 (0.48)	1.60 (2.37)	12.00 (12.50)	0.06	2.54
Subtotal	47.90 (17.40)	12.40 (13.60)	30.60 (8.61)	2.57	95.10
Sum of Subtotals	91.00 (6.78)			97.60	

[a] Mean (SD)

- = not applicable; BDC = bile duct-cannulated; F = female; M = male; No. = number; SD = standard deviation

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15　A　薬物動態試験：薬物相互作用（P-gp）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**ADME_14455 & ADME_24540 & ADME_24456**
Location in CTD	4.2.2.6.1
Type of Study	ABCB1 (P-gp, MDR1) Mediated Transport of JNJ-42756493 in the LLC-PK1-ABCB1 Cell Line and Determination of Permeability in a Caco-2 Cell Line

Method: Transport ratio of JNJ-42756493 in LLC-PK1-ABCB1 cells was determined in 2 independent studies (ADME_14455 and ADME_24540) to determine if ABCB1 (P-gp) can mediate transport of JNJ-42756493. For the ABC transport study, LLC-PK1-ABCB1 cells were seeded on Day 0 on 24-well cell culture inserts at 100% confluency. On Day 5, the transport study was performed in triplicate. [^{3}H]digoxin was included as control compound for ABCB1 mediated transport. GF120918 was included as control compound to inhibit ABCB1. During the preincubation period, the compartments were washed twice with HBSS$^{+/+}$. HBSS$^{+/+}$ was replaced with Optimem medium (containing 1% BSA, 37ºC), with or without GF120918 or JNJ-42756493; these were added to the media of both compartments. After an incubation period of 2 hours, the media were removed and the experiment was started by applying Optimem medium (containing 1% BSA, 37ºC), along with the proper amount of compounds, to the AP and BL compartments.
Bidirectional permeability of JNJ-42756493 was determined in Caco-2 cells (ADME_24456). For the Caco-2 permeability study, Caco-2 cells were seeded on 24-well cell culture inserts at 63,000 cells/cm^2; the experiment was performed ~21 days after seeding. Validation of transcellular transport in Caco-2 monolayers was performed using [^{3}H]atenolol and [^{3}H]levocabastine (low and high permeability control, respectively). Test solution was added to the apical or basolateral side of the monolayers to initiate experiment in the A→B and B→A direction. Incubation period (in a humidified incubator containing 5% CO_2, 37ºC) was 2 hours.

LLC-PK1-ABCB1 Cells

ADME_14455					**ADME_24540**				
Transported Compound (Condition)	**Direction**	**P_{app} ± SD (10^{-6} cm/s)**	**Ratio BA/AB ± SD**	**Normalized Net Efflux Ratio ± SD**	**Transported Compound (Condition)**	**Direction**	**P_{app} ± SD (10^{-6} cm/s)**	**Ratio BA/AB ± SD**	**Normalized Net Efflux Ratio ± SD**
Digoxin (30 nmol/L) (-)	BA	12.4 ± 0.68	25.7 ± 6.1	31.3 ± 14	Digoxin (30 nmol/L) (-)	BA	10.09 ± 0.20	11.6	13.7
	AB	0.48 ± 0.11				AB	0.87[a]		
Digoxin (30 nmol/L) (+ 5 µmol/L GF120918)	BA	3.21 ± 1.20	0.82 ± 0.32		Digoxin (30 nmol/L) (+5 µmol/L GF120918)	BA	2.85 ± 0.11	0.85 ± 0.08	
	AB	3.92 ± 0.36				AB	3.36 ± 0.29		
JNJ-42756493 (1 µmol/L) (-)	BA	17.2 ± 1.15	2.60 ± 0.28	5.91 ± 0.88	JNJ-42756493 (1 µmol/L) (-)	BA	20.17 ± 2.07	2.54 ± 0.26	5.08 ± 0.58
	AB	6.61 ± 0.57				AB	7.94 ± 0.00		
JNJ-42756493 (1 µmol/L) (+5 µmol/L GF120918)	BA	8.60 ± 0.57	0.44 ± 0.045		JNJ-42756493 (1 µmol/L) (+5 µmol/L GF120918)	BA	9.92 ± 0.00	0.50 ± 0.03	
	AB	19.5 ± 1.52				AB	19.84 ± 0.99		

Caco-2 Cells

ADME_24456

Transported Compound (Condition)	**Direction**	**P_{app} ± SD (10^{-6} cm/s)**
Atenolol (20 µmol/L)	BA	0.63 ± 0.12
	AB	0.30 ± 0.03
Levocabastine (20 µmol/L)	BA	16.7 ± 0.36
	AB	11.3 ± 0.52
JNJ-42756493 (1 µmol/L)	BA	10.1 ± 1.08
	AB	7.00 ± 0.63

Additional Information: Results showed that JNJ-42756493 is a transporter substrate of ABCB1, and has a moderate to high permeability in Caco-2 cell monolayers.

[a] n=2, 1 outlier removed (0.87 is average of 0.85 and 0.88; and 2.08 is not included in the calculations).

(-) = without inhibitor GF120918; A = apical; B = basolateral; BSA = bovine serum albumin; HBSS = Hanks' Balanced Salt Solution; LLC-PK1 = Lilly laboratory cancer porcine kidney 1; MDR1 = multidrug resistance 1; n, No. = number; P_{app} = apparent permeability; P-gp = p-glycoprotein; SD = standard deviation

2.6.5.15　B　薬物動態試験：薬物相互作用（P-gp）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11164**
Location in CTD	4.2.2.6.2
Type of Study	P-gp (P-gp, MDR1, ABCB1) Mediated Transport of [^{3}H]JNJ-42756493 and the Inhibition Potential of JNJ-42756493 on P-gp Transport in LLC-PK1 Cell Line Overexpressing this Transporter

Method: On Day 0, the cells (parental LLC-PK1 cells and transfected LLC-PK1-MDR1 cells) were seeded on 24-well cell culture inserts. After 24 hours and on Day 4 the media in both compartments was replaced, and on Day 5 the transport study was conducted. The cell monolayers were pre-incubated in TM with or without the appropriate inhibitors. After 1 hour, the media were removed and the experiment was started by applying TM, which contained reference substrate ([^{3}H]digoxin, [^{3}H]quinidine, [^{3}H]talinolol), or [^{3}H]JNJ-42756493 and reference inhibitor (GF120918) to the apical or basolateral compartments (inhibitors in both); inserts were incubated at 37ºC in a humidified incubator containing 5% CO_2. Transport experiments were performed in triplicate. The unbound K_m for the P-gp mediated transport of [^{3}H]JNJ-42756493 and the $IC_{50,u}$ of JNJ-42756493 towards the P-gp-mediated transport of 30 nmol/L [^{3}H]digoxin was estimated.

Transepithelial P-gp-Mediated Transport with or without Inhibitor (GF120918)

	Parental LLC-PK1 Cells			**Transfected LLC-PK1-MDR1 Cells**		
Condition	**P_{app} AB ± SD (x 10^{-6} cm/s)**	**P_{app} BA ± SD (x 10^{-6} cm/s)**	**Ratio BA/AB**	**P_{app} AB ± SD (x 10^{-6} cm/s)**	**P_{app} BA ± SD (x 10^{-6} cm/s)**	**Ratio BA/AB**
30 nmol/L [^{3}H]digoxin + DMSO	2.13 ± 0.07	5.22 ± 0.27	2.46	0.79 ± 0.07	9.85 ± 0.08	12.5
30 nmol/L [^{3}H]digoxin + 5 µmol/L GF120918	3.50 ± 0.16	2.97 ± 0.27	0.85	3.61 ± 0.18	3.28 ± 0.24	0.91
0.007 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	17.6 ± 0.75	5.77 ± 0.41	0.33	3.83 ± 0.12	13.2 ± 5.43	3.44
0.01 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 5 µmol/L GF120918	21.3 ± 0.82	8.11 ± 0.48	0.38	22.8 ± 0.42	8.92 ± 0.57	0.39
0.02 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	20.7 ± 0.70	6.70 ± 0.16	0.32	4.95 ± 0.19	18.2 ± 0.75	3.67
0.02 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 5 µmol/L GF120918	21.0 ± 0.91	8.63 ± 0.10	0.41	22.2 ± 0.54	8.91 ± 0.22	0.40
0.08 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	18.5 ± 0.35	6.05 ± 0.28	0.33	4.41 ± 0.08	19.7 ± 0.36	4.47
0.08 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 5 µmol/L GF120918	20.0 ± 0.39	8.11 ± 0.46	0.41	21.7 ± 0.27	9.14 ± 0.37	0.42
0.3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	20.3 ± 1.26	7.21 ± 0.19	0.36	5.99 ± 0.18	21.8 ± 0.28	3.64
0.3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 5 µmol/L GF120918	21.2 ± 0.10	8.81 ± 0.34	0.42	22.7 ± 0.21	9.62 ± 0.49	0.42
1 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	19.2 ± 0.39	7.88 ± 0.52	0.41	11.6 ± 0.32	16.6 ± 1.16	1.43
1 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 5 µmol/L GF120918	21.2 ± 0.56	9.16 ± 0.69	0.43	22.1 ± 0.37	9.66 ± 0.75	0.44
3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	21.6 ± 0.90	10.4 ± 0.72	0.48	17.6 ± 0.16	14.7 ± 0.49	0.83
3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 5 µmol/L GF120918	22.3 ± 0.37	9.99 ± 0.32	0.45	23.1 ± 0.37	10.6 ± 0.54	0.46

Additional Information: [^{3}H]JNJ-42756493 is a P-gp substrate. P-gp mediated transport of [^{3}H]JNJ-42756493 is saturated at actual concentrations above 0.3 µmol/L. $IC_{50,u}$ = 0.026 µmol/L.

A = apical; B = basolateral; DMSO = dimethyl sulfoxide; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; $IC_{50,u}$ = IC_{50} unbound; LLC-PK1 = Lilly laboratory cancer porcine kidney 1; MDR1 = multidrug resistance 1; No. = number; P_{app} = apparent permeability; P-gp = P-glycoprotein; SD = standard deviation; TM = transport medium

2.6.5.15　C　薬物動態試験：薬物相互作用（BCRP）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11162**
Location in CTD	4.2.2.6.3
Type of Study	BCRP (ABCG2) Mediated Transport of JNJ-42756493 and Inhibition Potential of JNJ-42756493 on BCRP Transport in an MDCKII Cell Line Overexpressing this Transporter

Method: At Day 0, MDCKII cells overexpressing BCRP were seeded on 24-well cell culture inserts. Inserts were incubated at 37°C in a humidified incubator containing 5% CO_2. In the transport experiment, cell monolayers were pre-incubated in $HBSS^{+/+}$ medium for both parental MDCKII and transfected MDCKII-BCRP cells, with or without the appropriate inhibitors. After 1 hour, the media were removed and the experiment was started by applying TM, which contained the proper amount of reference substrate ([^{3}H]topotecan) and [^{3}H]JNJ-42756493 (0.016, 0.048, 0.16, 0.48, 1.6, 4.8, 2.5, 10, 25, and 100 µmol/L nominal concentrations) or reference inhibitor (KO143), to the apical or basolateral compartments (inhibitors in both compartments). Transport experiments were performed in triplicate.

Transepitheilial BCRP-Mediated Transport with or without Inhibitor (KO143)

	Parental MDCKII Cells			**Transfected MDCKII-BCRP Cells**		
Condition[a]	**P_{app} AB ± SD (x 10^{-6} cm/s)**	**P_{app} BA ± SD (x 10^{-6} cm/s)**	**Ratio BA/AB**	**P_{app} AB ± SD (x 10^{-6} cm/s)**	**P_{app} BA ± SD (x 10^{-6} cm/s)**	**Ratio BA/AB**
1 µmol/L [^{3}H]Topotecan + DMSO	2.83 ± 0.08	2.38 ± 0.24	0.84	0.92 ± 0.24	8.77 ± 0.16	9.51
1 µmol/L [^{3}H]Topotecan + 1 µmol/L KO143	2.84 ± 0.45	2.43 ± 0.22	0.86	1.96 ± 0.08	2.00 ± 0.03	1.02
0.00608 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	14.0 ± 0.54	6.41 ± 1.18	0.46	11.3 ± 0.75	6.71 ± 1.26	0.59
0.00608 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 1 µmol/L KO143	15.6 ± 0.76	6.65 ± 1.65	0.43	13.6 ± 0.90	5.70 ± 1.16	0.42
0.0182 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	14.6 ± 0.62	8.38 ± 0.43	0.57	12.1 ± 0.50	8.30 ± 0.83	0.69
0.0182 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 1 µmol/L KO143	15.2 ±1.14	7.88 ± 0.38	0.52	13.5 ± 1.01	7.40 ± 0.78	0.55
0.0608 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	14.8 ± 0.09	6.35 ± 1.15	0.43	12.1 ± 0.09	6.54 ± 0.94	0.54
0.0608 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 1 µmol/L KO143	15.1 ± 0.60	7.12 ± 1.40	0.47	13.2 ± 0.41	5.93 ± 1.00	0.45
0.182 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	15.7 ± 0.57	8.35 ± 1.26	0.53	13.4 ± 0.36	7.97 ± 0.99	0.59
0.182 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 1 µmol/L KO143	16.4 ± 0.31	8.95 ± 0.72	0.55	14.1 ± 0.38	7.86 ± 0.85	0.56
0.608 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	16.4 ± 0.43	7.45 ± 0.92	0.46	13.1 ± 0.48	8.05 ± 1.19	0.61
0.608 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 1 µmol/L KO143	16.6 ± 1.32	7.78 ± 0.99	0.47	14.0 ± 1.14	6.96 ± 1.18	0.50

Additional Information: JNJ-42756493 is not a substrate of BCRP transport.

[a] Actual JNJ-42756493 concentrations to which cells were exposed after correction for non-specific binding.

A = apical; B = basolateral; BCRP = breast cancer resistance protein; DMSO = dimethyl sulfoxide; HBSS = Hanks' Balanced Salt Solution; MDCK = Madin-Darby canine kidney; No. = number; P_{app} = apparent permeability; SD = standard deviation; TM = transport medium

(Continued)

2.6.5.15　C　薬物動態試験：薬物相互作用（BCRP）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11162**					
Location in CTD	4.2.2.6.3					
Type of Study	BCRP (ABCG2) Mediated Transport of JNJ-42756493 and Inhibition Potential of JNJ-42756493 on BCRP Transport in an MDCKII Cell Line Overexpressing this Transporter					
Transepitheilial BCRP-Mediated Transport with or without Inhibitor (KO143) (Continued)						
	Parental MDCKII Cells			**Transfected MDCKII-BCRP Cells**		
Condition[a]	**P_{app} AB ± SD ($\times 10^{-6}$ cm/s)**	**P_{app} BA ± SD ($\times 10^{-6}$ cm/s)**	**Ratio BA/AB**	**P_{app} AB ± SD ($\times 10^{-6}$ cm/s)**	**P_{app} BA ± SD ($\times 10^{-6}$ cm/s)**	**Ratio BA/AB**
0.943 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	22.4 ± 0.73	11.0 ± 2.08	0.49	14.9 ± 0.38	9.56 ± 2.06	0.64
0.943 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 1 µmol/L KO143	19.4 ± 0.88	10.1 ± 2.13	0.52	13.1 ± 0.19	7.88 ± 2.08	0.60
1.82 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	14.9 ± 0.31	9.68 ± 0.43	0.65	14.1 ± 0.19	9.76 ± 0.54	0.69
1.82 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 1 µmol/L KO143	16.2 ± 1.18	9.99 ± 0.66	0.62	15.5 ± 0.89	9.45 ± 0.72	0.61
3.29 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	13.2 ± 0.65	9.68 ± 2.19	0.73	11.4 ± 0.97	10.5 ± 1.03	0.93
3.29 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 1 µmol/L KO143	13.4 ± 0.33	9.92 ± 1.14	0.74	10.8 ± 1.60	NR[b]	NR[b]
9.43 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	7.36 ± 0.53	4.75 ± 0.54	0.64	7.09 ± 0.72	5.27 ± 0.82	0.74
9.43 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 1 µmol/L KO143	6.61 ± 0.38	4.64 ± 0.88	0.70	6.54 ± 0.40	4.61 ± 1.08	0.70
53.3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	ND[c]	ND[c]	ND[c]	ND[c]	ND[c]	ND[c]
53.3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 1 µmol/L KO143	ND[c]	ND[c]	ND[c]	ND[c]	ND[c]	ND[c]

[a] Actual JNJ-42756493 concentrations to which cells were exposed after correction for non-specific binding.
[b] NR; due to leakage of the monolayers, the P_{app} values were not taken into account.
[c] ND; due to cytotoxicity, the P_{app} values for the 53.3 µmol/L concentration were not taken into account.

A = apical; B = basolateral; BCRP = breast cancer resistance protein; DMSO = dimethyl sulfoxide; MDCK = Madin-Darby canine kidney; ND = not determined; No. = number; NR = not reported; P_{app} = apparent permeability; SD = standard deviation

(Continued)

2.6.5.15　C　薬物動態試験：薬物相互作用（BCRP）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11162**		
Location in CTD	4.2.2.6.3		
Type of Study	BCRP (ABCG2) Mediated Transport of JNJ-42756493 and Inhibition Potential of JNJ-42756493 on BCRP Transport in an MDCKII Cell Line Overexpressing this Transporter		
Method: Due to the cytotoxicity of 100 µmol/L JNJ-42756493 (nominal concentration) towards parental MDCKII cells following a 120 min incubation, BCRP-expressing inside-out vesicles were used to evaluate the inhibitory effect of JNJ-42756493 (0.010, 0.030, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 µmol/L nominal concentrations) on [^{3}H]estrone-3-sulfate transport after incubation. The experimental procedure was to compare vesicular uptake in control vesicles versus BCRP-expressing inside-out vesicles as a measure for efflux. Samples containing on [^{3}H]estrone-3-sulfate were counted by LSC.			
BCRP-Mediated Transport of [^{3}H]estrone-3-sulfate with Different Concentrations of JNJ-42756493 or Inhibitor (KO143) in Inside-out Vesicles Expressing BCRP			
	ATP Dependent Uptake Activity[b]		**Fold Difference of Uptake Activity[c]**
Condition[a]	**± SD (pmol/mg protein/min)**	**% Transport**	
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + DMSO	903 ± 151	100	20.4
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + 0.00957 µmol/L JNJ-42756493	1020 ± 32.9	113	20.9
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + 0.0259 µmol/L JNJ-42756493	892 ± 179	98.8	17.9
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + 0.0841 µmol/L JNJ-42756493	930 ± 47.6	103	16.8
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + 0.297 µmol/L JNJ-42756493	885 ± 66.0	98.1	16.2
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + 0.793 µmol/L JNJ-42756493	868 ± 117	96.1	14.5
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + 1.82 µmol/L JNJ-42756493	742 ± 82.7	82.2	13.6
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + 6.96 µmol/L JNJ-42756493	553 ± 33.1	61.3	9.42
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + 26.1 µmol/L JNJ-42756493	479 ± 115	53.1	8.98
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + 85.8 µmol/L JNJ-42756493	140 ± 33.0	15.5	3.53
1 µmol/L [^{3}H]estrone-3-sulfate + 1 µmol/L KO143	20.4 ± 20.2	2.29	1.38
Additional Information: JNJ-42756493 inhibited BCRP-mediated transport of [^{3}H]estrone-3-sulfate. After correction for non-specific binding, the calculated IC_{50} value was 14.9 µmol/L.			

[a] Actual JNJ-42756493 concentrations to which cells were exposed after correction for non-specific binding.

[b] ATP dependent uptake activity = $mean_{+ATP} - mean_{-ATP}$

[c] Fold difference of uptake activity = $mean_{+ATP} / mean_{-ATP}$

ATP = adenosine 5'-triphosphate; BCRP = breast cancer resistance protein; DMSO = dimethyl sulfoxide; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LSC = liquid scintillation counter; MDCK = Madin-Darby canine kidney; No. = number; SD = standard deviation

2.6.5.15　D　薬物動態試験：薬物相互作用（OATP1B1 及び OATP1B3）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11163**
Location in CTD	4.2.2.6.4
Type of Study	OATP1B1- and OATP1B3-Mediated Transport of [^{3}H]JNJ-42756493 and the Inhibition Potential of JNJ-42756493 on OATP1B1 and OATP1B3 Transport in HEK293 Cell Lines Overexpressing OATP1B1 (SLCO1B1) and OATP1B3 (SCO1B3)

Method: HEK293 cell lines (parental and stably transfected with OATP1B1 or OATP1B3) were cultured in D-MEM (+ Glutamax) with 10% FCS plus penicillin/streptomycin. Transport experiments (including inhibition) were performed in HBSS$^{+/+}$ medium supplemented with 10 mmol/L HEPES. At -18 hours, all cell lines were seeded into 24-well plates in culture media. Incubation media containing the reference substrate or JNJ-42756493 and the inhibitors (Rifampicin or inhibitor solvent) was added under specific conditions (detail in tables) to determine if [^{3}H]JNJ-42756493 is a OATP1B1 or OATP1B3 substrate and to evaluate possible inhibitory effects of JNJ-42756493 on OATP-mediated uptake. Cells were incubated for 5 min at 37ºC, then transport was stopped, cells lysed, and LSC counting or protein analysis (via BCA method) performed. Recovery testing and cytotoxicity evaluation was also performed.

Evaluation of [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide and [^{3}H]JNJ-42756493 as a Substrate of OATP1B1

	HEK293-parental	**HEK293-OATP1B1**			
Condition	**Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Net Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Inhibition of Net Uptake (%)**	**Dynamic Range[a]**
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + DMSO	0.76 ± 0.01	52.4 ± 0.3	51.6 ± 0.3	-	69.1
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 25 µmol/L Rifampicin	0.79 ± 0.02	2.85 ± 0.05	2.06 ± 0.05	96.0	-
0.329 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	84.8 ± 17.5	85.5 ± 1.3	-	-	1.01
0.329 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 25 µmol/L Rifampicin	138 ± 6	117 ± 5	-	-	-
2.11 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	361 ± 55	456 ± 8	-	-	1.26
2.11 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 25 µmol/L Rifampicin	582 ± 126	533 ± 17	-	-	-
5.13 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	1093 ± 214	1073 ± 24	-	-	0.98
5.13 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 25 µmol/L Rifampicin	1400 ± 59	1234 ± 76	-	-	-
27.3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	4517 ± 698	4389 ± 43	-	-	0.97
27.3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 25 µmol/L Rifampicin	5284 ± 752	4676 ± 819	-	-	-

Additional Information: To determine the actual concentrations of JNJ-42756493 available to inhibit the uptake of [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide, HEK293 parental cells were exposed to nominal concentrations (0.024, 0.098, 0.391, 1, 1.56, 4.5, 6.25, 10, 25, 45, and 100 µmol/L) of [^{3}H]JNJ-42756493.
JNJ-42756493 is not a substrate for OATP1B1 and OATP1B3 uptake transporters.

[a] Dynamic range is the fold difference in uptake in OATP1B1-transfected cells relative to uptake in parental cells.

- = not applicable; BCA = bicinchoninic acid; D-MEM = Dulbecco's Modified Eagle Medium; DMSO = dimethyl sulfoxide; HBSS = Hanks' Balanced Salt Solution; HEK293 = human embryonic kidney 293; HEPES = 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid; LSC = liquid scintillation counter; No. = number; OATP = organic anion transporting polypeptide; SD = standard deviation

(Continued)

2.6.5.15　D　薬物動態試験：薬物相互作用（OATP1B1 及び OATP1B3）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11163**				
Location in CTD	4.2.2.6.4				
Type of Study	OATP1B1- and OATP1B3-Mediated Transport of [^{3}H]JNJ-42756493 and the Inhibition Potential of JNJ-42756493 on OATP1B1 and OATP1B3 Transport in HEK293 Cell Lines Overexpressing OATP1B1 (SLCO1B1) and OATP1B3 (SCO1B3)				
Evaluation of [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide and [^{3}H]JNJ-42756493 as a Substrate of OATP1B3					
	HEK293-parental	**HEK293-OATP1B3**			
Condition	**Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Net Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Inhibition of Net Uptake (%)**	**Dynamic Range[a]**
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + DMSO	0.76 ± 0.01	14.4 ± 0.2	13.7 ± 0.2	-	19.0
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 25 µmol/L Rifampicin	0.79 ± 0.02	1.06 ± 0.02	0.27 ± 0.02	98.0	-
0.329 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	84.8 ± 17.5	90.0 ± 1.9	-	-	1.06
0.329 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 25 µmol/L Rifampicin	138 ± 6	114 ± 4.1	-	-	-
2.11 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	361 ± 55	418 ± 68	-	-	1.16
2.11 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 25 µmol/L Rifampicin	582 ± 126	538 ± 7	-	-	-
5.13 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	1093 ± 214	1058 ± 26	-	-	0.97
5.13 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 25 µmol/L Rifampicin	1400 ± 59	1238 ± 64	-	-	-
27.3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + DMSO	4517 ± 698	4285 ± 96	-	-	0.95
27.3 µmol/L [^{3}H]JNJ-42756493 + 25 µmol/L Rifampicin	5284 ± 752	4897 ± 150	-	-	-

[a] Dynamic range is the fold difference in uptake in OATP1B3-transfected cells relative to uptake in parental cells.

- = not applicable; DMSO = dimethyl sulfoxide; HEK293 = human embryonic kidney 293; No. = number; OATP = organic anion transporting polypeptide; SD = standard deviation

(Continued)

2.6.5.15　D　薬物動態試験：薬物相互作用（OATP1B1 及び OATP1B3）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11163**				
Location in CTD	4.2.2.6.4				
Type of Study	OATP1B1- and OATP1B3-Mediated Transport of [^{3}H]JNJ-42756493 and the Inhibition Potential of JNJ-42756493 on OATP1B1 and OATP1B3 Transport in HEK293 Cell Lines Overexpressing OATP1B1 (SLCO1B1) and OATP1B3 (SCO1B3)				
Inhibition of [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide Uptake by JNJ-42756493					
	HEK293-parental	**HEK293-OATP1B1**			
Condition	**Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Net Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Inhibition of Net Uptake (%)**	**Dynamic Range[a]**
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + DMSO	0.699 ± 0.044	56.9 ± 1.2	56.2 ± 1.2	-	81.5
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 0.0049 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.721 ± 0.019	47.2 ± 1.4	46.4 ± 1.4	17.4	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 0.020 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.708 ± 0.076	54.7 ± 0.9	54.0 ± 0.9	4.07	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 0.117 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.729 ± 0.026	57.4 ± 1.4	56.7 ± 1.4	-0.831	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 0.654 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.756 ± 0.038	56.5 ± 0.7	55.7 ± 0.7	0.941	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 3.05 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.723 ± 0.066	48.4 ± 2.5	47.7 ± 2.5	15.2	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 13.3 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.702 ± 0.019	44.3 ± 0.9	43.6 ± 0.9	22.5	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 63.1 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.675 ± 0.103	17.6 ± 0.1	16.9 ± 0.1	70.0	-
Additional Information: JNJ-42756493 demonstrated inhibition of net uptake of [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide in OATP1B1 transfected cells from an actual concentration of 3.05 µmol/L (=1.362 µg/ml, nominal: 6.25 µmol/L) onwards. After taking data on non-specific binding into account, an IC_{50} of JNJ-42756493 toward OATP1B1-mediated uptake of [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide of 36.5 µmol/L (=16.299 µg/mL) was calculated.					

[a] Dynamic range is the fold difference in uptake in OATP1B1-transfected cells relative to uptake in parental cells.

[b] Based on substantial loss of total radioactivity during the 5 min incubation with parental HEK293 cells, nominal concentrations of JNJ-42756493 (0.024, 0.098, 0.391, 1.56, 6.25, 25, 100 µmol/L) were converted into actual concentrations.

- = not applicable; DMSO = dimethyl sulfoxide; HEK293 = human embryonic kidney 293; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; No. = number; OATP = organic anion transporting polypeptide; SD = standard deviation

(Continued)

2.6.5.15　D　薬物動態試験：薬物相互作用（OATP1B1 及び OATP1B3）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11163**				
Location in CTD	4.2.2.6.4				
Type of Study	OATP1B1- and OATP1B3-Mediated Transport of [^{3}H]JNJ-42756493 and the Inhibition Potential of JNJ-42756493 on OATP1B1 and OATP1B3 Transport in HEK293 Cell Lines Overexpressing OATP1B1 (SLCO1B1) and OATP1B3 (SCO1B3)				
Inhibition of [^{3}H]Estradiol-17β-glucuronide Uptake by JNJ-42756493					
	HEK293-parental	**HEK293-OATP1B3**			
Condition	**Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Net Uptake ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Inhibition of Net Uptake (%)**	**Dynamic Range[a]**
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + DMSO	0.699 ± 0.044	15.1 ± 0.4	14.4 ± 0.4	-	21.6
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 0.0049 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.721 ± 0.019	11.7 ± 0.2	11.0 ± 0.2	23.5	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 0.020 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.708 ± 0.076	14.8 ± 0.7	14.1 ± 0.7	1.98	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 0.117 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.729 ± 0.026	15.4 ± 0.5	14.6 ± 0.5	-1.66	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 0.654 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.756 ± 0.038	14.9 ± 0.3	14.1 ± 0.3	1.94	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 3.05 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.723 ± 0.066	14.9 ± 0.2	14.2 ± 0.2	1.31	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 13.3 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.702 ± 0.019	16.4 ± 0.5	15.7 ± 0.5	-9.31	-
1 µmol/L [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide + 63.1 µmol/L[b] JNJ-42756493	0.675 ± 0.103	19.7 ± 0.2	19.1 ± 0.2	-32.5	-
Additional Information: JNJ-42756493 showed no inhibition on the net uptake of [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide in OATP1B3 transfected cells at the highest actual concentration of 63.1 µmol/L (=28.178 µg/mL). Therefore, the IC_{50} of JNJ-42756493 towards OATP1B3-mediated uptake of [^{3}H]estradiol-17β-glucuronide was >63.1 µmol/L.					

[a] Dynamic range is the fold difference in uptake in OATP1B3-transfected cells relative to uptake in parental cells.

[b] Based on substantial loss of total radioactivity during the 5 min incubation with parental HEK293 cells, nominal concentrations of JNJ-42756493 (0.024, 0.098, 0.391,1.56, 6.25, 25, 100 µmol/L) were converted into actual concentrations.

- = not applicable; DMSO = dimethyl sulfoxide; HEK293 = human embryonic kidney 293; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; No. = number; OATP = organic anion transporting polypeptide; SD = standard deviation

2.6.5.15　E　薬物動態試験：薬物相互作用（OCT1 及び OCT2）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11156**
Location in CTD	4.2.2.6.5
Type of Study	Inhibition Potential of JNJ-42756493 on OCT1 (SLC22A1) and OCT2 (SLC22A2) Cell Lines Overexpressing These Transporters

Method: The CHO cells, parental, OCT1 or OCT2 were seeded into 24 well plates (0.400 mL/well, 625,000 cells/well) in CHO culture medium. Incubation medium, containing reference substrate and the inhibitors (Verapamil or Quinidine, or inhibitor solvent) was added; incubation occurred for 10 min at 37ºC. Tests were conducted in triplicate. To stop the reaction, the supernatant was aspirated and each well was washed twice with 1 mL ice-cold Krebs-Henseleit pH 7.4. To lyse the cells, 250 µL of 0.1 N NaOH solution was added to each well and the plates were shaken for at least 10 min (400 rpm). For LSC, a 150 µL sample/well was taken and for protein analysis a 25 µL sample/well. Protein analysis was carried out according to the BCA method. Viability of CHO parental cells after 30 mins treatment with JNJ-42756493 (concentrations noted below, plus solvent control and 1% solution of Triton X-100 in Krebs-Henseleit pH 7.4 as positive control) was measured using the PrestoBlue™ Cell viability assay. Non-specific binding was determined following incubation of parental cells only for 10 min with the same concentrations of ^{3}H-labeled JNJ-42756493 and measurement via LSC.

Effect of JNJ-42756493 on the OCT1-Mediated Uptake of [^{14}C]TEA

Inhibitor			**Uptake in CHO Parental Cells ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Uptake in CHO OCT1 Cells ± SD (pmol/mg protein/min)**	**OCT1 Mediated Uptake (% of control)**	**Dynamic Range**
Compound	**Theoretical Conc.**	**Conc. Corrected for Non-specific Binding**				
DMSO control	-	-	4.80 ± 0.67	32.2 ± 3.3	100	6.7
Verapamil	100 µmol/L	-	4.81 ± 1.49	8.20 ± 1.44	12.4	-
DMSO control	-	-	7.12 ± 1.08	25.8 ± 0.8	100	3.6
JNJ-42756493	0.0244 µmol/L	0.006 µmol/L	7.16 ± 0.51	26.0 ± 1.9	101	-
	0.0977 µmol/L	0.021 µmol/L	7.51 ± 1.02	26.2 ± 1.6	99.9	-
	0.391 µmol/L	0.097 µmol/L	8.36 ± 1.74	24.0 ± 2.4	83.9	-
	1.56 µmol/L	0.472 µmol/L	6.98 ± 0.26	19.0 ± 1.7	64.6	-
	6.25 µmol/L	2.23 µmol/L	9.22 ± 0.35	13.0 ± 3.8	20.0	-
	25 µmol/L	12.0 µmol/L	8.91 ± 0.83	12.8 ± 4.4	20.8	-
	100 µmol/L	60.6 µmol/L	8.51 ± 0.46	6.99 ± 0.92	-8.1	-

Additional Information: In vitro, JNJ-42756493 is an inhibitor of OCT1 and OCT2. After correction for non-specific binding, the calculated IC_{50} value for [^{14}C]TEA inhibition was 0.73 ± 0.23 µmol/L.

- = not applicable/not determined; BCA = bicinchoninic acid; CHO = Chinese hamster ovary; conc. = concentration; DMSO = dimethyl sulfoxide; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LSC = liquid scintillation counter; No. = number; OCT = organic cation transporter; SD = standard deviation; TEA = tetraethylammoniumbromide

(Continued)

2.6.5.15　E　薬物動態試験：薬物相互作用（OCT1 及び OCT2）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11156**					
Location in CTD	4.2.2.6.5					
Type of Study	Inhibition Potential of JNJ-42756493 on OCT1 (SLC22A1) and OCT2 (SLC22A2) Cell Lines Overexpressing These Transporters					
Effect of JNJ-42756493 on the OCT2-Mediated Uptake of [^{14}C]metformin						
Inhibitor			**Uptake in CHO Parental Cells ± SD (pmol/mg protein/min)**	**Uptake in CHO OCT2 Cells ± SD (pmol/mg protein/min)**	**OCT2 Mediated Uptake (% of control)**	**Dynamic Range**
Compound	**Theoretical Conc.**	**Conc. Corrected for Non-specific Binding**				
DMSO control	-	-	0.74 ± 0.10	24.3 ± 1.6	100	33.7
Quinidine	300 µmol/L	-	0.57 ± 0.09	1.06 ± 0.43	4.38	-
DMSO control	-	-	1.29 ± 0.13	27.0 ± 0.2	100	20.9
JNJ-42756493	0.00977 µmol/L	0.0019 µmol/L	1.32 ± 0.01	24.6 ± 1.6	90.7	-
	0.156 µmol/L	0.032 µmol/L	1.56 ± 0.17	15.9 ± 0.4	55.9	-
	0.625 µmol/L	0.159 µmol/L	1.86 ± 0.33	8.44 ± 0.67	25.6	-
	2.50 µmol/L	0.796 µmol/L	1.69 ± 0.32	3.11 ± 0.36	5.54	-
	10.0 µmol/L	3.94 µmol/L	1.39 ± 0.28	1.76 ± 0.19	1.41	-
	40.0 µmol/L	/ [a]	1.75 ± 0.45	1.59 ± 0.13	-0.65	-
Additional Information: After correction for non-specific binding, the calculated IC_{50} value for [^{14}C]metformin inhibition was 0.0434 ± 0.0035 µmol/L.						

[a] Non-specific binding was not tested.

- = not applicable/not determined; CHO = Chinese hamster ovary; conc. = concentration; DMSO = dimethyl sulfoxide; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; No. = number; OCT = organic cation transporter; SD = standard deviation

2.6.5.15　F　薬物動態試験：薬物相互作用（OAT1 及び OAT3）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11157**
Location in CTD	4.2.2.6.6
Type of Study	Inhibition potential of JNJ-42756493 on OAT1 (SLC22A6) and OAT3 (SLC22A8) in Cell Lines Overexpressing These Transporters

Method: All cells (CHO parental and CHO OAT1 or MDCK-II parental and MDCK-II OAT3) were seeded into 24 well plates (0.4 mL/well, 625,000 cells/well) in their respective culture medium. Before incubation, the cells in each well were washed with 1 mL Krebs-Henseleit pH 7.4 at 37°C. Next, the incubation medium, containing reference substrates ([^{14}C]pAH or [^{3}H]estrone-3-sulfate) and the inhibitors (Probenecid, or inhibitor solvent) was added (250 µL/well). To stop the reaction, the supernatant was aspirated and each well was washed twice with 1 mL ice-cold Krebs-Henseleit pH 7.4. To lyse the cells, 250 µL of 0.1 N NaOH solution was added to each well and the plates were shaken for at least 10 min (400 rpm). For LSC, a 150 µL sample/well was taken and for protein analysis a 25 µL sample/well. Protein analysis was carried out according to the BCA method. The viability of CHO parental cells after treatment with JNJ-42756493 concentrations noted below were reported in Mod4.2.2.6.5/FK11156. Viability of MDCK-II parental cells after 30 mins treatment with JNJ-42756493 (concentrations noted below, plus solvent control and 1% solution of Triton X-100 in Krebs-Henseleit pH 7.4 as positive control) was measured using the PrestoBlue™ Cell viability assay. Non-specific binding was determined following incubation of parental cells only for 3 min with the same concentrations of ^{3}H-labeled JNJ-42756493 and measurement via LSC.

Effect of JNJ-42756493 on the OAT1-Mediated Uptake of [^{14}C]pAH

Inhibitor			**Uptake ± SD in CHO Parental Cells (pmol/mg protein/min)**	**Uptake ± SD in CHO OAT1 Cells (pmol/mg protein/min)**	**OAT1 Mediated Uptake (% of control)**	**Dynamic Range**
Compound	**Theoretical Conc.**	**Conc. Corrected for Non-specific Binding**				
DMSO control	-	-	3.12 ± 0.21	125.7 ± 2.4	100	40.2
Probenecid	300 µmol/L	-	2.53 ± 0.49	9.15 ± 1.53	5.4	-
DMSO control	-	-	1.81 ± 0.25	89.3 ± 1.2	100	49.2
JNJ-42756493	0.0391 µmol/L	0.0163 µmol/L	2.57 ± 0.49	85.1 ± 4.5	94.3	-
	0.156 µmol/L	0.0758 µmol/L	2.95 ± 0.42	91.5 ± 7.3	101	-
	0.625 µmol/L	0.298 µmol/L	3.37 ± 0.72	88.4 ± 2.7	97.2	-
	10 µmol/L	5.44 µmol/L	2.55 ± 0.10	105.9 ± 12.7	118	-
	40 µmol/L	20.7 µmol/L	3.27 ± 0.79	137.1 ± 4.4	153	-

Additional Information: In vitro, JNJ-42756493 is not detected to be an inhibitor of OAT1 up to a concentration of 20.7 µmol/L or of OAT3 up to a concentration of 68.6 µmol/L.

- = not applicable/not determined; BCA = bicinchoninic acid; CHO = Chinese hamster ovary; conc. = concentration; DMSO = dimethyl sulfoxide; LSC = liquid scintillation counter; MDCK = Madin-Darby canine kidney; No. = number; OAT = organic anion transporter; pAH = para-aminohippurate; SD = standard deviation

(Continued)

2.6.5.15　F　薬物動態試験：薬物相互作用（OAT1 及び OAT3）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11157**					
Location in CTD	4.2.2.6.6					
Type of Study	Inhibition potential of JNJ-42756493 on OAT1 (SLC22A6) and OAT3 (SLC22A8) in Cell Lines Overexpressing These Transporters					
Effect of JNJ-42756493 on the OAT3-Mediated Uptake of [^{3}H]estrone-3-sulfate						
Inhibitor			**Uptake ± SD in MDCK-II Parental Cells (pmol/mg protein/min)**	**Uptake ± SD in MDCK-II OAT3 Cells (pmol/mg protein/min)**	**OAT3 Mediated Uptake (% of control)**	**Dynamic Range**
Compound	**Theoretical Conc.**	**Conc. Corrected for Non-specific Binding**				
DMSO control	-	-	2.03 ± 0.16	66.6 ± 15.1	100	32.8
Probenecid	300 µmol/L	-	2.05 ± 0.28	5.30 ± 1.11	5.04	-
DMSO control	-	-	2.20 ± 0.18	45.1 ± 1.5	100	20.5
JNJ-42756493	0.0244 µmol/L	0.0143 µmol/L	2.32 ± 0.30	48.0 ± 1.8	107	-
	0.0977 µmol/L	0.0670 µmol/L	2.31 ± 0.33	47.3 ± 0.7	105	-
	0.391 µmol/L	0.227 µmol/L	2.45 ± 0.17	45.1 ± 3.2	99.5	-
	1.56 µmol/L	1.00 µmol/L	2.11 ± 0.18	42.1 ± 4.7	93.1	-
	6.25 µmol/L	3.84 µmol/L	2.11 ± 0.22	50.8 ± 0.1	114	-
	25 µmol/L	16.1 µmol/L	2.07 ± 0.34	52.5 ± 2.7	118	-
	100 µmol/L	68.6 µmol/L	2.46 ± 0.24	43.4 ± 2.2	95.5	-

- = not applicable/not determined; conc. = concentration; DMSO = dimethyl sulfoxide; MDCK = Madin-Darby canine kidney; No. = number; OAT = organic anion transporter; SD = standard deviation

2.6.5.15　G　薬物動態試験：薬物相互作用（MATE1 及び MATE2-K）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.	**FK11158**
Location in CTD	4.2.2.6.7
Type of Study	Inhibition potential of JNJ-42756493 on MATE1 (SLC47A1) and MATE2-K (SLC47A2) in Cell Lines Overexpressing These Transporters

Method: The MDCK-II cells, parental, MATE1 or MATE2-K were seeded into 24 well plates (400 µL/well, 625 000 cells/well) in MDCK-II culture medium. Before incubation, the cells in each well were washed with 1 mL Krebs-Henseleit pH 8.0 at 37°C. Next, the incubation medium, containing reference substrate ([^{14}C]metformin) and the inhibitors (Quinidine or Pyrimethamine, or inhibitor solvent) was added (250 µL/well). To stop the reaction, the supernatant was aspirated and each well was washed twice with 1 mL ice-cold Krebs-Henseleit pH8.0. To lyse the cells, 250 µL of 0.1 N NaOH solution was added to each well and the plates were shaken for at least 10 min (400 rpm). For LSC, a 150 µL sample/well was taken and for protein analysis a 25 µL sample/well. Protein analysis was carried out according to the BCA method. Viability of MDCK-II parental cells after 30 mins treatment with JNJ-42756493 (concentrations noted below, plus solvent control and 1% solution of Triton X-100 in Krebs-Henseleit pH 8.0 as positive control) was measured using the PrestoBlue™ Cell viability assay. Non-specific binding was determined following incubation of parental cells only for 15 min with the same concentrations of ^{3}H-labeled JNJ-42756493 and measurement via LSC.

Effect of JNJ-42756493 on the MATE1 and MATE2-K-Mediated Uptake of [^{14}C]metformin

Inhibitor			**Uptake ± SD in MDCK-II Parental Cells (pmol/mg protein/min)**	**Uptake ± SD in MDCK-II MATE1 Cells (pmol/mg protein/min)**	**MATE1 Mediated Uptake (% of control)**	**MATE1 Dynamic Range**	**Uptake ± SD in MDCK-II MATE2-K Cells (pmol/mg protein/min)**	**MATE2-K Mediated Uptake (% of control)**	**MATE2-K Dynamic Range**
Compound	**Theoretical Conc.**	**Conc. Corrected for Non-specific Binding**							
DMSO control	-	-	0.664 ± 0.114	18.4 ± 1.5	100	26.7	-	-	-
Quinidine	100 µmol/L	-	1.43 ± 0.18	4.54 ± 0.48	17.6	-	-	-	-
DMSO control	-	-	0.637 ± 0.109	-	-	-	5.40 ± 0.30	100	7.5
Pyrimethamine	30 µmol/L	-	0.392 ± 0.086	-	-	-	0.427 ± 0.072	0.75	-
DMSO control	-	-	0.515 ± 0.021	19.4 ± 0.5	100	36.6	6.11 ± 0.79	100	10.8
JNJ-42756493	0.00244 µmol/L	0.0004 µmol/L	0.509 ± 0.025	17.9 ± 0.7	92.0	-	6.96 ± 0.50	115	-
	0.00977 µmol/L	0.0017 µmol/L	0.518 ± 0.032	16.7 ± 0.5	85.6	-	6.53 ± 0.24	108	-
	0.0391 µmol/L	0.0067 µmol/L	0.477 ± 0.056	17.2 ± 2.0	88.4	-	5.89 ± 0.17	96.7	-

Additional Information: In vitro, JNJ-42756493 is an inhibitor of MATE1 and MATE2-K. After correction for non-specific binding, the calculated IC_{50} value for [^{14}C]metformin inhibition was 2.26 ± 0.32 µmol/L in MATE1 cells and 1.89 ± 0.48 µmol/L in MATE2-K cells.

- = not applicable/not determined; BCA = bicinchoninic acid; conc. = concentration; DMSO = dimethyl sulfoxide; LSC = liquid scintillation counter; MATE = multidrug and toxin extrusion; MDCK = Madin-Darby canine kidney; No. = number; SD = standard deviation

(Continued)

2.6.5.15　G　薬物動態試験：薬物相互作用（MATE1 及び MATE2-K）（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Study No.			**FK11158**						
Location in CTD			4.2.2.6.7						
Type of Study			Inhibition potential of JNJ-42756493 on MATE1 (SLC47A1) and MATE2-K (SLC47A2) in Cell Lines Overexpressing These Transporters						
Effect of JNJ-42756493 on the MATE1 and MATE2-K-Mediated Uptake of [^{14}C]metformin									
Inhibitor			**Uptake ± SD in MDCK-II Parental Cells (pmol/mg protein/min)**	**Uptake ± SD in MDCK-II MATE1 Cells (pmol/mg protein/min)**	**MATE1 Mediated Uptake (% of control)**	**MATE1 Dynamic Range**	**Uptake ± SD in MDCK-II MATE2-K Cells (pmol/mg protein/min)**	**MATE2-K Mediated Uptake (% of control)**	**MATE2-K Dynamic Range**
Compound	**Theoretical Conc.**	**Conc. Corrected for Non-specific Binding**							
JNJ-42756493	0.156 µmol/L	0.0277 µmol/L	0.525 ± 0.064	17.7 ± 0.2	91.1	-	5.90 ± 0.24	96.1	-
	0.625 µmol/L	0.128 µmol/L	0.447 ± 0.020	16.4 ± 0.3	84.8	-	5.50 ± 0.51	90.3	-
	2.5 µmol/L	0.644 µmol/L	0.323 ± 0.020	13.5 ± 0.4	69.7	-	4.22 ± 0.35	69.7	-
	10 µmol/L	3.13 µmol/L	0.268 ± 0.010	7.66 ± 0.53	39.2	-	2.79 ± 0.19	45.1	-

- = not applicable/not determined; conc. = concentration; MATE = multidrug and toxin extrusion; MDCK = Madin-Darby canine kidney; No. = number; SD = standard deviation

2.6.5.16　薬物動態試験：その他

Test Article: JNJ-42756493

No other pharmacokinetic studies, such as studies in nonclinical models of disease (eg, renally impaired animals), have been conducted.