目次

表一覧
図一覧
付録一覧
略号及び用語の定義
2.7.1　生物薬剤学試験及び関連する分析法
2.7.1.1　背景及び概観
2.7.1.1.1　物理化学的性質
2.7.1.1.2　製剤開発の概要
2.7.1.1.2.1　製剤処方
2.7.1.1.3　溶解性及び溶出性の概要
2.7.1.1.3.1　溶解性及び膜透過性
2.7.1.1.3.2　溶出性
2.7.1.1.4　製剤の in vivo での挙動の概要
2.7.1.1.5　生体試料中薬物濃度分析法の概要
2.7.1.2　個々の試験結果の要約
2.7.1.2.1　MK-6482-002（002試験）
2.7.1.2.2　MK-6482-006（006試験）
2.7.1.2.3　MK-6482-014（014試験）
2.7.1.2.4　MK-6482-019（019試験）
2.7.1.3　全試験を通しての結果の比較と解析
2.7.1.3.1　経口バイオアベイラビリティ
2.7.1.3.2　食事の影響
2.7.1.4　結論
2.7.1.5　付録
2.7.1.5.1　MK-6482の臨床開発プログラムで使用した生体試料中薬物濃度分析法
2.7.1.5.2　MK-6482の血漿中及び尿中の分析法のバリデーションデータ
2.7.1.5.3　MK-6482及び PT3317の血漿中及び尿中の分析法の試験での分析能
2.7.1.5.4　生物薬剤学試験の要約

表一覧

表 2.7.1-1　臨床試験製剤、並びに FMI 及び[redacted]の含有率を変更した製剤処方
表 2.7.1-2　臨床試験における使用製剤
表 2.7.1-3　MK-6482（Form A）の溶解度
表 2.7.1-4　[redacted]から得られた MK-6482濃度
表 2.7.1-5　溶出試験条件及びその規格
表 2.7.1-6　分析法及び測定施設
表 2.7.1-7　FMF と FFP の MK-6482の相対的バイオアベイラビリティの比較
表 2.7.1-8　[redacted]及び[redacted]の[redacted]を含有する製剤で MK-6482 120 mg を単回経口投与した際の薬物動態の比較
表 2.7.1-9　FFP 及び FMI を投与した際の MK-6482の薬物動態に対する食事の影響

図一覧

図 2.7.1-1　　MK-6482の構造式
図 2.7.1-2　　代表ロットの溶出プロファイル

付録一覧

付録 2.7.1-1　MK-6482及びPT3317のバリデートされた分析法の要約
付録 2.7.1-2　MK-6482のバリデートされた分析法の要約
付録 2.7.1-3　MK-6482の分析法のクロスバリデーションの要約
付録 2.7.1-4　BAM.0419のバリデーションデータ
付録 2.7.1-5　BAM.0774のバリデーションデータ
付録 2.7.1-6　TM.2875のバリデーションデータ
付録 2.7.1-7　BAM.0774及びTM.2857のクロスバリデーションデータ
付録 2.7.1-8　BAM.0948のバリデーションデータ
付録 2.7.1-9　MK-6482におけるBAM.0419、BAM.0774、TM.2857及びBAM.0948の分析能
付録 2.7.1-10　PT3317におけるBAM.0419及びBAM.0948の分析能
付録 2.7.1-11　生物薬剤学試験の要約
付録 2.7.1-12　MK-6482の薬物動態パラメータの要約

略号及び用語の定義

略号	定義	
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC0-24	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours	投与後0時間から24時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC0-inf	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity	投与後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
AUC0-last	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to time of the last quantifiable concentration	投与後0時間から最終測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BCS	Biopharmaceutics classification system	－
Cmax	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
FFP	Fit-for-purpose	開発初期製剤
FMF	Final market formulation	市販候補製剤
FMI	Final market image	市販予定製剤
HIF	Hypoxia-inducible factor	低酸素誘導因子
JAN	Japanese Accepted Names for Pharmaceuticals	日本医薬品一般的名称
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限
MDCK	Madin-Darby canine kidney	Madin Darby イヌ腎
MDR1	Multidrug resistance 1	多剤耐性遺伝子
PD-1	Programmed cell death 1	プログラム細胞死1
PD-L1	Programmed cell death 1 ligand 1	プログラム細胞死リガンド1
pH	Potential hydrogen	水素イオン指数
pNET	Pancreatic neuroendocrine tumors	膵神経内分泌腫瘍
PT3317	Inactive major metabolite of MK-6482	MK-6482の非活性代謝物
QC	Quality control	品質管理
QD	Once daily	1日1回
RCC	Renal cell carcinoma	腎細胞癌
rINN	Recommended international non-proprietary name	医薬品国際一般名称
Tmax	Time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
USAN	United States Adopted Names	米国一般名
USAN Council	USAN Council	USAN 評議会
VEGF	Vascular endothelial growth factor	血管内皮細胞増殖因子
VHL	von Hippel-Lindau	フォン・ヒッペル・リンドウ
WHO	World Health Organization	世界保健機関

2.7.1　生物薬剤学試験及び関連する分析法

2.7.1.1　背景及び概観

MK-6482（belzutifan）は、VHL 関連腫瘍並びに免疫チェックポイント阻害剤及び血管新生阻害薬による治療後の進行 RCC の治療薬として期待される新規 HIF-2α 阻害剤である。Belzutifan は、WHO 及び USAN Council により rINN 及び USAN として命名されており、MK-6482としても知られる分子である。また、ベルズチファン（belzutifan）は、厚生労働省により JAN として指定されている。

MK-6482は、VHL 病関連の RCC、CNS 血管芽腫又は pNET の治療を要するが、即時手術を必要としない VHL 病成人患者に対する治療薬として、米国、英国及び他の国又は地域で承認されている。また、PD-1/L1阻害剤及び VEGF 標的療法による前治療歴を有する進行 RCC 成人患者に対する治療薬として、米国では2023年12月に承認された。MK-6482の臨床推奨用法・用量は、いずれの適応症においても120 mg QD である。

MK-6482は BCS クラス II の化合物である。臨床開発プログラムでは、FFP[redacted]錠、FMF フィルムコーティング錠及び FMI フィルムコーティング錠の3種類の MK-6482の錠剤が使用された。相対的経口バイオアベイラビリティ試験［MK-6482-006（006試験）］において、FFP と FMF は臨床的に同等であった。FMI フィルムコーティング錠は、FMF と処方が同一であり、FMI は FMF と類似した溶出性を示すことを確認した。MK-6482の臨床推奨用法・用量は120 mg QD であり、40-mg 錠を3錠投与する。

最初の第 I 相用量漸増臨床試験である MK-6482-001試験（001試験）は、進行固形がん患者を対象として、MK-6482の安全性、忍容性、薬物動態及び薬力学を評価するために実施した[付録 2.7.2-1]。本試験において、用量漸増期に FFP を使用した後、有効性探索期では FMF に切り替えた。VHL 病関連の RCC 患者を対象として MK-6482の有効性及び安全性を評価した主要な第 II 相試験である MK-6482-004試験（004試験）においても、最初に FFP を使用し、その後 FMF に切り替えた。進行 RCC 患者を対象として MK-6482の有効性及び安全性をエベロリムスと比較した主要な第Ⅲ相試験である MK-6482-005試験（005試験）においては、最初に FMF を使用し、その後 FMI に切り替えた。001及び004試験を含む現在実施中の試験においても、FMI に切り替えた。

MK-6482の絶対的バイオアベイラビリティは評価していない。健康被験者を対象とした第 I 相試験である MK-6482-006試験（006試験）において、FFP 又は FMF のいずれかを投与した際の MK-6482の相対的経口バイオアベイラビリティを評価し、比較した。その結果、FMF と FFP を比較した AUC の幾何平均比の90%信頼区間は生物学的同等性の範囲内［幾何平均比の90%信頼区間が（0.8, 1.25）の範囲内］であった。両製剤の経口バイオアベイラビリティを確認した後、臨床開発プログラムに FMF を導入した。[3.2.P.2.3.2 項]に記載したように、[redacted]を行い、刻印を入れた FMI は、FMF と類似した溶出性を示すことを確認した。

FFP [5.3.1.1.1: P002]又は FMI [5.3.1.1.2: P014]を投与した際に、空腹時と比較して、高脂肪・高カ

ロリー食の摂取はMK-6482の薬物動態に臨床的に意味のある影響を及ぼさなかった。また、製剤に含有する[redacted]の割合が[redacted]までであれば、MK-6482の経口バイオアベイラビリティは本質的な影響を受けないことが示された[5.3.1.2.2: P019]。

In vitro データから、pH が上昇しても MK-6482[redacted]及び[redacted]により調製した[redacted]の[redacted]の溶解度は低下しないことが示されている[2.7.1.1.3.1 項]。したがって、MK-6482は制酸剤と併用投与することができる。

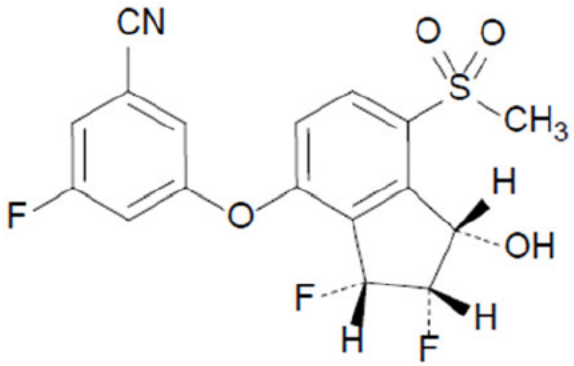
MK-6482の生物薬剤学的開発プログラムで得られた主要な結果は以下のとおりである。

- MK-6482は BCS クラス II の化合物で、製剤は[redacted]の錠剤である。臨床試験で使用した FFP と FMF は、第 I 相試験において AUC の幾何平均比の90%信頼区間が生物学的同等性の範囲内であった。
- FMI への[redacted]は経口バイオアベイラビリティに影響を及ぼさないと予想され、FMI と FMF は類似した溶出性を示すことを確認した。
- pH が上昇しても MK-6482[redacted]及び[redacted]により調製した[redacted]の[redacted]の溶解度は低下しないため、MK-6482は制酸剤併用の有無にかかわらず投与することができる。
- FMI を用いた食事の影響試験の結果から、MK-6482は食事に関係なく投与することができる。
- 製剤に含有する[redacted]の割合が[redacted]までであれば、FMI の経口バイオアベイラビリティは影響を受けなかった。

2.7.1.1.1　物理化学的性質

MK-6482は、分子量383.34、分子式 $C_{17}H_{12}F_3NO_4S$ の[redacted]の原薬である。構造式を[図 2.7.1-1]に示す。MK-6482の結晶形（Form A）は、非吸湿性の白色～淡褐色の粉末で、Form A 以外の結晶形は認められていない。MK-6482はイオン化する官能基を持たず、生理学的 pH 範囲において約 10 µg/mL の一貫した溶解性を示す。

図 2.7.1-1　　MK-6482 の構造式



2.7.1.1.2　　製剤開発の概要

MK-6482の[redacted]は低溶解性のため、経口バイオアベイラビリティを改善するために[redacted]として製剤化した。[redacted]は[redacted]により製造される。臨床開発プログラムではFFPを最初に使用した。その後、相対的経口バイオアベイラビリティ試験（006試験）を行い、FMFとFFPを比較したMK-6482のAUCの幾何平均比（FMF/FFP）の90%信頼区間が生物学的同等性の範囲内であったことから、FFPからFMFに切り替えた。[3.2.P.2.3.2 項]に記載したように、各種試験液を用いて商用プロセスを代表するFMIは、FMFと類似した溶出性を示すことを確認した。[redacted]の含有率が経口バイオアベイラビリティに及ぼす影響を検討するため、FMIの製剤処方及び製造工程に基づき、製剤中に[redacted]及び[redacted]の[redacted]を含有する2種類の試験製剤を開発し、それぞれFormulation A及びFormulation Bとした。臨床試験に用いたFFP及びFMF、並びにFMI及び[redacted]の含有率を変更したFormulation A及びFormulation Bの組成を[表 2.7.1-1]に示す。また、臨床試験で用いた製剤の一覧を[表 2.7.1-2]に示す。

表 2.7.1-1　　臨床試験製剤、並びに FMI 及び[redacted]の含有率を変更した製剤処方

成分	1錠中の分量（mg）				
	FFP	FMF	FMI	Formulation A (F-A)	Formulation B (F-B)
[redacted]					
MK-6482[a]	40.00	40.00	40.00	[redacted]	[redacted]
ヒプロメロース酢酸エステルコハク酸エステル[b]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
錠剤					
MK-6482[c]	--	--	--	[redacted]	[redacted]
ヒプロメロース酢酸エステルコハク酸エステル[d]	--	--	--	[redacted]	[redacted]
結晶セルロース	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
D-マンニトール	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
軽質無水ケイ酸	--	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
クロスカルメロースナトリウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
ステアリン酸マグネシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
オパドライ II ブルー	--	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
錠剤質量	[redacted]	[redacted]	515.0	[redacted]	[redacted]

F-A：Formulation A（[redacted]含有率[redacted]）、F-B：Formulation B（[redacted]含有率[redacted]）
FFP：開発初期製剤、FMF：市販候補製剤、FMI：市販予定製剤
[a] MK-6482は[redacted]により[redacted]の[redacted]となる。
[b] [redacted]は[redacted]中の成分として[redacted]工程時に添加される。
[c] MK-6482は製剤中に[redacted]が残るように、[redacted]工程時に[redacted]として添加される。
[d] ヒプロメロース酢酸エステルコハク酸エステルは製剤中の個々の成分として[redacted]工程時に添加される。

表 2.7.1-2　　臨床試験における使用製剤

試験番号及び試験の進行状況	治験実施計画書標題	使用製剤
MK-6482-001 （001試験） 実施中	進行固形がん患者を対象とした MK-6482の用量漸増及び拡大第 I 相試験	10-mg 錠（FFP） 40-mg 錠（FFP） 40-mg 錠（FMF） 40-mg 錠（FMI）
MK-6482-002 （002試験） 完了	非日本人健康被験者を対象とした MK-6482の無作為化、非盲検、単回投与、食事の影響試験	40-mg 錠（FFP）
MK-6482-004 （004試験） 実施中	VHL 病関連 RCC 患者を対象として MK-6482を評価する非盲検第 II 相試験	40-mg 錠（FFP） 40-mg 錠（FMF） 40-mg 錠（FMI）
MK-6482-005 （005試験） 実施中	PD-1/L1阻害剤及び VEGF 標的療法による前治療後に進行した進行 RCC 患者を対象として MK-6482とエベロリムスを比較する第Ⅲ相無作為化非盲検試験	40-mg 錠（FMF） 40-mg 錠（FMI）
MK-6482-006 （006試験） 完了	非日本人健康被験者を対象とした MK-6482の製剤 A と製剤 B の相対的バイオアベイラビリティ、薬物動態及び安全性を比較する、無作為化、非盲検、3期、クロスオーバー、第 I 相試験	40-mg 錠（FFP） 40-mg 錠（FMF）
MK-6482-007 （007試験） 完了	日本人及び白人健康被験者を対象とした MK-6482の薬物動態を評価する単回投与試験	40-mg 錠（FMF）
MK-6482-008 （008試験） 完了	非日本人健康被験者を対象とした吸収、代謝、排泄及びマスバランスの評価試験	N/A†
MK-6482-009 （009試験） 完了	非日本人健康被験者を対象としたミダゾラムの薬物動態に対する MK-6482の反復投与の影響を評価する試験	40-mg 錠（FMF）
MK-6482-013 （013試験） 実施中	進行腎細胞癌患者を対象とした MK-6482の第 II 相試験	40-mg 錠（FMF） 40-mg 錠（FMI）
MK-6482-014 （014試験） 完了	非日本人健康被験者を対象とした MK-6482市販予定製剤（錠剤）の薬物動態に対する食事の影響を評価する試験	40-mg 錠（FMI）
MK-6482-019 （019試験） 完了	非日本人健康被験者を対象とした MK-6482の薬物動態に対する[redacted]含有率の影響を評価する、無作為化、非盲検、3期、クロスオーバー、単回投与試験	40-mg 錠（FMI） 40-mg 錠（F-A） 40-mg 錠（F-B）
MK-6482-020 （020試験） 完了	非日本人被験者を対象とした肝機能障害の影響を評価する試験	40-mg 錠（FMI）
MK-6482-021 （021試験） 完了	非日本人被験者を対象とした腎機能障害の影響を評価する試験	40-mg 錠（FMI）
MK-6482-025 （025試験） 完了	日本人健康被験者を対象とした MK-6482の薬物動態を評価する単回投与試験	40-mg 錠（FMI）

F-A：Formulation A（[redacted]含有率[redacted]）、F-B：Formulation B（[redacted]含有率[redacted]）、FFP：開発初期製剤、FMF：市販候補製剤、FMI：市販予定製剤、PD1：プログラム細胞死1、PD-L1：プログラム細胞死リガンド1、RCC：腎細胞癌、VEGF：血管内皮細胞増殖因子、VHL：フォン・ヒッペル・リンドウ

† MK-6482-008では、[^{14}C]MK-6482の経口懸濁液120 mg（約200μCi）を調製するために、[^{14}C]MK-6482原薬を治験実施医療機関に提供した。

2.7.1.1.2.1　　製剤処方

MK-6482錠は、低溶解性原薬の許容可能な曝露量を得るために開発し、その用量を120 mg QD とした。目標とする MK-6482の曝露量に到達できるように、[redacted]の[redacted]として[redacted]を用いた[redacted]とすることとした。初期の FFP は、臨床試験が可能な経口製剤（[redacted]錠）として開発された。FMF に至るその後の製剤開発において、流動性の問題が特定されたため、製剤に[redacted]を添加する必要があった。また、フィルムコーティング製剤への変更は、目的とする市場供給を可能にするための開発プログラムの一貫として実施した。これらの変更は、より大規模な製造を可能にする製造施設及びスケールの変更であり、第 I 相臨床試験の相対的バイオアベイラビリティ試験（006試験）により臨床的に同等であることを確認した。

FMI は目的とする市販製剤の代表であり、その組成を[表 2.7.1-1]に示す。FMI の製剤処方を基に、[redacted]及び[redacted]の[redacted]を含有するように製造した製剤は、[redacted]の MK-6482の一部を、[redacted]の MK-6482に置き換えて製造した。019試験の結果から、製剤に含有する[redacted]の割合が[redacted]までであれば、経口バイオアベイラビリティは影響を受けないことが示された[5.3.1.2.2: P019]。製剤開発の詳細な情報は、[3.2.P.2.2 項]及び[3.2.P.2.3 項]に示す。

2.7.1.1.3　　溶解性及び溶出性の概要

2.7.1.1.3.1　　溶解性及び膜透過性

MK-6482は BCS クラス II の化合物（低溶解性及び高膜透過性）に分類される。最高含量の原薬が pH 1～6.8の範囲で250 mL 以下の水性緩衝液に溶解する場合を高溶解性と定義する。[redacted]（[redacted]の Form A）に対する溶解度を、緩衝液を用いて生理学的 pH 範囲で測定した結果、溶解度は9.4～10.8 µg/mL の範囲で低かった[表 2.7.1-3]。したがって、MK-6482は低溶解性化合物に分類され、MK-6482の溶解性は pH によって大きく変動することはない。MK-6482の MDR1-MDCK 細胞単層膜の透過性は[redacted]であり、高膜透過性のカットオフ値である10×10^{-6} cm/sec より高いことから、MK-6482は高膜透過性に分類される。

表 2.7.1-3　　MK-6482（Form A）の溶解度

緩衝液	溶解度 [a] (µg/mL)
pH 2.0の50 mmol/L リン酸塩緩衝液	10.4
pH 4.0の50 mmol/L 酢酸塩緩衝液	10.8
pH 6.0の50 mmol/L クエン酸塩緩衝液	9.6
pH 8.0の50 mmol/L リン酸塩緩衝液	9.4
pH 10.0の50 mmol/L 炭酸塩緩衝液	10.2
[a]　25ºC で24時間撹拌後に測定した。	

MK-6482と[redacted]を組み合わせた[redacted]の[redacted]を用いた場合、MK-6482の[redacted]より高い溶解度が得られる。[redacted]の溶解性は pH に依存するため、溶液の pH が高くなると MK-6482濃度が高くなる[表 2.7.1-4]。

表 2.7.1-4　[redacted]から得られた MK-6482 濃度

緩衝液	MK-6482濃度 [a] (μg/mL)
pH 2.0の50 mmol/L リン酸塩緩衝液	[redacted]
pH 4.0の50 mmol/L 酢酸塩緩衝液	
pH 6.0の50 mmol/L クエン酸塩緩衝液	
pH 8.0の50 mmol/L リン酸塩緩衝液	
pH 10.0の50 mmol/L 炭酸塩緩衝液	
[a] 25°C で4時間撹拌後に測定した。	

2.7.1.1.3.2　溶出性

MK-6482錠の溶出試験法の概要を、[表 2.7.1-5]に示す。溶出試験法及びその規格の詳細は[3.2.P.5.1 項]及び[3.2.P.5.2.2 項]に示す。代表ロットの溶出試験結果を[図 2.7.1-2]に示す。溶出試験の規格は、代表的な臨床試験用ロットの分析結果、FSS の結果及び開発用ロットの分析結果に基づき決定した。MK-6482錠の溶出試験の規格は、「[redacted]分間の Q 値：[redacted]%」である。詳細は[3.2.P.5.6 項]に示す。

表 2.7.1-5　溶出試験条件及びその規格

装置	[redacted]法（毎分[redacted]回転）
試験液	pH[redacted]の[redacted] mmol/L[redacted]緩衝液（[redacted] mmol/L[redacted]添加）
試験液量	[redacted] mL
試験液の温度	37 ± 0.5°C
規格	[redacted]分間の Q 値：[redacted]%

図 2.7.1-2　　代表ロットの溶出プロファイル



2.7.1.1.4　　製剤の in vivo での挙動の概要

臨床試験において、MK-6482錠の in vivo での挙動を評価した。[2.7.1.1.2 項]に記載したように、当初、臨床開発プログラムでは FFP を使用した。

MK-6482の曝露量に対する食事の影響を、FFP［MK-6482-002試験（002試験）］及び FMI［MK-6482-014試験（014試験）］において検討した。MK-6482 120 mg を空腹時に単回投与した際の Tmax の中央値は約1～2時間であった。いずれの試験でも、MK-6482の投与前に高脂肪・高カロリー食を摂取すると Tmax が遅延し、その差（食後－空腹時）は約2時間であった。しかし、AUC0-last 及び AUC0-inf に基づく比較では、AUC0-last 及び AUC0-inf の幾何平均比の90%信頼区間は0.80～1.25の基準範囲内であり、高脂肪・高カロリー食の摂取は MK-6482の吸収量に影響を及ぼさなかった。食後投与した際の MK-6482の Cmax は低かったことから（FFP で35%低下、FMI で24%低下）、食事が MK-6482の吸収速度に影響を及ぼす可能性が示唆された。ただし、[2.7.1.3.2 項]に記載したように、MK-6482の Tmax 及び Cmax に対する高脂肪・高カロリー食の影響は、臨床的に意味のあるものではないと考えられた。

FFP と FMF の経口バイオアベイラビリティは、相対的バイオアベイラビリティ試験（006試験）において評価した。[2.7.1.2.2 項]に記載したように、MK-6482の曝露量（AUC）の幾何平均比の90%信頼区間は生物学的同等性の範囲内であった。FFP と比較して FMF の Cmax はわずかに低かったが（13%）、この差は臨床的に意味のあるものではないと考えられた。重要な点として、120 mg を投与した際、FFP に対する FMF の MK-6482の AUC の幾何平均比の90%信頼区間は、生物学的同等性の基準範囲内であった。この評価に基づき、FMF と FFP は臨床的に同等であると考えられ、FMF はその後の臨床試験及び実施中の臨床試験において使用した。

[redacted]を行い、刻印を入れた FMI は、FMF と類似した溶出性を示すことを確認した。

補足情報を[3.2.P.2.3.2 項]に示す。

pH が上昇しても MK-6482[redacted]及び[redacted]により調整した[redacted]の[redacted]の溶解度が低下しないことに基づき、制酸剤併用の影響を検討する試験は実施しなかった。

[redacted]の影響を評価するため、[redacted]及び[redacted]の[redacted]を含有する製剤を投与することで、製剤間の経口バイオアベイラビリティを検討した。[redacted]を含有しない FMI に対する[redacted]及び[redacted]の[redacted]を含有する製剤での AUC0-inf の幾何平均比はそれぞれ1.03及び1.01であり、Cmax 及び AUC0-last でも統計的に有意な差はみられなかった。これらの結果から、製剤に含有する[redacted]の割合が[redacted]までであれば、製剤の挙動は影響を受けないと考えられた[5.3.1.2.2: P019]。

2.7.1.1.5　生体試料中薬物濃度分析法の概要

ヒト血漿中及び尿中の MK-6482及びそのグルクロン酸抱合体である PT3317を測定する LC-MS/MS 法を確立した。ヒト血漿中の MK-6482及び PT3317濃度を同時に測定する分析法（BAM.0419）[付録 2.7.1-1]を確立し、001試験、002試験、004試験、006試験、007試験及び020試験で用いた。また、ヒト血漿中の MK-6482を測定する分析法（BAM.0774及び TM.2857）を確立し[付録 2.7.1-2]、BAM.0774は008試験、009試験、014試験、019試験、021試験及び025試験で、TM.2857は005試験及び013試験で用いた。ヒト尿中の MK-6482及び PT3317を測定する分析法（BAM.0948）を確立し[付録 2.7.1-1]、025試験で用いた。測定施設は[表 2.7.1-6]に要約した。

BAM.0419では、安定同位体標識した内部標準を用いた重み付け二次回帰法により、液－液抽出後に LC-MS/MS を用いて血漿中の MK-6482及び PT3317を測定した。規制当局のガイドラインに基づき、分析法バリデーション及び実試料の分析を実施した。

BAM.0774では、代謝物 PT3317を測定しないことを除き、BAM.0419と同じ定量法を用いて、より感度の高い質量分析計を使用した。規制当局のガイドラインに基づき、分析法バリデーション及び実試料の分析を実施した。

TM.2857では、安定同位体標識した内部標準を用いた重み付け二次回帰法により、除蛋白後、LC-MS/MS を用いて血漿中の MK-6482を測定した。規制当局のガイドラインに基づき、分析法バリデーション及び実試料の分析を実施した。

BAM.0774及び TM.2857の分析能は、それぞれ[redacted]［[redacted]（米国）］及び[redacted]［[redacted]（カナダ）］で評価した[付録 2.7.1-3]。事前に規定した評価基準に基づき、[redacted]と[redacted]の分析能の結果は一貫しており、許容できるものと判断された。

BAM.0948では、安定同位体標識した内部標準を用いた重み付け二次回帰法により、液－液抽出

後に LC-MS/MS 法を用いて尿中の MK-6482及び PT3317を測定した。規制当局のガイドラインに基づき、分析法バリデーション及び実試料の分析を実施した。

血漿中 MK-6482及び PT3317の分析法である BAM.0419のバリデーションデータの要約及びその報告書の参照先を[付録 2.7.1-4]に示す。血漿中 MK-6482の分析法である BAM.0774及び TM.2857のバリデーションデータの要約及びその報告書の参照先をそれぞれ[付録 2.7.1-5]及び[付録 2.7.1-6]に示す。クロスバリデーションデータの要約及びその報告書の参照先を[付録 2.7.1-7]に示す。尿中 MK-6482の分析法である BAM.0948のバリデーションデータの要約及びその報告書の参照先を[付録 2.7.1-8]に示す。

血漿中及び尿中の MK-6482及び PT3317濃度の測定結果を、それぞれ[付録 2.7.1-9]及び[付録 2.7.1-10]に示す。001試験、002試験、004試験、005試験、006試験、007試験、008試験、009試験、013試験、014試験、019試験、020試験、021試験及び025試験の生体試料中薬物濃度分析報告書は、治験総括報告書又は[資料5.3.1.4]に含まれている。

実試料中の分析対象物質の濃度測定法の妥当性は、ブランク試料にそれぞれの分析対象物質を既知濃度で添加した QC 試料で評価した。LLOQ を上回る濃度は精度15%以内、真度85%～115%の範囲内、LLOQ の濃度は精度20%以内、真度80%～120%の範囲内と設定した。血漿中の LLOQ は、MK-6482で10.0 ng/mL、PT3317で5.00 ng/mL であった。尿中の LLOQ は、MK-6482で20.0 ng/mL、PT3317で100.00 ng/mL であった。

ヒト血漿中及び尿中の MK-6482及び PT3317は、-20°C 及び-80°C で安定であり、すべての試料はこの安定性の範囲内で分析された。

009試験における血漿中ミダゾラム及び α-ヒドロキシミダゾラム濃度の測定には、バリデートされた分析法を用いた。ミダゾラム及び α-ヒドロキシミダゾラムの生体試料中薬物濃度分析報告書は、治験総括報告書に含まれる。バリデーション報告書は、生体試料中薬物濃度分析報告書に含まれる。

MK-6482には3つの不斉中心があり、絶対配置は(R,S,S)である。In vivo で3つのキラル中心のうち1つ又は2つにおいて光学異性化が生じると、3対の立体異性体からなる MK-6482の6つのジアステレオマーが生成される。LC-MS/MS 法を用いて、MK-6482と6つのジアステレオマー（[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]）を分離した。(S,R,R)の絶対配置を有する MK-6482のエナンチオマーは、アキラルなクロマトグラフィーの条件下では MK-6482と共溶出する。MK-6482投与後の臨床の血漿試料では、6つのジアステレオマーのいずれかへの代謝は認められなかった。この結果から、3つのキラル中心すべてで反転して MK-6482の立体異性体を形成する可能性は非常に低いと考えられる。立体化学の評価に用いた詳細な方法及び結果を[5.3.1.4.1: 06CLRQ]に示す。一方、in vivo では鏡像異性体が形成される可能性は低いため、MK-6482とその立体異性体を分離するキラルクロマトグラフィー法は開発しなかった。

表 2.7.1-6　　分析法及び測定施設

分析法番号	分析対象物質	マトリックス	測定施設
BAM.0419	MK-6482及び PT3317	血漿	[redacted]（米国）
BAM.0774	MK-6482	血漿	[redacted]（米国）
BAM.0948	MK-6482及び PT3317	尿	[redacted]（米国）
TM.2857	MK-6482	血漿	[redacted]（カナダ）

2.7.1.2　　個々の試験結果の要約

MK-6482の生物薬剤学的開発プログラムは4つの生物薬剤学試験からなり、本項ではこれらの試験について簡潔に要約する。MK-6482の臨床開発プログラムにおいて実施した生物薬剤学試験の要約表を[付録 2.7.1-11]に示す。MK-6482製剤を用いた生物薬剤学試験における薬物動態及びその統計学的比較を[付録 2.7.1-12]に示す。

2.7.1.2.1　　MK-6482-002（002試験）

MK-6482 120 mg（FFP）を単回投与した際の薬物動態に対する食事の影響を、無作為化、非盲検、2期、2投与順序、単回投与、クロスオーバー試験において評価した[5.3.1.1.1: P002]。16例の非日本人健康女性被験者を組入れ、2つの投与順序（各順序8例）のいずれかに無作為に割り付けた。MK-6482投与の約30分前に高脂肪・高カロリー食を摂取した際、Tmax は遅延し、その差（食後－空腹時）の中央値は2時間であった。また、Cmax の幾何平均比（食後／空腹時）（90%信頼区間）は0.65（0.57, 0.73）であり、食後投与した際の MK-6482の Cmax は35%低く、食事が MK-6482の吸収速度に影響を及ぼす可能性が示唆された。しかしながら、食後と空腹時との AUC の比較（食後／空腹時）において、MK-6482 120 mg を投与した際の AUC0-last 及び AUC0-inf の幾何平均比（90%信頼区間）は、それぞれ0.94（0.88, 1.00）及び0.97（0.91, 1.02）であり、その信頼区間は0.80～1.25の基準範囲内であった[表 2.7.1-9]。このことから、高脂肪・高カロリー食の摂取は MK-6482の吸収量に影響を及ぼさなかった。

同様に、食後と空腹時との比較（食後／空腹時）において、MK-6482 120 mg を投与した際の MK-6482のグルクロン酸抱合体である PT3317の AUC0-last、AUC0-inf 及び Cmax の幾何平均比（90%信頼区間）は、それぞれ0.93（0.84, 1.04）、0.98（0.91, 1.05）及び0.61（0.51, 0.74）であり、PT3317の Cmax は約39%低かったが、AUC0-last 及び AUC0-inf に対する食事の影響は認められなかった。また、空腹時投与と比較して食後投与では、PT3317の Tmax が遅延した［差（食後－空腹時）の中央値は4時間］。

2.7.1.2.2　　MK-6482-006（006試験）

非日本人健康被験者を対象に無作為化、非盲検、3期、6投与順序、単回投与、クロスオーバー

試験を実施し、FMF と FFP との相対的バイオアベイラビリティを評価し、比較した[5.3.1.2.1: P006]。18例の健康被験者（女性15例及び精管切除術を受けた男性3例）を6つの投与順序（各順序3例）のいずれか1つに無作為に割り付け、3つの投与期のそれぞれで MK-6482 120 mg（40-mg FFP 錠 × 3錠）、MK-6482 120 mg（40-mg FMF 錠 × 3錠）又は MK-6482 200 mg（40-mg FMF 錠 × 5錠）を単回投与した。120 mg の MK-6482 FMF と MK-6482 FFP を比較（FMF/FFP）した AUC0-last、AUC0-inf 及び Cmax の幾何平均比（90%信頼区間）は、それぞれ0.93（0.88, 0.98）、0.93（0.88, 0.98）及び0.87（0.76, 0.99）であった[表 2.7.1-7]。AUC の幾何平均比の90%信頼区間は（0.8, 1.25）の範囲内であり、両製剤の AUC は同等と考えられた。FMF の Cmax は FFP と比較して若干低かったが、これは臨床的に意味のあるものではないと考えられた。また、本試験では、FMF の200 mg と120 mg の曝露量を比較し、高用量における曝露量（AUC、Cmax）は用量に比例して増加（約1.6倍）することが示された。

表 2.7.1-7　FMF と FFP の MK-6482 の相対的バイオアベイラビリティの比較

		AUC0-last	AUC0-inf	Cmax
比較	N	GMR (90% CI)	GMR (90% CI)	GMR (90% CI)
FMF/FFP	18	0.93 (0.88, 0.98)	0.93 (0.88, 0.98)	0.87 (0.76, 0.99)

AUC0-inf：投与後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、AUC0-last：投与後0時間から最終測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積、CI：信頼区間、Cmax：最高血漿中濃度、FFP：開発初期製剤、FMF：市販候補製剤、GMR：最小二乗平均に基づく幾何平均比、N：被験者数

Source: [5.3.1.2.1: P006]

2.7.1.2.3　MK-6482-014（014試験）

MK-6482 120 mg（FMI）を単回投与した際の薬物動態に対する食事の影響を、無作為化、非盲検、2期、2投与順序、単回投与、クロスオーバー試験において評価した[5.3.1.1.2: P014]。14例の非日本人健康被験者（妊娠の可能性がない女性9例及び精管切除を受けた男性5例）を組み入れ、2つの投与順序のいずれかに無作為に割り付けた。MK-6482投与の約30分前に高脂肪・高カロリー食を摂取した際、Tmax は遅延し、中央値の差（食後－空腹時）は約2時間であり、食後の Cmax は約24%低かった。しかしながら、食後と空腹時の AUC の比較（食後／空腹時）において、MK-6482 120 mg を投与した際の AUC0-last 及び AUC0-inf の幾何平均比（90%信頼区間）は、それぞれ1.00（0.94, 1.07）及び1.00（0.94, 1.07）であり、90%信頼区間は0.80～1.25の基準範囲内であった[表 2.7.1-9]。したがって、高脂肪・高カロリー食の摂取は MK-6482の吸収量に影響を及ぼさず、MK-6482は食事の有無にかかわらず投与できることが示された。

2.7.1.2.4　MK-6482-019（019試験）

非日本人健康被験者を対象とした無作為化、非盲検、3期、6投与順序、単回投与、クロスオーバー試験を実施し、FMI（[redacted]が[redacted]）を投与した際の MK-6482の薬物動態と[redacted]の

含有率が[redacted]錠剤［[redacted]（F-A 錠）及び[redacted]（F-B 錠）］を投与した際の MK-6482の薬物動態を比較した[5.3.1.2.2: P019]。18例の健康被験者（妊娠の可能性がない女性7例及び精管切除を受けた男性11例）を6つの投与順序（各順序3例）のいずれか1つに無作為に割り付け、3つの投与期のそれぞれで MK-6482 120 mg（40-mg FMI 錠 × 3錠、[redacted]）、MK-6482 120 mg（40-mg F-A 錠 × 3錠、[redacted]含有率[redacted]）又は MK-6482 120 mg（40-mg F-B 錠 × 3錠、[redacted]含有率[redacted]）を単回投与した。結果は以下のとおりである。

- MK-6482 120 mg FMI（[redacted]が[redacted]）に対する MK-6482 120 mg F-A 錠（[redacted]含有率[redacted]）の AUC0-24、AUC0-inf 及び Cmax の幾何平均比（5%/0%）（90%信頼区間）は、それぞれ0.98（0.93, 1.03）、1.03（0.96, 1.10）及び0.98（0.85, 1.12）であった。
- MK-6482 120 mg FMI（[redacted]が[redacted]）に対する MK-6482 120 mg F-B 錠（[redacted]含有率[redacted]）の AUC0-24、AUC0-inf 及び Cmax の幾何平均比（10%/0%）（90%信頼区間）は、それぞれ0.95（0.91, 1.00）、1.01（0.96, 1.05）及び0.95（0.84, 1.08）であった。
- 3剤すべての Tmax の中央値は同程度であった（[redacted]：2.00時間、[redacted]及び[redacted]：1.50時間）。

MK-6482 120 mg を単回投与した際、[redacted]又は[redacted]の[redacted]を含有製剤はいずれも、血漿中 AUC0-inf を本質的に低下させない。すなわち、FMI 中の[redacted]が[redacted]の場合と比較して、[redacted]含有率が[redacted]又は[redacted]の製剤の血漿中 AUC0-inf の真の幾何平均比は0.80以上である。最大[redacted]の[redacted]を含有する製剤における in vivo での挙動を[表 2.7.1-8]に示す。

これらの結果より、最大[redacted]の[redacted]を含有する製剤は生物学的に同等であると考えられる。

表 2.7.1-8　[redacted]及び[redacted]の[redacted]を含有する製剤で MK-6482 120 mg を単回経口投与した際の薬物動態の比較

		AUC0-24	AUC0-inf	Cmax
比較	N	GMR (90% CI)	GMR (90% CI)	GMR (90% CI)
F-A/FMI	17	0.98 (0.93, 1.03)	1.03 (0.96, 1.10)	0.98 (0.85, 1.12)
F-B/FMI	17	0.95 (0.91, 1.00)	1.01 (0.96, 1.05)	0.95 (0.84, 1.08)

AUC0-24：投与後0時間から24時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、AUC0-inf：投与後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、CI：信頼区間、Cmax：最高血漿中濃度、F-A：[redacted] Formulation A（[redacted]含有率[redacted]）、F-B：Formulation B（[redacted]含有率[redacted]）、FMI：市販予定製剤、GMR：最小二乗平均に基づく幾何平均比、N：被験者数

Source: [5.3.1.2.2: P019]

2.7.1.3　全試験を通しての結果の比較と解析

2.7.1.3.1　経口バイオアベイラビリティ

臨床プログラムでは、絶対的経口バイオアベイラビリティを評価しなかった。001試験において、

MK-6482 FFP の経口バイオアベイラビリティを評価した。結果を[2.7.2.2.1 項]に示す。用量漸増で20～240 mg を QD 投与及び120 mg を1日2回投与した際、FFP の経口投与時の曝露量は120 mg まで用量比に従って増加した。

FMF を臨床プログラムに導入する前に、FMF と FFP の経口バイオアベイラビリティと比較した。[3.2.P.2.2.1 項]に記載したように、[redacted]であり、in vivo での挙動に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。[redacted]又は[redacted]の[redacted]を含有する製剤を投与して、薬物動態に対する[redacted]の影響を評価するため、製剤の経口バイオアベイラビリティを検討した。

FMF と FFP の in vivo での挙動は、相対的バイオアベイラビリティ試験（006試験）において評価した。[表 2.7.1-7]に示すように、AUC0-inf の幾何平均比及び90%信頼区間は（0.80, 1.25）の範囲内に含まれていた。FMF の Cmax の幾何平均比はやや低下し、90%信頼区間の下限は0.80の基準をわずかに下回ったが、この差は臨床的に意味のあるものではないと考えられた。これらの結果から、製剤は臨床的に同等であり、継続中の臨床開発において FMF を使用することが支持された。[3.2.P.2.3.2 項]に記載したように、FMI は FMF と類似した溶出性を示すことを確認した。

臨床プログラムの一環として、FMI の経口バイオアベイラビリティに対する[redacted]の影響を検討した。019試験で評価するために、[redacted]又は[redacted]の[redacted]を含有する製剤を開発した。製剤の処方を[表 2.7.1-1]に示す。最大[redacted]の[redacted]を含有する製剤での in vivo での挙動を[表 2.7.1-8]に示す。

これらの結果は、最大[redacted]の[redacted]を含有する製剤は[redacted]を含まない製剤と生物学的に同等であることを示した。製剤に対する管理戦略により、製剤の使用期間を通じて[redacted]は生成されないことが保証されており、最大[redacted]の[redacted]を含有する製剤は、相対的経口バイオアベイラビリティに影響を及ぼさないと考えられる。

2.7.1.3.2　食事の影響

非日本人健康被験者を対象として、FFP（002試験）及び FMI（014試験）を投与した際の MK-6482 の薬物動態に対する食事の影響を、高脂肪・高カロリー食摂取後に予定用量の120 mg を用いて評価し、空腹時投与と比較した。MK-6482錠（FFP 又は FMI）を食後及び空腹時に投与した際の AUC 及び Cmax を[表 2.7.1-9]に示す。

食後と空腹時との比較（食後／空腹時）において、MK-6482 120 mg を投与した際の AUC0-last 及び AUC0-inf の幾何平均比（90%信頼区間）は、FFP 及び FMI のいずれにおいても1に近かった。食後投与した際の MK-6482の Cmax は低かったことから（FFP で35%低下、FMI で24%低下）、食事が MK-6482の吸収速度に影響を及ぼす可能性が示唆された。曝露量（AUC）は食事の有無にかかわらず同様であったことから、高脂肪・高カロリー食摂取後に認められた Cmax の低下は臨床的に意味があるものではないと考えられた。

表 2.7.1-9　　FFP 及び FMI を投与した際の MK-6482 の薬物動態に対する食事の影響

		AUC0-last	AUC0-inf	Cmax
比較	N	GMR (90% CI)	GMR (90% CI)	GMR (90% CI)
FFP 食後／空腹時（002試験）	16	0.94 (0.88, 1.00)	0.97 (0.91, 1.02)	0.65 (0.57, 0.73)
FMI 食後／空腹時（014試験）	14	1.00 (0.94, 1.07)	1.00 (0.94, 1.07)	0.76 (0.64, 0.91)
AUC0-inf：投与後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、AUC0-last：投与後0時間から最終測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積、CI：信頼区間、Cmax：最高血漿中濃度、FFP：開発初期製剤、FMI：市販予定製剤、GMR：最小二乗平均に基づく幾何平均比、N：被験者数				

Source: [5.3.1.1.1: P002]、[5.3.1.1.2: P014]

両試験の結果から、食事の有無にかかわらず MK-6482を投与できることが裏付けられた。

2.7.1.4　　結論

本項に要約した in vitro 及び in vivo 試験から、MK-6482の生物薬剤学的特性に関する以下の結論が裏付けられた。

- MK-6482は BCS クラス II の化合物で、製剤は[redacted]の錠剤である。In vitro 及び in vivo での結果に基づいて、FFP、FMF 及び FMI は臨床的に同等であった。
- 食事は MK-6482の薬物動態に臨床的に意味のある影響を及ぼさない。食事の有無にかかわらず FMI を投与することができる。
- pH が上昇しても MK-6482[redacted]及び[redacted]により調製した[redacted]の[redacted]の溶解度は低下しない。したがって、胃内 pH を調節する薬剤の併用の有無にかかわらず FMI を投与することができる。
- 製剤に含有する[redacted]の割合が[redacted]までであれば、MK-6482の経口バイオアベイラビリティは臨床的に意味のある影響を受けない。
- バリデートされた生体試料中薬物濃度分析法を用いて、実試料中の MK-6482及びそのグルクロン酸抱合体である PT3317を測定した。分析能は、規制当局のガイドラインに規定された要件を満たした。

2.7.1.5　付録

2.7.1.5.1　MK-6482の臨床開発プログラムで使用した生体試料中薬物濃度分析法

臨床開発プログラムで使用したヒト血漿中及び尿中の MK-6482及びそのグルクロン酸抱合体（PT3317）濃度の分析法を以下の表に示す。

付録 2.7.1-1　MK-6482 及び PT3317 のバリデートされた分析法の要約

分析対象物質	Belzutifan (MK-6482, PT2977) and Metabolite (PT3317, L-006442280)		
バリデーションの種類	Full	Partial	Full
資料番号	Not applicable	Not applicable	Not applicable
分析法番号	BAM.0419 [5.3.1.4.2: 05Q2NZ]	BAM.0419 [5.3.1.4.2: 05Q2NZ]	BAM.0948 [5.3.1.4.4: 08F6CK]
測定期間	[redacted]-20[redacted] to [redacted]-20[redacted]	[redacted]-20[redacted] to [redacted]-20[redacted]	[redacted]-20[redacted] to [redacted]-20[redacted]
測定施設	[redacted] USA	[redacted] USA	[redacted] USA
マトリックス	Human plasma		Human urine fortified to contain 0.2% Tween 20
測定方法	Liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)		
測定手順	Liquid-liquid extraction and using stable isotope-labeled internal standards, with analysis via LC-MS/MS		Liquid-liquid extraction and using stable isotope-labeled internal standards, with analysis via LC-MS/MS
標準品、ロット番号、有効期限	MK-6482, Lot: [redacted], Exp: 27-JUL-2017 PT3317, Lot: [redacted], Exp: 30-MAR-2017	MK-6482, Lot: [redacted], [redacted], [redacted], Exp: 15-JUN-2018, 15-MAY-2019, 18-MAR-2020 PT3317, Lot: [redacted], [redacted], [redacted], Exp: 31-JAN-2018, 17-JAN-2019, 31-JUL-2020	MK-6482, Lot: [redacted], Exp: 30-JUN-2022, 30-JUN-2025 PT3317, Lot: [redacted], Exp: 31-JUL-2023
定量範囲	MK-6482: 10.0 to 10000 ng/mL PT3317: 5.00 to 5000 ng/mL	MK-6482: 10.0 to 10000 ng/mL PT3317: 5.00 to 5000 ng/mL	MK-6482: 20.0 to 20,000 ng/mL PT3317: 100 to 100,000 ng/mL
マトリックスの対象集団	Normal	Normal	Normal
報告書	BIO.VR.0143-1819.01 [5.3.1.4.14: 05Q2NX]	BIO.VR.0143-1819.02 [5.3.1.4.3: 05Q78W]	BIO.VR.0350-3103.01 [5.3.1.4.5: 08F7YW]; BIO.VR.0350-3103.02 [5.3.1.4.6: 08F6D2]
改定歴の概要	Original validation	Partial validation was conducted to 1) extend long-term stability in frozen matrix and stock stabilities, 2) long run length assessment; 3) update the method in alignment with the FDA 2018 Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation	BIO.VR.0350-3103.01: Original validation; BIO.VR.0350-3103.02: Validation amendment to cover the extension of long-term stability in frozen matrix

Confidential

付録 2.7.1-2　MK-6482 のバリデートされた分析法の要約

分析対象物質	MK-6482	
バリデーションの種類	Partial	Full
資料番号	Not applicable	Not applicable
分析法番号	BAM.0774 [5.3.1.4.7: 0877TX]	TM.2857 [5.3.1.4.9: 086L0L]
測定期間	[redacted] 20[redacted] to present	[redacted] -20[redacted] to present
測定施設	[redacted], USA	[redacted], Canada, [redacted]
マトリックス	Plasma	
測定方法	Liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)	
測定手順	Liquid-liquid extraction followed by analysis via LC-MS/MS	Protein precipitation followed by analysis via LC-MS/MS
標準品、ロット番号、有効期限	MK-6482, Lot: [redacted], Exp: 30-JUN-2022	MK-6482, Lot: [redacted], Exp: JUN-2020
定量範囲	10.0 to 10000 ng/mL	10.0 to 10000 ng/mL
マトリックスの対象集団	Normal	Normal
報告書	BIO.VR.0350-2582.01 [5.3.1.4.8: 086L0K]	197257AXII Revision 01: [5.3.1.4.9: 086L0L], 197257AXII Revision 02: [5.3.1.4.10: 089L82]
改定歴の概要	The partial validation of method BAM.0774 was conducted to modify the previously validated BAM.0419 methodology; objectives of the method modification included 1) removal of a metabolite (PT3317) from the originally validated BAM.0419 assay, and 2) to change the triple quadrupole mass spectrometer platform.	197257AXII Revision 01: Original validation; 197257AXII Revision 02: Adding extended stability data of analyte in matrix

付録 2.7.1-3　MK-6482 の分析法のクロスバリデーションの要約

分析対象物質	MK-6482	
バリデーションの種類	Method Cross-Validation	
資料番号	Not applicable	Not applicable
分析法番号	BAM.0774 [5.3.1.4.7: 0877TX]	TM.2857 [5.3.1.4.9: 086L0L]
測定期間	[redacted] 20[redacted] to present	[redacted] -20[redacted] to present
測定施設	[redacted], USA	[redacted], Canada, [redacted]
マトリックス	Plasma	
測定方法	Liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)	
測定手順	Liquid-liquid extraction followed by analysis via LC-MS/MS	Protein precipitation followed by analysis via LC-MS/MS
標準品、ロット番号、有効期限	MK-6482, Lot: [redacted], Exp: 30-JUN-2025	MK-6482, Lot: [redacted], Exp: 30-JUN-2025
定量範囲	10.0 to 10000 ng/mL	10.0 to 10000 ng/mL
マトリックスの対象集団	Normal	Normal
報告書	BIO.VR.0350-2582.03 [5.3.1.4.11: 086JX6]; BIO.VR.0350-2582.06 [5.3.1.4.12: 08DS9W]	227120BDFV [5.3.1.4.13: 086JXF]
改定歴の概要	Original cross-validation	Original cross-validation

2.7.1.5.2　MK-6482の血漿中及び尿中の分析法のバリデーションデータ

臨床開発プログラムで使用したヒト血漿中及び尿中の MK-6482及び PT3317濃度の分析法のバリデーションデータを以下の表に示す。

付録 2.7.1-4　BAM.0419 のバリデーションデータ

生体試料中薬物濃度分析法バリデーションの報告書名、改訂及びリンク	Validation of an LC-MS/MS Assay for Determination of MK-6482 (PT2977) and PT3317 in K_2EDTA Human Plasma. [redacted] Report Number: BIO.VR.0143-1819.01 [5.3.1.4.14: 05Q2NX]; BIO.VR.0143-1819.02 [5.3.1.4.3: 05Q78W]		
測定方法	LC-MS/MS method for the determination of MK-6482 and PT3317 in human plasma		
検量線用標準試料及び濃度	Control human plasma and MK-6482 and PT3317 reference standard. MK-6482 Calibrator Concentrations: 10.0, 20.0, 100, 500, 1000, 4000, 8000, and 10000 ng/mL PT3317 Calibrator Concentrations: 5.00, 10.0, 50.0, 250, 500, 2000, 4000, and 5000 ng/mL		
定量範囲	MK-6482: 10.0 to 10000 ng/mL, PT3317: 5.00 to 5000 ng/mL		
QC 試料及び濃度	Control human plasma and MK-6482 and PT3317 reference standard. MK-6482 QC concentrations: 10.0, 30.0, 750, 3000, and 7500 ng/mL PT3317 QC concentrations: 5.00, 15.0, 375, 1500, and 3750 ng/mL		
Minimum required dilutions (MRDs)	Not applicable		
供給元及び試薬のロット	Control human plasma from commercial suppliers. MK-6482 and PT3317 reference standards from [redacted]. Internal standards for MK-6482 and PT3317 from [redacted].		
回帰モデル及び重み付け	Quadratic, $1/x^2$ weighting		
バリデーションパラメータ	分析法バリデーションの要約		Source location
フルバリデーションでの検量線用標準試料の真度及び精度	LLOQ から ULOQ までの試料数	8	Table 4, 5 of Report BIO.VR.0143-1819.01
	LLOQ から ULOQ までの累積真度（%bias）	MK-6482: -1.8 to 1.4% PT3317: -5.5 to 3.0%	Table 4, 5 of Report BIO.VR.0143-1819.01
	LLOQ から ULOQ までの累積精度（%CV）	MK-6482: ≤6.5% PT3317: ≤5.9%	Table 4, 5 of Report BIO.VR.0143-1819.01
フルバリデーションでの QC 試料の真度及び精度	4つの QC 試料の累積真度（%bias）	MK-6482: -6.6 to -1.7% PT3317: -5.0 to -2.0%	Table 12, 13 of Report BIO.VR.0143-1819.01
	バッチ間の%CV	MK-6482: ≤7.3% PT3317: ≤8.4%	Table 12, 13 of Report BIO.VR.0143-1819.01
	Total Error (TE)	Not calculated	Not calculated
パーシャルバリデーションでの検量線用標準試料の真度及び精度	LLOQ から ULOQ までの試料数	8	Table 3, 7 of Report BIO.VR.0143-1819.02
	LLOQ から ULOQ までの累積真度（%bias）	MK-6482: -2.7 to 4.5% PT3317: -3.4 to 3.3%	Table 3, 7 of Report BIO.VR.0143-1819.02
	LLOQ から ULOQ までの累積精度（%CV）	MK-6482: ≤11.3% PT3317: ≤7.7%	Table 3, 7 of Report BIO.VR.0143-1819.02

付録 2.7.1-4　BAM.0419 のバリデーションデータ（続き）

パーシャルバリデーションでの QC 試料の真度及び精度	5つの QC 試料の累積真度（%bias）	MK-6482: 0.5 to 6.0% PT3317: 0 to 5.4%	Table 11, 14 of Report BIO.VR.0143-1819.02
	バッチ間の%CV	MK-6482: ≤ 8.9% PT3317: ≤ 8.0%	Table 11, 14 of Report BIO.VR.0143-1819.02
	Total Error (TE)	Not calculated	Not calculated
選択性及びマトリックス効果	Analysis of QC1 samples prepared in 10 different lots of control matrix. MK-6482: mean bias was -1.0%; CV was 6.0%. PT3317: mean bias was 4.7%; CV was 7.1%.		Table 20, 21 of Report BIO.VR.0143-1819.01
干渉及び特異性	Ten lots of control matrix tested. No interference was observed in any of the lots tested for MK-6482 or PT3317. Selectivity of the assay in the presence of potential dietary, habitual, or OTC substances was assessed, including acetylsalicylic acid, nicotine, acetaminophen, ibuprofen, diphenhydramine, pseudoephedrine, phenylephrine, caffeine, dextromethorphan, naproxen, pheniramine. Four drug substances expected to be administered with belzutifan, including cabozantinib, axitinib, sunitinib and pazopanib, were also tested for interference against either belzutifan or PT3317. No test substance interfered, and the accuracy and precision for both analytes met the 15.0% accuracy and precision acceptance criteria.		Table 18, 19, 51, 52, 53 of Report BIO.VR.0143-1819.01
溶血の影響	Two lots of control matrix tested. No interference was observed. Low and high QCs were prepared 2% hemolyzed blood and 98% plasma. MK-6482: Mean % bias was 6.3 and 3.9 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=3) was 1.1 and 1.7% CV for the low and high QCs, respectively. PT3317: Mean % bias was 8.0 and 10.1 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=3) was 8.4 and 4.6% CV for the low and high QCs, respectively.		Table 22, 23 of Report BIO.VR.0143-1819.01
脂肪血症の影響	Two lots of control matrix tested. No interference was observed. Low and high QCs were prepared lipemic plasma. MK-6482: Mean % bias was 5.3 and 5.6 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=3) was 3.5 and 1.0% CV for the low and high QCs, respectively. PT3317: Mean % bias was 0.7 and 7.5 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=3) was 5.8 and 3.3% CV for the low and high QCs, respectively.		Table 24, 25 of Report BIO.VR.0143-1819.01
希釈直線性及びフック効果	MK-6482: 15000 ng/mL tested (n=6) with a 10-fold dilution factor. Mean bias was -8.7%, CV was 1.0%. PT3317: 7500 ng/mL tested (n=6) with a 10-fold dilution factor. Mean bias was -9.2%, CV was 1.3%		Table 16, 17 of Report BIO.VR.0143-1819.01
ベンチトップ／処理過程の安定性	MK-6482: 24.6 hours of bench-top stability for low and high QC samples was established. Mean % bias was -8.3 and -6.5 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=5) was 1.3 and 1.6% CV for the low and high QCs, respectively. PT3317: 24.6 hours of bench-top stability for low and high QC samples was established. Mean % bias was -4.0 and -7.2 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=5) was 4.1 and 4.0% CV for the low and high QCs, respectively.		Table 32, 33 of Report BIO.VR.0143-1819.01

付録 2.7.1-4　BAM.0419 のバリデーションデータ（続き）

凍結融解安定性（-80ºC）	MK-6482: Low and high QC samples were prepared, stored at -80ºC and subjected to 5 freeze-thaw cycles. Mean % bias was determined to be 7.0 and -2.0 for the low and high QCs, respectively. Precision CV (n=4) was 2.5 and 1.3% for the low and high QCs, respectively. PT3317: Low and high QC samples were prepared, stored at -80ºC and subjected to 5 freeze-thaw cycles. Mean % bias was determined to be 4.7 and -1.6 for the low and high QCs, respectively. Precision CV (n=4) was 8.9 and 2.5% for the low and high QCs, respectively.	Table 35, 37 of Report BIO.VR.0143-1819.01
凍結融解安定性（-20ºC）	MK-6482: Low and high QC samples were prepared, stored at -20ºC and subjected to 5 freeze-thaw cycles. Mean % bias was determined to be 3.7 and -0.1 for the low and high QCs, respectively. Precision CV (n=4) was 2.7 and 0.9% for the low and high QCs, respectively. PT3317: Low and high QC samples were prepared, stored at -20ºC and subjected to 5 freeze-thaw cycles. Mean % bias was determined to be 6.7 and -1.6 for the low and high QCs, respectively. Precision CV (n=4) was 1.9 and 7.1% for the low and high QCs, respectively.	Table 34, 36 of Report BIO.VR.0143-1819.01
長期保存安定性	Low and high QC samples were prepared and stored at -20ºC and -80ºC. Stability at -20ºC was established for 736 days. MK-6482: Mean % bias was 10.7 and 3.1 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 7.8 and 4.0% CV for the low and high QCs, respectively. PT3317: Mean % bias was 4.7 and -7.2 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 6.9 and 3.7% CV for the low and high QCs, respectively. Stability at -80°C was established for 724 days. MK-6482: Mean % bias was 0.3 and 3.3 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 6.9 and 1.8% CV for the low and high QCs, respectively. PT3317: Mean % bias was -5.3 and -11.5 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 8.7 and 9.7% CV for the low and high QCs, respectively.	Table 22, 23, 24, and 25 of Report BIO.VR.0143-1819.02
平行性	Not applicable	Not applicable
キャリーオーバー	Carryover within the bioanalytical method was evaluated in the validation by injecting one or more zero standards immediately after an ULOQ standard. Relative carryover was determined by calculating the peak area of the carryover blanks as a percentage of mean peak area of the LLOQ standards for the run. Carryover was ≤3.8% for MK-6482 and 0.0% for PT3317.	Page 39 of BIO.VR.0143-1819.01

付録 2.7.1-5　BAM.0774 のバリデーションデータ

生体試料中薬物濃度分析法バリデーションの報告書名、改訂及びリンク	Validation of an LC-MS/MS Assay for Determination of MK-6482 in K_2EDTA Human Plasma. [redacted] Report Number: BIO.VR.0350-2582.01 [5.3.1.4.8: 086L0K]		
測定方法	LC-MS/MS method for the determination of MK-6482 in human plasma		
検量線用標準試料及び濃度	Control human plasma and MK-6482 reference standard MK-6482 Calibrator Concentrations: 10.0, 20.0, 100, 500, 1000, 4000, 8000, and 10000 ng/mL		
定量範囲	10.0 to 10000 ng/mL		
QC 試料及び濃度	Control human plasma and MK-6482 reference standard. QC concentrations: 10.0, 30.0, 750, 3000, 7500, and 15000 ng/mL		
Minimum required dilutions (MRDs)	Not applicable		
供給元及び試薬のロット	Control human plasma from commercial suppliers. MK-6482 reference standard from Merck & Co., Inc. Internal standard from [redacted].		
回帰モデル及び重み付け	Quadratic, $1/x^2$ weighting		
バリデーションパラメータ	分析法バリデーションの要約		Source location
パーシャルバリデーションでの検量線用標準試料の真度及び精度	LLOQ から ULOQ までの試料数	8	Table 2 of Report BIO.VR.0350-2582.01
	LLOQ から ULOQ までの累積真度（%bias）	-9.5 to 6%	Table 2 of Report BIO.VR.0350-2582.01
	LLOQ から ULOQ までの累積精度（%CV）	Not calculated	Table 2 of Report BIO.VR.0350-2582.01
パーシャルバリデーションでの QC 試料の真度及び精度	5つの QC 試料の累積真度（%bias）	-13.7 to -10.4%	Table 4 of Report BIO.VR.0350-2582.01
	バッチ間の%CV	≤1.7%	Table 4 of Report BIO.VR.0350-2582.01
	Total Error (TE)	Not calculated	Not calculated
選択性及びマトリックス効果	Ten lots of control matrix tested, including 2 lipemic lots and 2 hemolyzed lots. The raw response for each lot was compared with the mean raw response of the LLOQ standard calibrator. The method is considered to be selective if the raw response for the analyte is ≤20.0% of the mean analyte response for the LLOQ CS and the raw response for the ISTD is ≤5.0% of the mean raw ISTD response across the passing standards and QCs. All unspiked selectivity lots assayed met the criteria, with one exception. One hemolysis lot (Lot I) showed an ISTD response of 10.7% at the retention time of interest that exceeded the 5.0% threshold for identification of an "interference." As the response was observed in no more than 1 of the 10 total lots assayed, selectivity met the acceptance criteria. Analysis of QC samples at LLOQ level prepared in 10 different lots of control matrix, including 2 lipemic lots and 2 hemolyzed lots. Mean bias was -13.9%; CV was 4.1%. Analysis of low and high QC samples prepared in 6 different lots of control matrix. CV for IS-normalized matrix factors was ≤0.8%.		Table 5, 6, 7 of Report BIO.VR.0350-2582.01

付録 2.7.1-5　BAM.0774 のバリデーションデータ（続き）

干渉及び特異性	Specificity and interference assessment were performed for the assay in the presence of co-administered drugs. For the interference assessment, low and high validation samples (VS) were prepared to contain the co-administered drugs at concentrations near their C_{max} for a typical dose. For the co-administered specificity assessment, control matrix was also spiked to contain the co-administered drugs at the same C_{max} concentrations. The results met the acceptance criteria. The co-administered drugs are deemed not to impact the assay specificity, accuracy and precision, up to the concentrations spiked in the validation samples. Mean % bias was determined to be -8.7 and -5.3 for the low and high VS, respectively. CV (n=4) was 2 and 3% for the low and high VS, respectively.	Table 8, 9, 10 of Report BIO.VR.0350-2582.01
キャリーオーバー	The potential for carryover of the analyte or ISTD from the prior injection was tested by injecting a carryover sample consisting of blank extracted matrix after the highest CS from the first calibration curve in a run. The guidance for carryover is that the raw analyte response for a carryover sample should be ≤20.0% of the mean raw analyte response for the passing LLOQ CS. The carryover sample in the core run met the acceptance criteria. The carryover result, expressed as a percentage of the LLOQ mean response, was 1.5%.	Page 26 of Report BIO.VR.0350-2582.01

付録 2.7.1-6　TM.2875 のバリデーションデータ

生体試料中薬物濃度分析法バリデーションの報告書名、改訂及びリンク	Validation of a Liquid Chromatographic Method Using Tandem Mass Spectrometry Detection and Automated Extraction for The Determination of MK-6482 (10 To 10000 ng/mL) in Human EDTA K_2 Plasma. [redacted] Study No. 197257AXII, Revision 01 [5.3.1.4.9: 086L0L], Revision 02 [5.3.1.4.10: 089L82]		
測定方法	LC-MS/MS method for the determination of MK-6482 in human plasma		
検量線用標準試料及び濃度	Control human plasma and MK-6482 reference standard. Calibrator Concentrations: 10.00, 20.00, 200.00, 1000.00, 2000.00, 4000.00, 8000.00, and 10000.00 ng/mL		
定量範囲	10.0 to 10000 ng/mL		
QC 試料及び濃度	Control human plasma and MK-6482 reference standard. QC concentrations:　10.00 (LLQC), 30.0 (QC1), 5000.00(QC2), and 7500.00 (QC3) ng/mL		
Minimum required dilutions (MRDs)	Not applicable		
供給元及び試薬のロット	The human EDTA K_2 plasma used was obtained from [redacted] ([redacted] USA). MK-6482 reference standard and internal standard were from Merck & Co., Inc.		
回帰モデル及び重み付け	Linear, $1/C^2$ weighting		
バリデーションパラメータ	分析法バリデーションの要約		Source location
フルバリデーションでの検量線用標準試料の真度及び精度	LLOQ から ULOQ までの試料数	8	Table 3A of Report 197257AXII Revision 01
	LLOQ から ULOQ までの累積真度（%bias）	-2.18 to 1.04%	Table 3A of Report 197257AXII Revision 01
	LLOQ から ULOQ までの累積精度（%CV）	≤ 4.81%	Table 3A of Report 197257AXII Revision 01
フルバリデーションでの QC 試料の真度及び精度	4つの QC 試料の累積真度（%bias）	-1.65 to 0.44%	Table 4A of Report 197257AXII Revision 01
	バッチ間の%CV	≤6.79%	Table 4A of Report 197257AXII Revision 01
	Total Error (TE)	Not calculated	Not calculated
マトリックス選択性	Eight randomly selected blank human EDTA K_2 plasma sources (including one hyperlipemic and one 5% hemolyzed EDTA K_2 plasma sources) were analyzed as blank samples (without analyte and internal standard) and zero standards (with internal standard). No significant interference observed in 8 of 8 tested matrices for MK-6482 and its IS.		Table 9A of Report 197257AXII Revision 01

付録 2.7.1-6　TM.2875 のバリデーションデータ（続き）

マトリックス効果	The matrix effect was measured at two analyte concentrations, i.e. low (QC1) and upper (ULOQ) levels prepared in individual lots of normal matrix (n=6), hyperlipemic matrix (n=1) and 5% hemolyzed matrix (n=1). Two reference neat solutions were prepared at concentrations equivalent to the QC1 (RSQC1) and ULOQ (RSULOQ). Those solutions were used to reconstitute eight different lots of extracted human EDTA K_2 control plasma (BLKQC1 and BLKULOQ). Eight replicates each of RSQC1 and RSULOQ, and the eight BLKQC1 and BLKULOQ samples were analyzed in a single run. For each concentration level, the analyte and internal standard matrix factors were calculated separately first and then an internal standard normalized matrix factor was calculated. The results met the pre-established acceptance criteria. Mean IS-normalized matrix factor: 1.014921 (QC1) and 0.999965 (ULOQ) CV: 2.27% (QC1) and 0.50% (ULOQ)	Table 12A, 13A of Report 197257AXII Revision 01
干渉及び特異性	Low (QC1) quality control samples were fortified with the following drugs at their respective therapeutic concentrations: acetaminophen, acetylsalicylic acid, caffeine, cotinine, dextromethorphan, dimenhydrinate, diphenhydramine, ethinyl estradiol, ibuprofen, levonorgestrel, nicotine, pseudoephedrine, and salicylic acid. These fortified quality control samples were processed, analyzed, and their concentrations and biases were calculated to evaluate the potential interference of each drug with the MK-6482 assay. The results met the pre-established acceptance criteria. One blank (BLKF) and one zero standard (ZSF) samples were fortified with MK-6482 glucuronide at its approximate expected maximal matrix concentration. No significant interference observed in BLK and ZS samples.	Table 10A, 11A of Report 197257AXII Revision 01
溶血の影響	One 5% hemolyzed lot of blank tested. No interference was observed.	Table 9A of Report 197257AXII Revision 01
脂肪血症の影響	One hyperlipemic lot of blank tested. No interference was observed.	Table 9A of Report 197257AXII Revision 01
希釈直線性及びフック効果	20000 ng/mL tested (n=6) with a 20-fold dilution factor. Mean bias was -8.48%, CV was 1.50%.	Table 8A of Report 197257AXII Revision 01
ベンチトップ／処理過程の安定性	28 hours 35 minutes of bench-top stability for QC1 (low QC) and QC3 (high QC) samples was established. Mean % bias was -2.90 and 0.27 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 3.58 and 0.73% CV for the low and high QCs, respectively.	Table 21A of Report 197257AXII Revision 01
凍結融解安定性（-80ºC）	Low and high QC (QC1 and QC3) samples were prepared, stored at -80ºC and subjected to 4 freeze-thaw cycles. Mean % bias was determined to be -0.15 and -0.76 for the low and high QCs, respectively. Precision CV (n=6) was 1.98 and 2.16% for the low and high QCs, respectively.	Table 18A of Report 197257AXII Revision 01

付録 2.7.1-6　TM.2875 のバリデーションデータ（続き）

凍結融解安定性 （-20ºC）	Low and high QC (QC1 and QC3) samples were prepared, stored at -20ºC and subjected to 4 freeze-thaw cycles. Mean % bias was determined to be -2.69 and 0.06 for the low and high QCs, respectively. Precision CV (n=6) was 3.43 and 1.25% for the low and high QCs, respectively.	Table 17A of Report 197257AXII Revision 01
長期保存安定性	Low and high QC samples (QC1 and QC3) were prepared and stored at -20ºC and -80ºC. Stability at -20°C was established for 996 days. Mean % bias was -4.46 and -2.81 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 2.91 and 2.02% CV for the low and high QCs, respectively. Stability at -80°C was established for 996 days. Mean % bias was -1.86 and -1.95 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 1.52 and 1.81% CV for the low and high QCs, respectively.	Table 25.4A, 26.4A of Report 197257AXII Revision 02
平行性	Not applicable	Not applicable
キャリーオーバー	Carryover during method validation was evaluated by injecting a zero standard (ZS) sample immediately after a ULOQ sample and a blank sample (BLK) immediately after a ZS sample, at the beginning and at the end of each run. The relative carryover for each run was determined by calculating peak area response in ZS samples (for analyte carryover) versus the mean analyte responses in the LLOQ standards of the run and in BLK samples (for internal standard carryover) versus the mean internal standard responses in the same LLOQ samples. The results met the pre-established acceptance criteria. Carryover was ≤5.71% for MK-6482 and ≤0.06% for the internal standard.	Table 14A, 15A of Report 197257AXII Revision 01

付録 2.7.1-7　BAM.0774 及び TM.2857 のクロスバリデーションデータ

生体試料中薬物濃度分析法バリデーションの報告書名、改訂及びリンク	Validation of an LC-MS/MS Assay for Determination of MK-6482 in K_2EDTA Human Plasma, Validation Report Amendment. [redacted] Report Number: BIO.VR.0350-2582.03 [5.3.1.4.11: 086JX6]; BIO.VR.0350-2582.06 [5.3.1.4.12: 08DS9W]; Cross-Validation Between [redacted] and [redacted] Of MK-6482 (10 to 10000 ng/mL) in Human EDTA K_2 Plasma, [redacted] Study No.: 227120BDFV [5.3.1.4.13: 086JXF] Merck Report Number: vrbt00286mk6482 [5.3.1.4.15: 086JDR]		
測定方法	LC-MS/MS method for the determination of MK-6482 in human plasma		
検量線用標準試料及び濃度	Control human plasma and MK-6482 reference standard MK-6482 Calibrator Concentrations: Method BAM.0774 [5.3.1.4.7: 0877TX]: 10.0, 20.0, 100, 500, 1000, 4000, 8000, and 10000 ng/mL Method TM.2857 [5.3.1.4.9: 086L0L]: 10.00, 20.00, 200.00, 1000.00, 2000.00, 4000.00, 8000.00, and 10000.00 ng/mL		
定量範囲	MK-6482 10.0 to 10000 ng/mL		
QC 試料及び濃度	Control human plasma and MK-6482 reference standard MK-6482 QC concentrations:　30.0, 750, 3000, 5000 and 7500 ng/mL		
Minimum required dilutions (MRDs)	Not applicable		
供給元及び試薬のロット	Control human plasma from commercial suppliers. MK-6482 reference standards and internal standards from Merck & Co., Inc.		
回帰モデル及び重み付け	Method BAM.0774 [5.3.1.4.7: 0877TX]: Quadratic, $1/x^2$ weighting Method TM.2857 [5.3.1.4.9: 086L0L]: Linear; $1/C^2$ weighting		
バリデーションパラメータ	分析法バリデーションの要約		Source location
BAM.0774の検量線用標準試料の真度及び精度	LLOQ から ULOQ までの試料数（各濃度 n = 6）	8	Table 2 of [redacted] Report BIO.VR.0350-2582.06
	LLOQ から ULOQ までの累積真度（%bias）	-2.2 to 3%	Table 2 of [redacted] Report BIO.VR.0350-2582.06
	LLOQ から ULOQ までの累積精度（%CV）	≤ 10%	Table 2 of [redacted] Report BIO.VR.0350-2582.06
	Total Error (TE)	Not calculated	Not calculated
BAM.0774の QC 試料の真度及び精度	4つの QC 試料の累積真度（%bias）（各濃度 n = 18）	0.7 to 3%	Table 3 of [redacted] Report BIO.VR.0350-2582.06
	バッチ間の%CV	≤ 3.5%	Table 3 of [redacted] Report BIO.VR.0350-2582.06
	Total Error (TE)	Not calculated	Not calculated
TM.2857の検量線用標準試料の真度及び精度	LLOQ から ULOQ までの試料数（各濃度 n = 6）	8	Annex 2 of [redacted] Report Study No.: 227120BDFV
	LLOQ から ULOQ までの累積真度（%bias）	-2.17 to 1.66%	Annex 2 of [redacted] Report Study No.: 227120BDFV
	LLOQ から ULOQ までの累積精度（%CV）	≤7.98%	Annex 2 of [redacted] Report Study No.: 227120BDFV
TM.2857の QC 試料の真度及び精度	3つの QC 試料の累積真度（%bias）（各濃度 n = 18）	-1.13 to 0.98%	Annex 2 of [redacted] Report Study No.: 227120BDFV
	バッチ間の%CV	≤ 3.72%	Annex 2 of [redacted] Report Study No.: 227120BDFV
	Total Error (TE)	Not calculated	Not calculated

付録 2.7.1-7　BAM.0774 及び TM.2857 のクロスバリデーションデータ（続き）

バリデーションパラメータ	分析法バリデーションの要約		Source location
BAM.0774の QC 試料のクロスバリデーションの結果	4つの QC 試料の累積真度（%bias）（各濃度 n = 30）	-5.7 to 0.3%	Table 6 of [redacted] Report BIO.VR.0350-2582.03
	バッチ間の%CV	≤2.5%	Table 6 of [redacted] Report BIO.VR.0350-2582.03
	Total Error (TE)	Not calculated	Not calculated
TM.2857の QC 試料のクロスバリデーションの結果	4つの QC 試料の累積真度（%bias）（各濃度 n = 30）	-2.1 to 1.0%	Table 7 of [redacted] Report BIO.VR.0350-2582.03†
	バッチ間の%CV	≤11.3%	Table 7 of [redacted] Report BIO.VR.0350-2582.03†
	Total Error (TE)	Not calculated	Not calculated
4つの QC 試料における測定施設間の相違（%）	≤4.2%		Table 1 of Merck Report vrbt00286mk6482

† [redacted] Report Study No. 227120BDFV では計算されていない。

付録 2.7.1-8　BAM.0948 のバリデーションデータ

生体試料中薬物濃度分析法バリデーションの報告書名、改訂及びリンク	Validation of an LC-MS/MS Assay for Determination of MK-6482 and PT3317 in Human Urine. [redacted] Report Number: BIO.VR.0350-3103.01 [5.3.1.4.5: 08F7YW]; BIO.VR.0350-3103.02 [5.3.1.4.6: 08F6D2]		
測定方法	LC-MS/MS method for the determination of MK-6482 and PT3317 in human urine		
検量線用標準試料及び濃度	Control human urine and MK-6482 and PT3317 reference standard. MK-6482 Calibrator Concentrations: 20.0, 40.0, 200, 1000, 2000, 8000, 16000, and 20000 ng/mL PT3317 Calibrator Concentrations: 100, 200, 1000, 5000, 10000, 40000, 80000, and 100000 ng/mL		
定量範囲	MK-6482: 20.0 to 20,000 ng/mL, PT3317: 100.00 to 100,000 ng/mL		
QC 試料及び濃度	Control human urine and MK-6482 and PT3317 reference standard. MK-6482 QC concentrations: 20.0, 60.0, 7500, and 15,000 ng/mL PT3317 QC concentrations: 100.0, 300, 37,500, and 75,000 ng/mL		
Minimum required dilutions (MRDs)	Not applicable		
供給元及び試薬のロット	Control human urine from commercial suppliers. MK-6482 and PT3317 reference standards and internal standards from Merck & Co., Inc.		
回帰モデル及び重み付け	Quadratic, $1/x^2$ weighting for MK-6482; Linear, $1/x^2$ weighting for PT3317		
バリデーションパラメータ	分析法バリデーションの要約		Source location
フルバリデーションでの検量線用標準試料の真度及び精度	LLOQ から ULOQ までの試料数（各濃度 n = 6）	8	Table 3, 5 of Report BIO.VR.0350-3103.01
	LLOQ から ULOQ までの累積真度（%bias）	MK-6482: -2.5 to 2.5% PT3317: -3.7 to 3%	Table 3, 5 of Report BIO.VR.0350-3103.01
	LLOQ から ULOQ までの累積精度（%CV）	MK-6482: ≤10% PT3317: ≤6.1%	Table 3, 5 of Report BIO.VR.0350-3103.01
フルバリデーションでの QC 試料の真度及び精度	4つの QC 試料の累積真度（%bias）（各濃度 n = 18）	MK-6482: 1.5 to 5.1% PT3317: 0.7 to 6%	Table 12, 14 of Report BIO.VR.0350-3103.01
	バッチ間の%CV	MK-6482: ≤10.9% PT3317: ≤6.3%	Table 12, 14 of Report BIO.VR.0350-3103.01
	Total Error (TE)	Not calculated	Not calculated
試料を添加した場合の選択性	Analysis of LLOQ samples prepared in 10 different lots of control matrix. MK-6482: mean bias was 5.5%; CV was 13.0%. PT3317: mean bias was 10.0%; CV was 3.9%.		Table 21, 23 of Report BIO.VR.0350-3103.01
試料を添加しない場合の選択性	Ten lots of control matrix tested. At least 9 out of 10 lots of matrix tested, the response detected was ≤20.0% of the mean raw response of the LLOQ calibration standards for MK-6482 or PT3317, meeting SOP acceptance criteria.		Table 20, 22 of Report BIO.VR.0350-3103.01
希釈直線性及びフック効果	MK-6482: 320000 ng/mL tested (n=6) with a 20-fold dilution factor. Mean bias was 7.8%, CV was 12.3%. PT3317: 1,600,000 ng/mL tested (n=6) with a 20-fold dilution factor. Mean bias was 3.1%, CV was 5.1%		Table 18, 19 of Report BIO.VR.0350-3103.01
ベンチトップ／処理過程の安定性	MK-6482: 26.1 hours of room-temperature bench-top stability for low and high QC samples was established. Mean % bias was -6 and -0.7 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 4.5 and 4.1% CV for the low and high QCs, respectively. PT3317: 24.0 hours of room-temperature bench-top stability for low and high QC samples was established. Mean % bias was -3 and -3.2 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 6.9 and 6.7% CV for the low and high QCs, respectively.		Table 30, 31 of Report BIO.VR.0350-3103.01

付録 2.7.1-8　BAM.0948 のバリデーションデータ（続き）

凍結融解安定性（-80ºC）	MK-6482: Low and high QC samples were prepared, stored at -80ºC and subjected to 4 freeze-thaw cycles. Mean % bias was determined to be -4.3 and 6 for the low and high QCs, respectively. Precision CV (n=6) was 3.3 and 3.4% for the low and high QCs, respectively. PT3317: Low and high QC samples were prepared, stored at -80ºC and subjected to 5 freeze-thaw cycles. Mean % bias was determined to be 0 and -1.9 for the low and high QCs, respectively. Precision CV (n=6) was 4.8 and 1.5% for the low and high QCs, respectively.	Table 33, 35 of Report BIO.VR.0350-3103.01
凍結融解安定性（-20ºC）	MK-6482: Low and high QC samples were prepared, stored at -20ºC and subjected to 4 freeze-thaw cycles. Mean % bias was determined to be -2.7 and 7.3 for the low and high QCs, respectively. Precision CV (n=6) was 4.9 and 1.7% for the low and high QCs, respectively. PT3317: Low and high QC samples were prepared, stored at -20ºC and subjected to 5 freeze-thaw cycles. Mean % bias was determined to be 2.7 and 2.3 for the low and high QCs, respectively. Precision CV (n=6) was 2.7 and 5% for the low and high QCs, respectively.	Table 32, 34 of Report BIO.VR.0350-3103.01
長期保存安定性	Low and high QC samples were prepared and stored at -20ºC and -80ºC. Stability at -20ºC was established for 270 days. MK-6482: Mean % bias was 0.5 and 8 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 1 and 2.6% CV for the low and high QCs, respectively. PT3317: Mean % bias was -3 and -5.6 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 1.5 and 1.7% CV for the low and high QCs, respectively. Stability at -80°C was established for 270 days. MK-6482: Mean % bias was 1.7 and 6.7 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 1.7 and 3% CV for the low and high QCs, respectively. PT3317: Mean % bias was -3 and -5.5 for the low and high QCs, respectively. Precision (n=6) was 2 and 2% CV for the low and high QCs, respectively.	Table 6, 7, 8, and 9 of BIO.VR.0350-3103.02
平行性	Not applicable	Not applicable
キャリーオーバー	The potential for carryover of the analyte or ISTD from the prior injection was tested by injecting a carryover sample consisting of blank extracted matrix following the highest CS from the first calibration curve in a run. The guidance for carryover is that the raw analyte response for a carryover sample should be ≤20.0% of the mean raw analyte response for the passing LLOQ CS. Carryover was mitigated as much as possible, though due to the severe suppressive effects of Tween-20 present in the samples, only rinsing options were available for mitigation. Dimethyl sulfoxide was added to the strong rinse to assist in system cleaning, but ultimately, carryover was near target acceptance in every run and occasionally exceeded 20% of LLOQ. No carryover result, expressed as a percentage of the LLOQ mean response, was greater than 40.3% for MK-6482 and 46.5% for PT3317.	Page 46 of BIO.VR.0350-3103.01

2.7.1.5.3　MK-6482及び PT3317の血漿中及び尿中の分析法の試験での分析能

臨床開発プログラムで使用したヒト血漿中及び尿中の MK-6482及び PT3317濃度の分析法に関する試験での分析能を以下の表に示す。

付録 2.7.1-9　MK-6482 における BAM.0419、BAM.0774、TM.2857 及び BAM.0948 の分析能

試験番号		分析法番号及び報告書へのリンク	基準達成率†	検量線用標準試料		QC 試料		ISR の合格率 (%)
Peloton	Merck			Bias (%)	CV (%)	Bias (%)	CV (%)	
101‡	001‡	BAM.0419 [5.3.1.4.16: 05Q2NL]	94% (51 of 54)	-0.4 to 1.0	≤7.8	0.9 to 4.7	≤5.9	95.1
103	002	BAM.0419 [5.3.1.4.17: 06CRG4]	100% (11 of 11)	-1.5 to 1.0	≤5.8	0.8 to 2.7	≤4.0	98.4
202‡	004‡	BAM.0419 [5.3.1.4.18: 05Q2NK]	100% (8 of 8)	-2.5 to 2.0	≤7.5	1.1 to 3.7	≤9.5	91.4
104	006	BAM.0419 [5.3.1.4.19: 06CRH4]	100% (14 of 14)	-0.8 to 0.5	≤9.7	0.8 to 2.7	≤7.6	99.0
NA	007	BAM.0419 [5.3.1.4.20: 05K9D5]	84% (21 of 25)	-1.4 to 1.8	≤5.6	1.0 to 1.9	≤3.9	91.7
NA	005‡	TM.2857 [5.3.1.4.21: 087LL9]	92% (23 of 25)	-2.02 to 1.4	≤4.38	-0.85 to 1.19	≤5.77	90.40
NA	008	BAM.0774 [5.3.1.4.22: 06F3DZ]	100% (3 of 3)	-1.6 to 2.3	≤3	2.3 to 4.3	≤2.3	100
NA	009	BAM.0774 [5.3.1.4.23: 05RB7V]	100% (5 of 5)	-2.8 to 3.3	≤3	3.2 to 4.7	≤3.3	100
NA	014	BAM.0774 [5.3.1.4.24: 06FDGZ]	100% (4 of 4)	-4.3 to 2	≤2.9	0 to 4.7	≤2.2	98.0
NA	019	BAM.0774 [5.3.1.4.25: 07W9S3]	73% (8 of 11)	-2.7 to 2	≤2.6	-0.3 to 4.8	≤3.6	96.3
NA	013	TM.2857 [5.3.1.4.26: 08BXGX]	100% (12 of 12)	-0.98 to 0.78	≤3.49	-0.01 to 2.19	≤4.34	99.15
NA	025	BAM.0774 [5.3.1.4.27: 089FGT]	100% (10 of 10)	-3.1 to 2.5	≤3	-1.3 to 6.3	≤2.9	100
NA	025	BAM.0948 [5.3.1.4.27: 089FGT]	83.3% (5 of 6)	-7.5 to 6	≤9.5	0 to 7.3	≤4.3	88.5
NA	020	BAM.0419 [5.3.1.4.33: 08NBQQ]	100% (5 of 5)	-5.4 to 3	≤7.8	0 to 2	≤4.7	100
NA	021	BAM.0774 [5.3.1.4.34: 08P9F6]	100% (7 of 7)	-6.5 to 3	≤3.6	-0.7 to 2.8	≤2.7	97.7

† 得られた試料を用いた基準達成率及び分析能。
‡ 進行中の試験であるため、中間解析の報告書に基づく基準達成率及び分析能。

C Confidential

付録 2.7.1-10 PT3317 における BAM.0419 及び BAM.0948 の分析能

試験番号		分析法番号及び報告書へのリンク	基準達成率†	検量線用標準試料		QC 試料		ISR の合格率（%）
Peloton	Merck			Bias (%)	CV (%)	Bias (%)	CV (%)	
101‡	001‡	BAM.0419 [5.3.1.4.16: 05Q2NL]	85% (46 of 54)	-0.5 to 0.8	≤7.7	-0.5 to 0.7	≤8.5	85.7
103	002	BAM.0419 [5.3.1.4.17: 06CRG4]	100% (11 of 11)	-1.0 to 1.4	≤6.3	-2.4 to 1.3	≤8.1	92.2
202‡	004‡	BAM.0419 [5.3.1.4.18: 05Q2NK]	100% (8 of 8)	-2.4 to 1.8	≤8.6	-0.8 to 4.7	≤11.1	86.2
104	006	BAM.0419 [5.3.1.4.19: 06CRH4]	93% (13 of 14)	-1.3 to 2.2	≤8.1	1.6 to 5.3	≤9.8	98.0
NA	007	BAM.0419 [5.3.1.4.20: 05K9D5]	84% (21 of 25)	-1.4 to 4.0	≤6.4	1.3 to 2.7	≤6.1	84.4
NA	025	BAM.0948 [5.3.1.4.27: 089FGT]	83.3% (5 of 6)	-8.2 to 10	≤6.2	-0.9 to 8	≤4	96.2
NA	020	BAM.0419 [5.3.1.4.33: 08NBQQ]	100% (5 of 5)	-4.2 to 4	≤3.7	-6.4 to -4	≤5.8	100

† 得られた試料を用いた基準達成率及び分析能。
‡ 進行中の試験であるため、中間解析の報告書に基づく基準達成率及び分析能。

Confidential

2.7.1.5.4　　生物薬剤学試験の要約

付録 2.7.1-11 生物薬剤学試験の要約

第5部での項	第5部での試験の種類	試験番号	治験実施計画書標題	用量／投与期間	割付けされた症例数／完了した症例数
5.3.1.1	バイオアベイラビリティ（BA）試験報告書	002試験	非日本人健康被験者を対象とした MK-6482の無作為化、非盲検、単回投与、食事の影響試験	120 mg（3 × 40-mg 錠、FFP）、単回投与（空腹時） 120 mg（3 × 40-mg 錠、FFP）、単回投与（食後）	割付け：16例 完了：13例
		014試験	非日本人健康被験者を対象とした MK-6482市販予定製剤（錠剤）の薬物動態に対する食事の影響を評価する試験	120 mg（3 × 40-mg 錠、FMI）、単回投与（空腹時） 120 mg（3 × 40-mg 錠、FMI）、単回投与（食後）	割付け：14例 完了：14例
5.3.1.2	比較 BA 試験及び生物学的同等性（BE）試験報告書	006試験	非日本人健康被験者を対象とした MK-6482の製剤 A と製剤 B の相対的バイオアベイラビリティ、薬物動態及び安全性を比較する、無作為化、非盲検、3期、クロスオーバー、第 I 相試験	120 mg（3 × 40-mg 錠、FFP）、単回投与 120 mg（3 × 40-mg 錠、FMF）、単回投与 200 mg（5 × 40-mg 錠、FMF）、単回投与	割付け：18例 完了：17例
		019試験	非日本人健康被験者を対象とした MK-6482の薬物動態に対する[redacted]含有率の影響を評価する、無作為化、非盲検、3期、クロスオーバー、単回投与試験	120 mg（3 × 40-mg 錠、FMI）、単回投与 120 mg（3 × 40-mg 錠、[redacted]の FMI）、単回投与 120 mg（3 × 40-mg 錠、[redacted]の FMI）、単回投与	割付け：18例 完了：17例
FFP：開発初期製剤、FMF：市販候補製剤、FMI：市販予定製剤					

Source: [5.3.1.1.1: P002]、[5.3.1.1.2: P014]、[5.3.1.2.1: P006]、[5.3.1.2.2: P019]

Confidential

付録 2.7.1-12 MK-6482 の薬物動態パラメータの要約

試験番号	治験実施計画書標題	用量	N	GM (%GCV)							GMR[§] (90% CI)		
				Cmax (ng/mL)	Tmax[†] (hr)	AUC0-inf (ng/mL•hr)	AUC0-last (ng/mL•hr)	t1/2[‡] (hr)	CL/F (L/hr)	Vz/F (L)	Cmax	AUC0-inf	Ref
バイオアベイラビリティ（BA）試験													
002試験	非日本人健康被験者を対象としたMK-6482の無作為化、非盲検、単回投与、食事の影響試験	120 mg fasted SD	16	1126 (22.4)	2.00 (1.50-4.00)	18760 (62.0)	18440 (62.4)	14.34 (55.3)	8.746 (54.2)	142.2 (24.3)	-	-	-
		120 mg fed SD	15	762.4 (40.0)	6.00 (2.00-9.00)	17580[‖] (57.2)	16330 (61.8)	19.10[‖] (55.4)	9.076[‖] (56.8)	265.8[‖] (102.3)	64.62 (56.872-73.418)	96.56 (91.006-102.444)	120 mg fed/ 120 mg fasted
014試験	非日本人健康被験者を対象としたMK-6482市販予定製剤（錠剤）の薬物動態に対する食事の影響を評価する試験	120 mg fasted SD	14	1540 (41.0)	1.33 (0.98-6.00)	21000 (61.0)	20300 (57.5)	14.0 (53.1)	5.71 (61.0)	115 (26.5)	-	-	-
		120 mg fed SD	14	1180 (29.0)	3.54 (0.53-12.00)	21100 (58.6)	20400 (55.4)	13.0 (51.4)	5.69 (58.6)	107 (13.1)	0.76 (0.64, 0.91)	1.00 (0.94, 1.07)	120 mg fed/ 120 mg fasted
比較 BA 試験及び生物学的同等性（BE）試験													
006試験	非日本人健康被験者を対象としたMK-6482の製剤 A と製剤 B の相対的バイオアベイラビリティ、薬物動態及び安全性を比較する、無作為化、非盲検、3期、クロスオーバー、第 I 相試験	120 mg FFP SD	18	1311 (28.3)	2.009 (0.507-6.03)	19270 (52.8)	18880 (52.5)	12.95 (34.4)	6.226 (52.8)	116.3 (24.9)	-	-	-
		120 mg FMF SD	18	1138 (26.5)	1.759 (0.509-6.01)	17840 (48.4)	17460 (48.3)	13.10 (31.0)	6.725 (48.4)	127.1 (25.4)	86.83 (76.14 - 99.02)	92.57 (87.73 - 97.68)	120 mg FMF/ 120 mg FFP
		200 mg FMF SD	17	1824 (39.7)	2.016 (0.507-4.01)	28810 (60.3)	28360 (60.1)	13.80 (33.5)	6.943 (60.3)	138.2 (36.2)	138.51 (121.12 - 158.41)	149.61 (141.61 - 158.06)	200 mg FMF/ 120 mg FFP

C Confidential

付録 2.7.1-12 MK-6482 の薬物動態パラメータの要約（続き）

試験番号	治験実施計画書標題	用量	N	GM (%GCV)							GMR§ (90% CI)		
				Cmax (ng/mL)	Tmax† (hr)	AUC0-inf (ng/mL•hr)	AUC0-last (ng/mL•hr)	t1/2‡ (hr)	CL/F (L/hr)	Vz/F (L)	Cmax	AUC0-inf	Ref
019試験	非日本人健康被験者を対象としたMK-6482の薬物動態に対する[redacted]含有率の影響を評価する、無作為化、非盲検、3期、クロスオーバー、単回投与試験	120 mg FMI SD	17	1220 (25.8)	2.00 (0.50 - 4.00)	17700 (51.2)	17200 (50.1)	11.6 (45.1)	6.79 (51.2)	114 (21.9)	-	-	-
		120 mg [redacted] SD	16	1180 (38.6)	1.50 (0.50 - 4.00)	19100 (60.1)	17800 (49.3)	14.5 (67.5)	6.29 (60.1)	131 (35.5)	0.98 (0.85, 1.12)	1.03 (0.96, 1.10)	120 mg [redacted] / 120 mg FMI
		120 mg [redacted] SD	17	1130 (38.5)	1.50 (0.50 - 5.00)	18800 (53.6)	18300 (52.8)	13.0 (31.9)	6.37 (53.6)	119 (35.1)	0.95 (0.84, 1.08)	1.01 (0.96, 1.05)	120 mg [redacted] / 120 mg FMI

AUC0-inf：投与後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、AUC0-last：投与後0時間から最終測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積、CI：信頼区間、CL/F：見かけのクリアランス、Cmax：最高血漿中濃度、FFP：開発初期製剤、FMF：市販候補製剤、FMI：市販予定製剤、GCV：幾何平均に基づく変動係数、GM：幾何平均、GMR：最小二乗平均に基づく幾何平均比、Ref：参考値、SD：標準偏差、t1/2：消失半減期、Tmax：最高血漿中濃度到達時間、Vz/F：見かけの分布容積

† 中央値及び範囲（最小値, 最大値）

‡ 幾何平均（幾何平均に基づく%CV = 100×sqrt[exp(s^2)-1]）。s^2は自然対数尺度上での被験者間分散の実現値。

§ 点推定値（最小二乗平均）及び90%信頼区間

‖ n = 14

Source: [5.3.1.1.1: P002]、[5.3.1.1.2: P014]、[5.3.1.2.1: P006]、[5.3.1.2.2: P019]

Confidential