## 第 2 部 CTD の概要

| | |
|---|---|
| **JAN あるいは販売名：** | ゾンゲルチニブ |
| **剤形・含量：** | フィルムコート錠・60 mg |
| **文書名：** | 2.6.4 薬物動態試験の概要文 |
| **文書作成日：** | 29 July 2025 |



**Proprietary confidential information**
**© 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.**
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 ..... 2
略号一覧表 ..... 4
1. まとめ ..... 5
2. 分析法 ..... 8
2.1 非標識体 ..... 8
2.1.1 ラット血漿中ゾンゲルチニブ定量法 ..... 8
2.1.2 イヌ血漿中ゾンゲルチニブ定量法 ..... 9
2.1.3 ウサギ血漿中ゾンゲルチニブ定量法 ..... 11
2.2 標識体 ..... 11
3. 吸収 ..... 13
3.1 *In vitro* での吸収 ..... 13
3.2 *In vivo* での吸収 ..... 13
3.2.1 マウス，ラット，イヌ及びミニブタにゾンゲルチニブを単回投与したときの血漿中薬物動態 ..... 13
3.2.2 ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与したときの血漿中薬物動態 ..... 14
3.2.3 イヌの胃内 pH がゾンゲルチニブの吸収に及ぼす影響 ..... 15
3.2.4 ラット，ウサギ及びイヌにゾンゲルチニブを反復投与したときの血漿中薬物動態（トキシコキネティクス） ..... 16
4. 分布 ..... 17
4.1 血漿タンパク結合 ..... 17
4.2 血球移行 ..... 17
4.3 定量的全身オートラジオグラフィー ..... 17
5. 代謝（動物種間の比較） ..... 19
5.1 *In vitro* 代謝 ..... 19
5.1.1 *In vitro* 代謝安定性 ..... 19
5.1.2 代謝物の動物種間比較 ..... 19
5.1.3 ヒト肝細胞における代謝 ..... 20
5.2 *In vivo* 代謝 ..... 20
5.2.1 ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与したときの血漿及び排泄物中の代謝物プロファイル及び構造同定 ..... 20
5.2.2 ヒト血漿中代謝物（非標識体投与） ..... 22
5.2.3 ヒト血漿及び排泄物中代謝物（放射性標識体投与） ..... 23
5.3 推定代謝経路 ..... 24
5.4 代謝酵素の同定 ..... 27
5.4.1 チトクローム P450 分子種の同定 ..... 27
5.4.2 ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素分子種の同定 ..... 27
5.5 酵素阻害及び誘導 ..... 27

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

5.5.1 チトクローム P450 誘導 ....27
5.5.2 チトクローム P450 阻害 ....28
5.5.3 ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素阻害 ....28
6. 排泄 ....29
7. 薬物動態学的薬物相互作用 ....30
7.1 薬物トランスポーターによる輸送 ....30
7.2 薬物トランスポーター阻害 ....30
8. その他の薬物動態試験 ....33
9. 考察及び結論 ....34
10. 図表 ....37
11. 参考文献 ....38

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 略号一覧表

| | | |
|---|---|---|
| ADME | absorption, distribution, metabolism, excretion | 吸収，分布，代謝及び排泄 |
| AUC | area under the concentration-time curve in plasma (or tissue) | 血漿（又は組織）中濃度-時間曲線下面積 |
| $AUC_{0-\infty}$ | area under the concentration-time curve in plasma over the time interval from 0 extrapolated to infinity | 投与後時間 0 から無限大時間まで外挿した血漿中濃度-時間曲線下面積 |
| $AUC_{0-t}$ | area under the concentration-time curve in plasma (or serum or tissue) over the time interval from 0 to t | 投与後時間 0 から t までの血漿中濃度-時間曲線下面積 |
| BSA | bovine serum albumin | ウシ血清アルブミン |
| BCRP | breast cancer resistance protein | 乳癌耐性タンパク質 |
| Caco-2 | human colonic adenocarcinoma cell line | ヒト結腸癌由来細胞株 |
| $C_{max}$ | maximum concentration in plasma | 最高血漿中濃度 |
| $C_{max,ss}$ | maximum concentration in plasma at steady state | 定常状態における最高血漿中濃度 |
| CYP | cytochrome P450 | チトクローム P450 |
| $f_u$ | fraction unbound | 非結合型分率 |
| GLP | Good Laboratory Practice | 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 |
| EMA | European Medicines Agency | 欧州医薬品庁 |
| $EC_{50}$ | Concentration that yields 50% of the maximum effect | 最大効果の 50%の効果をもたらす濃度 |
| $E_{max}$ | Maximum induction effect | 最大誘導作用 |
| FDA | Food and Drug Administration | 米国食品医薬品局 |
| HEK | human embryonic kidney | ヒト胎児腎 |
| HLM | human liver microsomes | ヒト肝ミクロソーム |
| $IC_{50}$ | 50% inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| ICH | International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use | 医薬品規制調和国際会議 |
| LC-MS/MS | liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry | 液体クロマトグラフィータンデム質量分析法 |
| LSC | liquid scintillation counter | 液体シンチレーションカウンター |
| MATE | multidrug and toxic compound extrusion | 多剤排出輸送体 |
| mRNA | messenger ribonucleic acid | メッセンジャーリボ核酸 |
| OAT | organic anion transporter | 有機アニオン輸送体 |
| OATP | organic anion transporter polypeptide | 有機アニオン輸送ポリペプチド |
| OCT | organic cation transporter | 有機カチオン輸送体 |
| $P_{app}$ | apparent permeability | 見かけの透過係数 |
| P-gp | P-glycoprotein | P-糖タンパク質 |
| QWBA | quantitative whole-body autoradiography | 定量的全身オートラジオグラフィー |
| rCYP | recombinant cytochrome P450 | 組換えチトクローム P450 |
| rUGT | recombinant uridine diphosphate glucuronosyltransferase | 組換えウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 |
| UGT | uridine diphosphate glucuronosyltransferase | ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 1. まとめ

ゾンゲルチニブの非臨床動物種における体内動態を明らかにするために，マウス，ラット，イヌ及びミニブタを用いて吸収，分布，代謝及び排泄（ADME）を評価した。反復投与後の薬物動態は，ラット，イヌ及びウサギを用いたトキシコキネティクスにより検討した。分布，代謝及び薬物動態学的薬物相互作用に関する *in vitro* 試験は，マウス，ラット，ウサギ，イヌ，ミニブタ及びヒト由来試料，並びにヒト薬物トランスポーター発現細胞及びヒト組換え代謝酵素を用いて実施した。被験物質にはゾンゲルチニブ及び[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを用いた。

マウス, ラット, イヌ及びミニブタに経口投与後のゾンゲルチニブの全身クリアランスは低く，分布容積は低い又は中程度であり，絶対的バイオアベイラビリティは中程度であった。雌雄ラット，雌ウサギ及び雌雄イヌに経口投与後のゾンゲルチニブの血漿中曝露量は，全体として反復投与によって大きく変化しなかった。ラット及びイヌにおいて，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に明らかな性差は認められなかった。

ゾンゲルチニブの血漿タンパク結合率は高く，マウス，ラット，ウサギ，イヌ及びヒトの血漿中でいずれも 99%以上であった。ゾンゲルチニブの血球移行率は，ラット，イヌ及びヒトのいずれにおいても低かった。

有色ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを経口投与したときの[$^{14}$C]ゾンゲチニブ由来放射能の組織分布を，定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）により検討した。身体質量を構成する主要な組織（筋肉，白色及び褐色脂肪，肺及び皮膚）への放射能の分布は低い又は中程度であった。放射能は眼球全体，眼内のメラニン含有組織及び有色皮膚に長時間存在した。中枢神経系組織への放射能の分布の程度は非常に低かった。中枢神経系に腫瘍がある場合，その成長に伴い血液脳関門の完全性が損なわれるため，P-糖タンパク質（P-gp）又は乳癌耐性タンパク質（BCRP）の基質であるゾンゲルチニブは，中枢神経内腫瘍へ十分に分布する可能性が考えられる。

非臨床動物種及びヒトの肝細胞を用いた *in vitro*，並びに経口投与後のラット及びヒトの *in vivo* において，ゾンゲルチニブは複数の経路を介して代謝され，その代謝物プロファイルは非臨床動物種とヒトで質的に類似していた。主な代謝経路は, ①酸化, ヒトでは主にチトクローム P450（CYP）3A によるもの，②グルクロン酸抱合，ヒトではウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）1A4，UGT1A1，UGT1A3 及び UGT2B17 によるもの，③グルタチオン抱合，であった。これらの経路以外に，ヒトではゾンゲルチニブの一部が胆汁を介して排泄される可能性がある。また，ゾンゲルチニブ又はその代謝物は血漿タンパク質と共有結合することが考えられた。ゾンゲルチニブの肝代謝の 48%～62%に CYP3A4/5 が寄与することが推定された。このことは，強力な CYP3A 阻害剤であるイトラコナゾール，又は強力な CYP3A4 誘導剤であるカルバマゼピンを併用した臨床薬物相互作用試験において，ゾンゲルチニブのクリアランスに対する CYP3A の中程度の寄与が認められた結果と一致する。

ゾンゲルチニブの第 I 相臨床試験（1479-0001 試験）において，ゾンゲルチニブを反復経口投与して定常状態となったがん患者の血漿中に 11 種類の代謝物が検出された。これらは一酸素付加，*N*-脱メチル化，二重水酸化，グルクロン酸抱合及びこれらの組合せによって生成された。また，*in vitro* での結果と同様に，グルタチオン抱合体及びグルタチオン抱合体の分解生成物も検出され

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

た。血漿中の総薬物関連物質量の大部分（83%～88%）は未変化体であった。検出された代謝物はいずれも曝露量が薬物関連物質の総曝露量の 10%未満であったことから，非臨床試験でこれら代謝物のさらなる特徴づけは行わなかった。

ヒト ADME 試験（1479-0006 試験）において，[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ 60 mg を経口投与後の健康男性被験者の血漿，尿及び糞中に 14 種類の代謝物が検出された。血漿中総放射能量の 75%は未変化体であった。血漿中に最も多く存在した代謝物は M551(1)（一酸素付加体）及び M656(1)（システイン抱合体）であり，それぞれ血漿中総放射能量の 5.7%及び 2.5%に相当した。このヒト ADME 試験の結果からも，第 I 相臨床試験においてヒト血漿中には曝露量が薬物関連物質の総曝露量の 10%を超える代謝物は存在しないことが確認された。また，意味のある薬物相互作用を引き起こす可能性のあるヒト代謝物は存在しなかった。ヒトの糞及び尿中には，投与した放射能量のそれぞれ 31%及び 0.2%が未変化体として検出された。糞中で最も多かった 4 種類の代謝物は M656(1), M537(1)（*N*-脱メチル化及び一酸素付加体），M551(1)及び M569(1)（二重水酸化体）であり，投与した放射能量のそれぞれ 8.9%，7.6%，6.9%及び 4.9%に相当した。糞中のその他の代謝物はいずれも投与した放射能量の 2.5%以下であった。

[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを経口投与したラットの血漿，尿，糞及び胆汁中に 13 種類の代謝物が検出された。未変化体は，血漿試料から抽出可能な放射能の大部分（86%）を占め，また，糞及び尿中では投与した放射能量のそれぞれ 52%～60%及び 0.1%に相当した。

ラット及びヒトに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与後，糞中には投与した放射能量の 88.8%（ラット）及び 92.5%（ヒト）が排泄され，主な排泄経路は糞中であった。尿中への排泄はわずかであり，投与した放射能量の 1.0%（ラット）及び 1.3%（ヒト）が排泄された。胆管カニューレ挿入ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを十二指腸内投与したとき，投与後 6 時間までに胆汁中へ排泄された放射能は，投与した放射能量の約 14%であった。

ヒト結腸癌由来細胞株（Caco-2）単層膜におけるゾンゲルチニブの見かけの透過係数（$P_{app}$）値は，2%ウシ血清アルブミン（BSA），並びに P-gp 阻害剤 zosuquidar 及び BCRP 阻害剤 fumitremorgin C の存在下で 6.9～8.9×$10^{-6}$ cm/sec であった。また，BSA 及び両阻害剤の非存在下での $P_{app}$ 値は 16～20×$10^{-6}$ cm/sec であった。Zosuquidar 又は fumitremorgin C の存在下で efflux ratio が低下したことから，ゾンゲルチニブは P-gp 及び BCRP の基質であると考えられた。

ゾンゲルチニブは中程度又は高い膜透過性を示したことから，ゾンゲルチニブの消化管からの吸収は P-gp 又は BCRP によって影響を受ける可能性は低いと推察された。経口投与時のゾンゲルチニブの絶対的バイオアベイラビリティがヒトで 76%と高く，第 I 相臨床試験においてゾンゲルチニブの血漿中曝露量が 15～360 mg の用量にほぼ比例して増加した。これらのことから，P-gp 又は BCRP の阻害剤を併用しても，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に臨床的に意味のある変化が生じる可能性は低いと考えられた。

有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 を発現させたヒト胎児腎（HEK）293 細胞を用いた検討により，ゾンゲルチニブは OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないと考えられたことから，OATP1B1 又は OATP1B3 の阻害剤と併用によってゾンゲルチニブの曝露量が影響を受ける可能性は低いと考えられた。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ゾンゲルチニブのグルクロン酸抱合代謝は複数の UGT 分子種（UGT1A1，UGT1A3，UGT1A4 及び UGT2B17）を介するが，各 UGT 分子種の寄与率は小さかったことから，UGT 活性を変化させる薬剤を併用しても，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に臨床的に意味のある変化は生じないと考えられた。一方，CYP3A4/5 による酸化的代謝はゾンゲルチニブの肝代謝の 48%～62%に寄与し，ゾンゲルチニブの消失全体の 25%を超えて寄与する可能性が考えられたことから，CYP3A の強力な阻害剤又は誘導剤との併用により，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量は軽度又は中程度に変化する可能性が考えられた。このことは，臨床薬物相互作用試験において，イトラコナゾールとの併用によってゾンゲルチニブの最高血漿中濃度（$C_{max}$）が 27%，投与後時間 0 から無限大時間まで外挿した血漿中濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0-\infty}$）が 41%増加したこと，また，カルバマゼピンとの併用によってゾンゲルチニブの $C_{max}$ が 43%，$AUC_{0-\infty}$が 63%減少したことと一致する。

*In vitro* で検討したゾンゲルチニブの代謝酵素及び薬物トランスポーターに対する阻害又は誘導作用，並びに第 I 相臨床試験での血漿中曝露量を用いて，ゾンゲルチニブの相互作用薬としての薬物相互作用リスクを，厚生労働省「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」（薬生薬審発 0723 第 6 号　平成 30 年 7 月 23 日。以下，厚生労働省ガイドライン），米国食品医薬品局（FDA）Guidance for industry “*In vitro* drug interaction studies - cytochrome P450 enzyme- and transporter-mediated drug interactions”（January 2020。以下，FDA ガイダンス）及び欧州医薬品庁（EMA）“Guideline on the investigation of drug interactions”（21 June 2012, rev. 1 corr. 2。以下，EMA ガイドライン）, 並びに「薬物相互作用試験に関するガイドライン（医薬品規制調和国際会議［ICH］M12）」（医薬薬審発 1127 第 2 号　令和 6 年 11 月 27 日。以下，ICH M12 ガイドライン）に示された方法により評価した。現在予定されている治療用量である 120 mg のゾンゲルチニブを 1 日 1 回経口投与したときの定常状態における最高血漿中濃度（$C_{max,ss}$，3.18 μmol/L）では，臨床的に意味のある CYP3A4 及び CYP2C8 の誘導，CYP3A4 の不活性化，UGT2B17 の阻害，並びに P-gp，BCRP，多剤排出輸送体（MATE）1，MATE2-K，OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害が生じる可能性が考えられた。また，EMA ガイドラインに基づくと，ゾンゲルチニブによる有機アニオン輸送体（OAT）1，OAT3 及び有機カチオン輸送体（OCT）2 の阻害の可能性を除外できなかった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 2. 分析法

### 2.1 非標識体

医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を適用した毒性試験における血漿中ゾンゲルチニブの定量のために，液体クロマトグラフィータンデム質量分析法（LC-MS/MS）を用いた特異的で高感度な定量法を開発し，バリデートした。抗凝固剤としてエチレンジアミン四酢酸カリウムを添加して調製した血漿に，内標準物質として[$D_9$]ゾンゲルチニブを添加し，有機溶媒による除タンパクにより分析試料を調製した。試料中の分析対象物は逆相カラムを接続した超高速液体クロマトグラフィーにより分離し，質量分析法の正イオンモードで multiple reaction monitoring によりゾンゲルチニブ及び内標準物質を検出した。検量線は $1/x^2$ で重み付けを行った直線回帰により作成した。バリデーションでは，分析単位内及び分析単位間の真度及び精度，特異性，希釈の妥当性，凍結融解安定性，室温安定性，オートサンプラー内での安定性，並びに凍結保存安定性を評価し，これらの結果がバリデーション基準を満たすことを確認した。実試料分析では，検量線及び Quality Control 試料で定量法の妥当性を評価した。実試料分析を行ったすべての試験で，分析単位ごとの真度及び精度は基準を満たした。

GLP 非適用の試験には，適格性を確認した LC-MS/MS 法を用いた。

#### 2.1.1 ラット血漿中ゾンゲルチニブ定量法

GLP 非適用のラット 2 週間反復投与毒性試験［CTD 4.2.3.2-01_n00281427］のために，ゾンゲルチニブを 100～100000 nmol/L の範囲で定量可能な分析法を開発し，適格性を確認した。検量線試料はヒトブランク血漿を用いて調製し，ラットブランク血漿を用いた Quality Control 試料により真度及び精度を評価した。

GLP 適用のラット 4 週間反復投与毒性試験［CTD 4.2.3.2-02_n00282481］及び胚・胎児発生に関する試験［CTD 4.2.3.5.2-02_n00298815］のために，ゾンゲルチニブを 10～25000 nmol/L の範囲で定量可能な分析法をバリデートした［CTD 4.2.2.1-01_n00282747］。バリデーション結果を表 2.1.1: 1 に要約する。ラット血漿はヒトブランク血漿で 1:4 の比率で希釈した。この定量法は GLP 非適用のラット胚・胎児発生に関する試験のための用量設定試験［CTD 4.2.3.5.2-01_n00292914］及び[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを用いたラット薬物動態試験［CTD 4.2.2.2-02_n00292317］にも適用した。また，GLP 適用のラット 13 週間反復投与毒性試験［CTD 4.2.3.2-03_n00301352］のために，分析条件の一部及び質量分析装置を変更して定量範囲を 10～10000 nmol/L とした分析法についてパーシャルバリデーションを実施した［CTD 4.2.2.1-02_n00300783］。

ヒトブランク血漿で希釈したラット血漿中のゾンゲルチニブは凍結融解 3 サイクル，室温で 4 時間，−20°C で 317 日間安定であった。また，希釈していないラット血漿中では室温で 4 時間，ヒト血漿中では室温で 21 時間安定であった［CTD 4.2.2.1-03_n00306878］。

これらの定量法を用いた非臨床試験を表 2.1.1: 2 に示す。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 2.1.1: 1 ラット血漿中ゾンゲルチニブ定量法のバリデーション結果の要約

| | LLOQ | QC_low | QC_mid | QC_high | Dilution QC [a] |
|---|---|---|---|---|---|
| [CTD 4.2.2.1-01_n00282747] 10-25000 nmol/L | 10 nmol/L | 25 nmol/L | 800 nmol/L | 20000 nmol/L | 100000 nmol/L |
| Inaccuracies (%) | −8.2 | −3.6 | −5.6 | −4.0 | −3.3/−3.6 |
| Imprecisions (%) | 6.7 | 3.8 | 3.0 | 3.2 | 1.9/2.5 |
| N | 6 | 6 | 6 | 6 | 6/6 |
| [CTD 4.2.2.1-02_n00300783] 10-10000 nmol/L | 10 nmol/L | 25 nmol/L | 3000 nmol/L | 8000 nmol/L | Not applicable |
| Inaccuracies (%) | −5.3 | −4.4 | −12.0 | −9.5 | |
| Imprecisions (%) | 5.3 | 2.1 | 2.0 | 4.0 | |
| N | 6 | 6 | 6 | 6 | |

a Dilution QC samples were analyzed with 10-fold and 100-fold dilutions.
LLOQ: lower limit of quantification
QC: quality control

表 2.1.1: 2 ラット血漿中ゾンゲルチニブ定量法を適用した非臨床試験

| Study short title | Status | Report no. | Assay used |
|---|---|---|---|
| 2-week toxicology study | non-GLP | CTD 4.2.3.2-01_n00281427 | CTD 4.2.3.2-01_n00281427 |
| $^{14}$C-PK study | non-GLP | CTD 4.2.2.2-02_n00292317 | CTD 4.2.2.1-01_n00282747 |
| 4-week toxicology study | GLP | CTD 4.2.3.2-02_n00282481 | CTD 4.2.2.1-01_n00282747 |
| DRF embryo-fetal development study | non-GLP | CTD 4.2.3.5.2-01_n00292914 | CTD 4.2.2.1-01_n00282747 |
| Embryo-fetal development study | GLP | CTD 4.2.3.5.2-02_n00298815 | CTD 4.2.2.1-01_n00282747 |
| 13-week toxicology study | GLP | CTD 4.2.3.2-03_n00301352 | CTD 4.2.2.1-02_n00300783 |

DRF: dose range finding
GLP: Good Laboratory Practice
PK: pharmacokinetics

### 2.1.2 イヌ血漿中ゾンゲルチニブ定量法

GLP 非適用のイヌ 2 週間反復投与毒性試験［CTD 4.2.3.2-04_n00276961］のために，ゾンゲルチニブを 100～100000 nmol/L の範囲で定量可能な分析法を開発し，適格性を確認した。また，イヌにおける胃内 pH のゾンゲルチニブの吸収に対する影響の検討［CTD 4.2.2.2-03_n00282233］のために，定量範囲を 10～25000 nmol/L に変更した分析法を開発した。

GLP 適用のイヌ 4 週間反復投与毒性試験［CTD 4.2.3.2-06_n00278943］及び心血管系試験［CTD 4.2.1.3-03_n00282102］のために，ゾンゲルチニブを 10～25000 nmol/L の範囲で定量可能な分析法をバリデートした［CTD 4.2.2.1-04_n00281421］。バリデーション結果を表 2.1.2: 1 に要約する。この定量法は，GLP 非適用の 4 週間用量設定試験［CTD 4.2.3.2-05_n00292500］にも適用した。また，GLP 適用のイヌ 13 週間反復投与毒性試験［CTD 4.2.3.2-07_n00301353］のために，分析試料

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

の調製方法を変更した定量法についてパーシャルバリデーションを実施した［CTD 4.2.2.1-05_n00300222］。

イヌ血漿中のゾンゲルチニブは凍結融解 6 サイクル，室温で 28 時間，−20℃ で 88 日間安定であった［CTD 4.2.2.1-05_n00300222］。

これらの定量法を用いた非臨床試験を表 2.1.2: 2 に示す。

表 2.1.2: 1　　イヌ血漿中ゾンゲルチニブ定量法のバリデーション結果の要約

| | LLOQ | QC_low | QC_mid | QC_high | Dilution QC [a] |
|---|---|---|---|---|---|
| [CTD 4.2.2.1-04_n00281421] 10-25000 nmol/L | 10 nmol/L | 25 nmol/L | 800 nmol/L | 20000 nmol/L | 100000 nmol/L |
| Inaccuracies (%) | 7.0 | 1.2 | 2.5 | −2.5 | −1.3/−2.6 |
| Imprecisions (%) | 7.0 | 4.0 | 2.2 | 5.8 | 1.6/2.2 |
| N | 18 | 18 | 18 | 18 | 6/6 |
| [CTD 4.2.2.1-05_n00300222] 10-25000 nmol/L | Not applicable | QC_low 25 nmol/L | QC_mid (1) [b] 800 nmol/L | QC_mid (2) [b] 7500 nmol/L | QC_high 20000 nmol/L |
| Inaccuracies (%) | | 3.2 | −0.9 | 2.7 | −0.5 |
| Imprecisions (%) | | 3.5 | 1.8 | 1.4 | 2.1 |
| N | | 14 | 4 | 10 | 14 |

a　Dilution QC samples were analyzed with 10-fold and 100-fold dilutions.
b　QC-mid was prepared at 800 nmol/L for 4 out of 14 runs and at 7500 nmol/L for 10 out of 14 runs.
LLOQ: lower limit of quantification
QC: quality control

表 2.1.2: 2　　イヌ血漿中ゾンゲルチニブ定量法を適用した非臨床試験

| Study short title | Status | Report no. | Assay used |
|---|---|---|---|
| 2-week toxicology study | non-GLP | CTD 4.2.3.2-04_n00276961 | CTD 4.2.3.2-04_n00276961 |
| Gastric pH effect on absorption | non-GLP | CTD 4.2.2.2-03_n00282233 | CTD 4.2.2.2-03_n00282233 |
| 4-week DRF tox (SDD form) | non-GLP | CTD 4.2.3.2-05_n00292500 | CTD 4.2.2.1-04_n00281421 |
| Cardiovascular safety pharmacology | GLP | CTD 4.2.1.3-03_n00282102 | CTD 4.2.2.1-04_n00281421 |
| 4-week toxicology study | GLP | CTD 4.2.3.2-06_n00278943 | CTD 4.2.2.1-04_n00281421 |
| 13-week toxicology study | GLP | CTD 4.2.3.2-07_n00301353 | CTD 4.2.2.1-05_n00300222 |

DRF: dose range finding
GLP: Good Laboratory Practice
SDD: spray-dried dispersion

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

### 2.1.3 ウサギ血漿中ゾンゲルチニブ定量法

GLP 非適用のウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験［CTD 4.2.3.5.2-03_n00298324］のために，ゾンゲルチニブを 10～10000 nmol/L の範囲で定量可能な分析法を開発し，同じ試験内で適格性を確認した。

GLP 適用のウサギ胚・胎児発生に関する試験［CTD 4.2.3.5.2-04_n00301151］のために，ゾンゲルチニブを 25～25000 nmol/L の範囲で定量可能な分析法をバリデートした［CTD 4.2.2.1-06_n00303617］。バリデーション結果を表 2.1.3: 1 に要約する。

ウサギ血漿中のゾンゲルチニブは凍結融解 6 サイクル，室温で 25 時間，−20°C で 232 日間安定であった［CTD 4.2.2.1-07_n00306877］。

これらの定量法を用いた非臨床試験を表 2.1.3: 2 に示す。

表 2.1.3: 1 ウサギ血漿中ゾンゲルチニブ定量法のバリデーション結果の要約

| | LLOQ | QC_low | QC_mid | QC_high | Dilution QC [a] |
|---|---|---|---|---|---|
| [CTD 4.2.2.1-06_n00303617] 25-25000 nmol/L | 25 nmol/L | 62.5 nmol/L | 7500 nmol/L | 20000 nmol/L | 100000 nmol/L |
| Inaccuracies (%) | −8.8 | −3.2 | −2.1 | −3.5 | −5.3 |
| Imprecisions (%) | 4.3 | 1.6 | 1.5 | 0.9 | 1.7 |
| N | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

a Dilution QC samples were analyzed with a 10-fold dilution.
LLOQ: lower limit of quantification
QC: quality control

表 2.1.3: 2 ウサギ血漿中ゾンゲルチニブ定量法を適用した非臨床試験

| Study short title | Status | Report no. | Assay used |
|---|---|---|---|
| DRF embryo-fetal development study | non-GLP | CTD 4.2.3.5.2-03_n00298324 | CTD 4.2.3.5.2-03_n00298324 |
| Embryo-fetal development study | GLP | CTD 4.2.3.5.2-04_n00301151 | CTD 4.2.2.1-06_n00303617 |

DRF: dose range finding
GLP: Good Laboratory Practice

## 2.2 標識体

非臨床動物及びヒトの ADME 試験，並びに *in vitro* 試験のために，ピリミド[5,4-*d*]ピリミジンの 6 位に $^{14}C$ を導入した[$^{14}C$]ゾンゲルチニブ（図 2.2: 1）を合成した。いずれの合成ロットも放射化学的純度は 98%以上であった。

*In vitro* 試験の試料中，並びに血漿，血液，尿及び胆汁中の放射能は液体シンチレーションカウンター（LSC）又は加速器質量分析装置で測定した。糞及び一部の血液中の放射能は，サンプルオキシダイザーで燃焼後に LSC で測定した。放射能の組織分布は QWBA で評価した。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

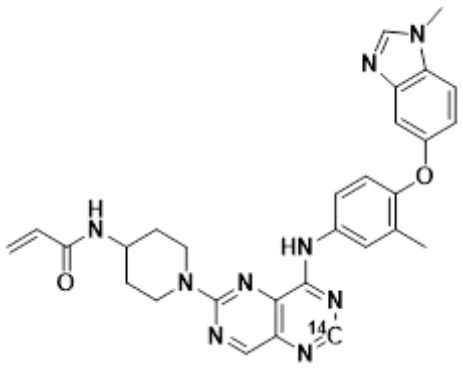


図 2.2: 1 [$^{14}$C]ゾンゲルチニブの化学構造式

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 3. 吸収

### 3.1 *In vitro* での吸収

ゾンゲルチニブの膜透過性を，Caco-2 細胞単層膜の双方向輸送評価系を用いて *in vitro* で検討した［CTD 4.2.2.6-01_n00282184］。ゾンゲルチニブは非特異的な吸着性が高いことから，ゾンゲルチニブの実験器具への吸着を低減するために BSA を添加した。また，ゾンゲルチニブは P-gp 及び BCRP の基質である（7.1 項）ことから，P-gp 阻害剤 zosuquidar 及び BCRP 阻害剤 fumitremorgin C を添加した。

2% BSA 存在下でのゾンゲルチニブの $P_{app}$ 値は 6.9～8.9×$10^{-6}$ cm/sec であった。また，BSA 及び両阻害剤の非存在下での $P_{app}$ 値は 16～20×$10^{-6}$ cm/sec であった（efflux ratio は 1.3）。ゾンゲルチニブは中程度又は高い膜透過性を示したことから，ゾンゲルチニブの消化管からの吸収が P-gp 又は BCRP によって影響を受ける可能性は低いと推察された。

### 3.2 *In vivo* での吸収

#### 3.2.1 マウス，ラット，イヌ及びミニブタにゾンゲルチニブを単回投与したときの血漿中薬物動態

雌 NMRI マウス，雄 Wistar Han ラット，雄ビーグル犬，雌雄 Göttingen ミニブタにゾンゲルチニブを単回静脈内又は単回経口投与したときのゾンゲルチニブの血漿中薬物動態を検討した［CTD 4.2.2.2-01_n00279573］。

マウス，ラット，イヌ及びミニブタに単回静脈内又は単回経口投与後のゾンゲルチニブの血漿中薬物動態パラメータを表 3.2.1: 1 に示す。ゾンゲルチニブの全身クリアランスは 2.02～8.19 mL/min/kg と低く，分布容積は 0.33～1.34 L/kg と低い又は中程度であり，絶対的バイオアベイラビリティは 31%～60%と中程度であった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 3.2.1: 1　　マウス，ラット，イヌ及びミニブタにゾンゲルチニブを単回静脈内又は単回経口投与したときの血漿中薬物動態パラメータ

| Route | PK Parameter [a] | Mouse (n=3F/route) | Rat (n=3M/route) | Dog (n=3M/route) | Minipig (n=3M/3F [b]) |
|---|---|---|---|---|---|
| Intravenous | Dose (mg/kg) | 1 | 1 | 0.5 | 0.5 |
| | $AUC_{0-\infty}$ (nmol•h/L) | 3800 | 17300 | 2680 | 2860 |
| | CL (mL/min/kg) | 8.19 | 2.02 | 5.97 | 5.50 |
| | $V_{ss}$ (L/kg) | 0.45 | 0.33 | 1.34 | 1.08 |
| | $t_{1/2}$ (h) | 1.03 | 2.55 | 3.38 | 4.25 |
| | $MRT_{disp}$ (h) | 0.91 | 2.82 | 3.77 | 3.28 |
| Oral | Dose (mg/kg) | 3 | 3 | 10 | 3 |
| | $C_{max}$ (nmol/L) | 1200 | 2480 | 2670 | 82.4 |
| | $t_{max}$ (h) [a] | 2 | 2 | 4 | 8 |
| | $AUC_{0-\infty}$ (nmol•h/L) | 4680 | 16100 | 32200 | 5200 |
| | $MRT_{tot}$ (h) | 3.2 | 4.27 | 14.6 | 7.75 |
| | $F_{po}$ | 0.42 | 0.31 | 0.60 | 0.31 |

a　PK parameters are presented as arithmetic mean values, except $t_{max}$ values which are presented as median values.
b　Two males and one female for the IV route; three females for the PO route.
$AUC_{0-\infty}$: area under the concentration-time curve in plasma over the time interval from 0 extrapolated to infinity
CL: total clearance
$C_{max}$: maximum concentration in plasma
F: female
$F_{po}$: oral bioavailability
h: hour
M: male
$MRT_{disp}$, $MRT_{tot}$: mean residence time after intravenous administration or oral administration
PK: pharmacokinetics
$t_{1/2}$: terminal half-life
$t_{max}$: time from dosing to the maximum concentration in plasma
$V_{ss}$: apparent volume of distribution at steady state

### 3.2.2　　ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与したときの血漿中薬物動態

雌雄 Wistar Han ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときのゾンゲルチニブ及び[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ由来放射能の血漿中薬物動態を検討した［CTD 4.2.2.2-02_n00292317］。

ゾンゲルチニブ及び放射能の血漿中薬物動態パラメータを表 3.2.2: 1 に示す。ゾンゲルチニブ及び放射能の血漿中曝露量に，明らかな性差は認められなかった。放射能の消失半減期は雄で 50 時間，雌で 76 時間であり，ゾンゲルチニブ（雄：3.1 時間，雌：3.6 時間）と比較して非常に長かった。血漿試料からの放射能の回収率が低かった（投与後 2 時間の血漿で 91%～93%，投与後 24，48，96 時間の血漿で 14%～18%。5.2.1 項）ことから，[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ由来放射能が血漿中のタンパク質に共有結合したことが示唆された。放射能の $AUC_{0-\infty}$のうち，雄では 21%，雌では 16%がゾンゲルチニブであった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 3.2.2: 1　　ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与したときのゾンゲルチニブ及び放射能の血漿中薬物動態パラメータ

| Sex | Male (n=4) | | Female (n=3 [b]) | |
|---|---|---|---|---|
| Analyte | Total radioactivity | Zongertinib | Total radioactivity | Zongertinib |
| Assay | LSC | LC-MS/MS | LSC | LC-MS/MS |
| PK parameters [a] | | | | |
| $C_{max}$ (nmol/L) | 22100 | 17700 | 14300 | 11700 |
| $t_{max}$ (h) | 2 | 2 | 2 | 2 |
| $AUC_{0-\infty}$ (nmol•h/L) | 913000 | 188000 | 860000 | 134000 |
| $MRT_{tot}$ (h) | 60.6 | 5.92 | 95.0 | 6.29 |
| $t_{1/2}$ (h) | 50.4 | 3.09 | 75.5 | 3.59 |

a PK parameters are presented as arithmetic mean values, except $t_{max}$ values which are presented as median values.
b PK parameters for female were calculated using data from three animals due to the death of one of four animals during the experiment.
$AUC_{0-\infty}$: area under the concentration-time curve in plasma over the time interval from 0 extrapolated to infinity
$C_{max}$: maximum concentration in plasma
h: hour
LC-MS/MS: liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry
LSC: liquid scintillation counting
$MRT_{tot}$: mean residence time after oral administration
PK: pharmacokinetics
$t_{1/2}$: terminal half-life
$t_{max}$: time from dosing to the maximum concentration in plasma

### 3.2.3　　イヌの胃内 pH がゾンゲルチニブの吸収に及ぼす影響

胃酸分泌促進剤ペンタガストリン又は胃酸分泌抑制剤ファモチジンを前投与したビーグル犬に，ゾンゲルチニブを 3 mg/kg の用量で単回経口投与したときのゾンゲルチニブの血漿中薬物動態を検討した［CTD 4.2.2.2-03_n00282233］。

ゾンゲルチニブの血漿中曝露量はファモチジン前投与後と比較してペンタガストリン前投与後で非常に高かった（表 3.2.3: 1）ことから，胃内 pH の上昇によってゾンゲルチニブの吸収が低下したと考えられた。この結果を踏まえて，ゾンゲルチニブの吸収に対する胃内 pH の影響を抑制し，血漿中曝露の被験者間変動を低減させるために，噴霧乾燥による固体分散体を開発して臨床試験に用いた。その結果，ゾンゲルチニブの固体分散体を経口投与したときのゾンゲルチニブの血漿中曝露量に，プロトンポンプ阻害剤ラベプラゾールの併用によって，臨床的に意味のある変化は生じなかった（1479-0003 試験［CTD 5.3.1.1-02_c40238670］）。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 3.2.3: 1　　イヌにペンタガストリン又はファモチジン前投与したときのゾンゲルチニブ経口投与後の血漿中薬物動態の比較

| Parameters [a] | Pre-treatment | |
|---|---|---|
| | 6 µg/kg pentagastrin intramuscularly 0.5 h prior to zongertinib dosing (n=4) | 40 mg famotidine orally 1 h prior to zongertinib dosing (n=4) |
| Dose (mg/kg) | 3 | 3 |
| $C_{max}$ (nmol/L) | 1690 (24.7%) | 106 (37.7%) |
| $t_{max}$ (h) | 4 (2-4) | 4 (2-4) |
| $AUC_{0-\infty}$ (nmol•h/L) | 15500 (21.4%) | 827 (26.2%) |

a　Parameters are presented as mean (coefficient of variation) for $C_{max}$ and $AUC_{0-\infty}$ and as median (min-max) for $t_{max}$.
$AUC_{0-\infty}$: area under the concentration-time curve in plasma over the time interval from 0 extrapolated to infinity
$C_{max}$: maximum concentration in plasma
h: hour
$t_{max}$: time from dosing to the maximum concentration in plasma

### 3.2.4　　ラット，ウサギ及びイヌにゾンゲルチニブを反復投与したときの血漿中薬物動態（トキシコキネティクス）

ラット，ウサギ及びイヌを用いた毒性試験において，ゾンゲルチニブを反復経口投与したときのトキシコキネティクスを検討した。結果の詳細は毒性試験の概要文［CTD 2.6.6］に記載し，トキシコキネティクスパラメータは毒性試験の概要表［CTD 2.6.7_3 項］に要約した。全体として，ラット及びイヌにおけるゾンゲルチニブの血漿中曝露量（$C_{max}$ 及び AUC）に明らかな性差は認められなかった。ラット，ウサギ及びイヌでは，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に反復投与による顕著な変化はなかった。このことから，これらの動物種においてゾンゲルチニブの代謝に関与する酵素は自己誘導されないことが示唆された。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 4. 分布

### 4.1 血漿タンパク結合

非臨床動物種及びヒトの血漿，並びにヒト血清アルブミン溶液（45 g/L），ヒト $\alpha_1$-酸性糖タンパク質溶液（1 g/L）に[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを添加し，平衡透析法を用いて[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ由来放射能のタンパク結合を *in vitro* で検討した［CTD 4.2.2.3-03_n00279937］。検討した[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ濃度は，マウスで 2 及び 200 µmol/L，ラットで 0.5～200 µmol/L，ウサギ及びイヌで 0.2～200 µmol/L，ヒトで 0.2～20 µmol/L とした。[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ 20 µmol/L において，LSC による測定で求めた放射能のタンパク結合率と，LC-MS/MS による測定で求めたゾンゲルチニブのタンパク結合率はほぼ同じであったことから，放射能のタンパク結合率は，ゾンゲルチニブとしてのタンパク結合率を表すものとみなした。

ゾンゲルチニブの血漿タンパク結合率は，評価したすべての動物種で高く，99%以上であった。血漿中でのゾンゲルチニブの非結合型分率（$f_u$）は，ラットで 0.074%，ヒトで 0.46%，CD-1 マウスで 0.73%，CByB6F1 マウス，ウサギ及びイヌで 1.0%であった。マウス以外の動物種において，$f_u$ は 20 µmol/L までの濃度で一定であった。また，ヒト以外の動物種において，200 µmol/L では 0.2～20 µmol/L での $f_u$ の約 2 倍であった。

ゾンゲルチニブ 2 µmol/L における $f_u$ は，ヒト血清アルブミン溶液で 0.626%，ヒト $\alpha_1$-酸性糖タンパク質溶液で 32.7%であったことから，ゾンゲルチニブはヒト血漿中で主にアルブミンに結合すると考えられた。

### 4.2 血球移行

ラット，イヌ及びヒトの新鮮血に[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを添加し，[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ由来放射能の血球移行を *in vitro* で検討した［CTD 4.2.2.3-04_n00290147］。検討した[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ濃度は，ラットで 0.2～60 µmol/L，イヌ及びヒトで 0.2～20 µmol/L とした。放射能の血球/血漿分配率は，ラットで 0.058，イヌで 0.465，ヒトで 0.299 であった。また，放射能の血液/血漿中濃度比は，ラットで 0.620，イヌで 0.787，ヒトで 0.700 であった。イヌ及びヒトでは，血液中ゾンゲルチニブ濃度の増加に伴い，血球/血漿分配率がわずかに低下する傾向があった。

Wistar Han ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血液を用いて，[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ由来放射能の血球/血漿分配率を *ex vivo* で検討した［CTD 4.2.2.2-02_n00292317］。放射能の血球/血漿分配率は，投与後 0.25～168 時間で 0.030～0.160 であった。ラットにおけるゾンゲルチニブの血球移行性は，*in vitro* 及び *ex vivo* のいずれにおいても非常に低かった。

### 4.3 定量的全身オートラジオグラフィー

雄の有色（Long Evans）ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ由来放射能の組織分布を QWBA により検討した［CTD 4.2.2.3-01_n00282411，CTD 4.2.2.3-02_n00292304］。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

身体質量を構成する主要な組織への放射能の分布は低い又は中程度であり，放射能の血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC）に対する組織中 AUC 比は筋肉で 0.19，白色脂肪で 0.18，褐色脂肪で 0.63，肺で 0.62，皮膚で 0.85 であった。

中枢神経系組織における放射能濃度は非常に低かったが，投与後 24 時間まで定量可能であった。中枢神経系組織における放射能濃度は血液中濃度の 2.2%以下であった。

眼球全体及び眼内のメラニン含有組織への放射能の分布は高く，放射能の組織中/血漿中 AUC 比は眼球全体で 4.5，眼内のメラニン含有組織で 26 であった。放射能の消失半減期は，眼球全体では 660 時間，眼内のメラニン含有組織では 740 時間であった。また，皮膚の有色部分での放射能の消失半減期は 180 時間であった。一方，血液中での放射能の消失半減期は 79 時間であった。有色組織での消失半減期は血液と比べて長かったことから，ゾンゲルチニブ及びその代謝物のメラニンへの高い親和性が示唆された。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 5. 代謝（動物種間の比較）

### 5.1 *In vitro* 代謝

#### 5.1.1 *In vitro* 代謝安定性

ゾンゲルチニブのマウス，ラット，イヌ，ミニブタ及びヒト懸濁肝細胞中での代謝安定性を *in vitro* で検討した［CTD 4.2.2.2-01_n00279573］。非臨床動物種の *in vitro* での肝クリアランス値は，静脈内投与したときの *in vivo* での全身クリアランス値とよく相関していた。臨床試験開始前に *in vitro-in vivo* 外挿法により予測した，ゾンゲルチニブのヒトでの *in vivo* 肝クリアランス値は 1.5 mL/min/kg であった。これは，臨床試験（1479-0006 試験）における体重あたりの全身クリアランス値 1.48 mL/min/kg（平均体重 71.4 kg の被験者で 106 mL/min）［CTD 5.3.3.1-01_c43542365］に近似していた（表 5.1.1: 1）。

表 5.1.1: 1 ゾンゲルチニブの肝細胞における *in vitro* 代謝クリアランス及び *in vivo* 全身クリアランスの動物種間比較

| Species | Mouse | Rat | Dog | Minipig | Human |
|---|---|---|---|---|---|
| Predicted $CL_{hep}$ (mL/min/kg) | 3.6 | 1.4 | 4.8 | 2.7 | 0.9 |
| $CL_{in\ vivo}$ [a] (mL/min/kg) | 8.19 | 2.02 | 5.97 | 5.50 | 1.48 (1.5) [b] |
| $CL_{in\ vivo}/CL_{hep}$ | 2.3 | 1.4 | 1.2 | 2.0 | 1.64 [c] |

a Total clearance from 表 3.2.1: 1.

b Predicted to be 1.5 mL/min/kg based on *in vitro-in vivo* extrapolation analysis and observed as 1.48 mL/min/kg [CTD 5.3.3.1-01_c43542365] following intravenously dosing.

c Calculated based on the observed CL of 1.48 mL/min/kg following intravenously dosing vs. predicted $CL_{hep}$.

$CL_{hep}$: hepatic clearance

#### 5.1.2 代謝物の動物種間比較

ゾンゲルチニブを非臨床動物種及びヒトの懸濁肝細胞中で 4 時間反応させたときの *in vitro* 代謝物をプロファイリングした。また，ゾンゲルチニブをマウス，ラット，イヌ及びミニブタに経口投与したときの投与後 2 又は 4 時間の血漿を用いて *in vivo* 代謝物をプロファイリングした［CTD 4.2.2.4-04_n00308186］。

ゾンゲルチニブはマウス，ラット，イヌ，ミニブタ及びヒトの肝細胞において複数経路で代謝され，M521(1)（*N*-脱メチル化体），M537(1)（*N*-脱メチル化及び一酸素付加体），M551(1)（一酸素付加体），M569(1)（二重水酸化体），M711(1)（グルクロン酸抱合体）及び M842(1)（グルタチオン抱合体）が検出された。また，M842(1)の分解生成物である M713(1)（システイン-グリシン抱合体），M672(1)（システイン-硫酸抱合体）及び M656(1)（システイン抱合体）も検出された。質量分析のピーク面積値から算出した，総薬物関連物質量に対する各代謝物量の割合を表 5.1.2: 1 に示す。

ヒト肝細胞において検出された代謝物はすべて，非臨床動物種の肝細胞及びゾンゲルチニブ単回経口投与後の非臨床動物種の血漿中に検出された。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 5.1.2: 1　ゾンゲルチニブの非臨床動物種及びヒト肝細胞における *in vitro* 代謝物並びにゾンゲルチニブ経口投与後の非臨床動物種の血漿における *in vivo* 代謝物のプロファイル

| Compound | % TDRM in *in vitro* hepatocyte incubations (4 h incubation) [a] | | | | | % TDRM in plasma following a single oral dose of zongertinib [a] | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mouse | Rat | Dog | Minipig | Human | Mouse (2 h) | Rat (2 h) | Dog (4 h) | Minipig (4 h) |
| Zongertinib | 56 | 58 | 81 | 79 | 88 | 86 | 93 | 96 | 94 |
| M521(1) | 7 | 2 | 12 | 8 | 2 | 5 | 1 | 2 | 2 |
| M537(1) | <1 | <1 | <1 | <1 | 1 | <1 | <1 | <1 | <1 |
| M551(1) | 1 | ND | 1 | 1 | 2 | 6 | 1 | 1 | 1 |
| M569(1) | 9 | 3 | 3 | 1 | 2 | <1 | <1 | <1 | <1 |
| M711(1) | <1 | <1 | <1 | 6 | 4 | ND | <1 | <1 | <1 |
| M842(1) and its degradants [b] | 9 | 34 | 2 | 1 | 1 | 2 | 4 | 1 | <1 |

a　Calculated based on LC-MS peak areas.
b　Detected degradation products of glutathione conjugate M842(1) are: M713(1) (cysteine-glycine conjugate), M672(1) (cysteine-sulfoxide conjugate), and M656(1) (cysteine conjugate).
h: hour
ND: not detected
TDRM: total drug-related material

### 5.1.3　ヒト肝細胞における代謝

[$^{14}$C]ゾンゲルチニブの 1 及び 10 μmol/L をヒトの懸濁肝細胞中で 6 時間反応させたときの代謝物を定量的にプロファイリングした［CTD 4.2.2.4-05_n00282018］。[$^{14}$C]ゾンゲルチニブは M521(1)（*N*-脱メチル化体），M551(1)（一酸素付加体），M537(1)（*N*-脱メチル化及び一酸素付加体），M569(1)（二重水酸化体），M656(1)（システイン抱合体）及び M711(1)（グルクロン酸抱合体）に代謝された。M656(1)はゾンゲルチニブのグルタチオン抱合体の分解生成物であると考えられた。M521(1)，M551(1)，M537(1)及び M569(1)の生成量から，チトクローム P450 を介する代謝は肝代謝全体の 48%～62%に相当すると推定された。同様に，M711(1)の生成量からグルクロン酸抱合は肝代謝全体の 13%～25%，M656(1)の生成量からグルタチオン抱合は肝代謝全体の 13%～26%に相当すると推定された。

## 5.2　*In vivo* 代謝

### 5.2.1　ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与したときの血漿及び排泄物中の代謝物プロファイル及び構造同定

雌雄 Wistar Han ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを 10 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，血漿，尿，糞及び胆汁中に 13 種類の代謝物が検出された［CTD 4.2.2.4-01_n00295804］。ラットの血漿及び排泄物中に検出された代謝物を表 5.2.1: 1 に示す。ラットにおいて，ゾンゲルチニブは，M521(1)を生成する *N*-脱メチル化，M551(1)を生成する一酸素付加，M842(1)を生成するグルタチオン抱合，M713(1)を生成するシステイン-グリシン抱合，M656(1)及び M656(2)を生成するシステ

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

イン抱合，M698(1)を生成するシステイン抱合及びアセチル化，M569(1)を生成する二重水酸化，M481(1)を生成する C-N 結合開裂，M491(1)を生成する C-N 結合開裂，グルクロン酸抱合及び一酸素付加，M617(1)を生成する硫酸化及び水素付加飽和，M441(1)を生成する *O*-脱アルキル化，二酸素付加及び水素付加飽和，M316(1)を生成する C-N 結合開裂及び二酸素付加など，様々な経路を介して代謝されたと考えられた。

**表 5.2.1: 1　　ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与したときの血漿及び排泄物中代謝物**

| Compound | Male | | | | Female | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | %$AUC_{0-48}$ | % of administered $^{14}$C dose | | | %$AUC_{0-48}$ | % of administered $^{14}$C dose | | |
| | Plasma | Feces | Urine | Bile | Plasma | Feces | Urine | Bile |
| Zongertinib | 85.7 | 52.1 | 0.1 | 4.5 | 86.5 | 59.9 | 0.1 | 3.7 |
| M316(1) | 1.6 | 0.8 | ND | ND | ND | 1.1 | ND | ND |
| M441(1) | ND | ND | ND | ND | 1.3 | ND | ND | ND |
| M481(1) | ND | ND | 0.5 | ND | ND | ND | 0.4 | ND |
| M491(1) | ND | ND | 0.1 | ND | ND | ND | 0.03 | ND |
| M521(1) | ND | 2.2 | ND | 0.2 | ND | 1.9 | ND | 0.3 |
| M551(1) | 1.1 | 2.6 | ND | 0.1 | 1.2 | 4.3 | ND | 0.1 |
| M569(1) | ND | ND | ND | 0.6 | ND | ND | ND | 0.1 |
| M617(1) | ND | ND | ND | ND | ND | 1.3 | ND | ND |
| M656(1) | 1.7 | 13.5 | ND | 1.2 | 2.7 | 4.6 | ND | 0.9 |
| M656(2) | ND | ND | ND | 8.0 | ND | ND | ND | 2.3 |
| M698(1) | ND | 1.6 | ND | ND | ND | ND | ND | 0.2 |
| M713(1) | ND | ND | ND | 0.5 | ND | ND | ND | 0.6 |
| M842(1) | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 2.0 |

$AUC_{0-48}$: area under the concentration-time curve in plasma over the time interval from 0 to 48 hour
ND: not detected

ラット血漿中では，未変化体が抽出可能であった放射能の投与後時間 0 から 48 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0-48}$）の約 86%を占めた。血漿中に検出された 4 つの代謝物は，抽出可能であった放射能の $AUC_{0-48}$ のそれぞれ 2.7%以下であった。糞中の未変化体は投与した放射能量の 52.1%（雄）及び 59.9%（雌）であった。ラットの糞中に最も多く検出された代謝物は M656(1)で，投与した放射能量の 13.5%（雄）及び 4.6%（雌）であった。ラット糞中に 2 番目に多く検出された代謝物は M551(1)であり，投与した放射能量の 2.6%（雄）及び 4.3%（雌）であった。全体として，ラットでは血漿，糞，尿及び胆汁中に検出された代謝物の曝露量に性差が認められた。生体試料からの放射能の抽出率は低く，血漿では 59.9%～64.0%，尿では 38.5%～44.2%，糞では 64.1%～65.7%であった。これらの低い抽出率は，ゾンゲルチニブの物理化学的な特性によるものと考えられる。ゾンゲルチニブは化学構造に α，β-不飽和ケトン基を有しており，これはタンパク質と共有結合する可能性のある Michael acceptor として作用することができる。したがって，ゾンゲルチニブは薬理学的標的以外のタンパク質と非特異的に共有結合することが推察された。

ゾンゲルチニブとラット血漿タンパク質との共有結合についてさらに検討するために，ラットに 10 mg/kg の[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与し，投与後 2，24，48 及び 96 時間に血漿を採

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

取した。各時点でプールした血漿試料にメタノール及びアセトニトリルを添加し，上清及び沈殿物中の放射能量を未処理の血漿中放射能量と比較した。投与後 2 時間では，雌雄ともに血漿中放射能の 91%～93%が上清中に抽出された。投与後 24，48 及び 96 時間では，上清中の放射能の抽出率は雌雄ともに 14%～18%に低下した。沈殿物を水酸化ナトリウムで溶解して測定したところ，抽出されなかった残りの放射能は沈殿物に含まれていた。このことから，ゾンゲルチニブ及び化学構造に Michael acceptor を有する一部の代謝物はラット血漿タンパク質と共有結合を形成することが示唆された。したがって，投与後 24 時間以降のラット血漿中の放射能は，主に血漿タンパク質に共有結合したゾンゲルチニブ又は代謝物，若しくはそれら両方に由来するものであると考えられた。

### 5.2.2 ヒト血漿中代謝物（非標識体投与）

第 I 相臨床試験（1479-0001 試験）において，がん患者にゾンゲルチニブを 30 又は 60 mg の用量で 1 日 2 回，経口投与したときの AUC プール血漿中に 11 種類の代謝物が検出された。これらは一酸素付加，*N*-脱メチル化，二重水酸化，グルクロン酸抱合及びこれらの組合せによって生成された。また，グルタチオン抱合体及びグルタチオン抱合体の分解生成物も検出された［CTD 4.2.2.4-02_n00300054］。AUC プール血漿中に検出された代謝物を表 5.2.2: 1 に示す。

未変化体であるゾンゲルチニブは，血漿中の総薬物関連物質量の 83.1%（用量 30 mg）及び 88.2%（用量 60 mg）に相当した。最も多かった代謝物は M656(1)で，血漿中の総薬物関連物質量の 8.8%（用量 30 mg）及び 6.3%（用量 60 mg）に相当した。2 番目に多かった代謝物は M551(1)で，血漿中の総薬物関連物質量の 5.2%（用量 30 mg）及び 2.7%（用量 60 mg）に相当した。これら代謝物はいずれも曝露量が薬物関連物質の総曝露量の 10%未満であった。また，いずれの代謝物も曝露量が未変化体の曝露量の 25%を超えなかったことから，代謝物による薬物相互作用リスクを評価しなかった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 5.2.2: 1　　がん患者にゾンゲルチニブを反復経口投与したときの AUC プール血漿中代謝物

| Compound code | % total drug-related material (Day 15: $AUC_{\tau,ss}$) | | % unchanged zongertinib (Day 15: $AUC_{\tau,ss}$) | |
|---|---|---|---|---|
| | 30 mg BID | 60 mg BID | 30 mg BID | 60 mg BID |
| Zongertinib | 83.1 | 88.2 | 100 | 100 |
| M521(1) [a] | 0.6 | 0.4 | 0.7 | 0.4 |
| M537(1) [a] | 1.0 | 0.4 | 1.2 | 0.5 |
| M551(1) [a] | 5.2 | 2.7 | 6.3 | 3.1 |
| M569(1) [a] | 0.2 | 0.2 | 0.3 | 0.2 |
| M585(1) [b] | 0.3 | 0.5 | 0.3 | 0.6 |
| M656(1) [a] | 8.8 | 6.3 | 10.6 | 7.2 |
| M673(1) [b] | ND | 0.5 | ND | 0.6 |
| M711(1) | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| M713(1) | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| M745(1) [b] | 0.1 | ND | 0.1 | ND |
| M842(1) [b] | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.2 |

a　M521(1), M537(1), M551(1), M569(1), and M656(1) levels were determined using $^{14}C$-calibration. Levels for other minor metabolites are based on mass spectrometry peak areas only.

b　Results are based on peak areas of the negative ion mode, as these metabolites are more effectively ionized in the negative mode.

$AUC_{\tau,ss}$: area under the concentration-time curve in plasma at steady state over a uniform dosing interval τ
BID: twice daily
ND: not detected

## 5.2.3　　ヒト血漿及び排泄物中代謝物（放射性標識体投与）

ヒト ADME 試験（1479-0006 試験）において健康男性被験者に[$^{14}C$]ゾンゲルチニブを 60 mg の用量で単回経口投与したときの投与後 168 時間までの AUC プール血漿中に 6 種類，尿及び糞中と合わせて計 14 種類の代謝物が検出された［CTD 4.2.2.4-03_n00308022］。これらは複数の第 I 相代謝反応（一酸素付加，*N*-脱メチル化，二重水酸化，水和，脱アルキル化），グルクロン酸抱合，グルタチオン抱合によって生成された。還元代謝物は糞中のみでわずかに検出されたことから，腸内細菌によって生成された可能性が高い。ヒト ADME 試験において血漿，尿及び糞中に検出された代謝物を表 5.2.3: 1 に示す。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 5.2.3: 1　　健康男性被験者に[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与したときの血漿，尿及び糞中代謝物

| Compound | Plasma (%$AUC_{0-168}$) | Feces (%dose) | Urine (%dose) |
|---|---|---|---|
| Zongertinib | 74.6 | 31.4 | 0.18 |
| M521(1) | 0.52 [a] | 1.77 | ND |
| M537(1) | 1.16 | 7.60 | 0.02 |
| M551(1) | 5.68 | 6.91 | 0.03 |
| M551(2) | ND | 2.50 | ND |
| M553(1) | ND | 1.41 | ND |
| M569(1) | ND | 4.94 | ND |
| M569(2) | ND | 1.26 | ND |
| M585(2) | ND | 1.61 | ND |
| M585(3) | ND | 1.46 | ND |
| M585(4) | ND | 1.08 | ND |
| M656(1) | 2.48 | 8.86 | 0.31 |
| M673(1) | ND | 0.867 | ND |
| M711(1) | 0.52 [a] | 2.14 | ND |
| M713(1) | 2.12 | ND | ND |

a　Metabolites M521(1) and M711(1) were co-eluted, and the value represents the sum of both metabolites.
$AUC_{0-168}$: area under the concentration-time curve in plasma over the time interval from 0 to 168 hour
ND: not detected

AUC プール血漿中の代謝物を，液体クロマトグラフィーを接続した加速器質量分析装置を用いて分析した。AUC プール血漿からの放射能の抽出率はほぼ 100%であった。血漿中総放射能量の 74.6%は未変化体であった。血漿中に最も多く存在した代謝物は M551(1)及び M656(1)であり，それぞれ血漿中総放射能量の 5.68%及び 2.48%であった。これら以外の M521(1), M537(1), M711(1), M713(1)などの代謝物はいずれも，血漿中総放射能量の 2.1%以下であった。ヒト ADME 試験におけるこれらの結果から，第 I 相臨床試験においてヒト血漿中には曝露量が薬物関連物質の総曝露量の 10%を超える代謝物及び薬物相互作用を引き起こす可能性のある代謝物が存在しないことを確認した。ヒトの糞及び尿中には，投与した放射能量のそれぞれ 31.4%及び 0.18%が未変化体として検出された。糞中で最も多かった 4 種類の代謝物は M656(1)，M537(1)，M551(1)及び M569(1)であり，投与した放射能量のそれぞれ 8.86%，7.60%，6.91%及び 4.94%であった。糞中のその他の代謝物はいずれも投与した放射能量の 2.5%以下であった。尿中で最も多かった代謝物は M656(1)であり，投与した放射能量の 0.31%であった。尿中のその他の代謝物はいずれも投与量の 0.1%未満であった。

## 5.3　　推定代謝経路

非臨床動物種及びヒトにおける *in vivo* 代謝試験，並びに肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験の結果から，ゾンゲルチニブは主に第 I 相代謝反応（一酸素付加，*N*-脱メチル化，二重水酸化，水和及び脱アルキル化），グルクロン酸抱合及びグルタチオン抱合により代謝されることが示された。グルタチオン抱合は主にその分解生成物であるシステイン抱合体 M656(1)として，他の少量の分

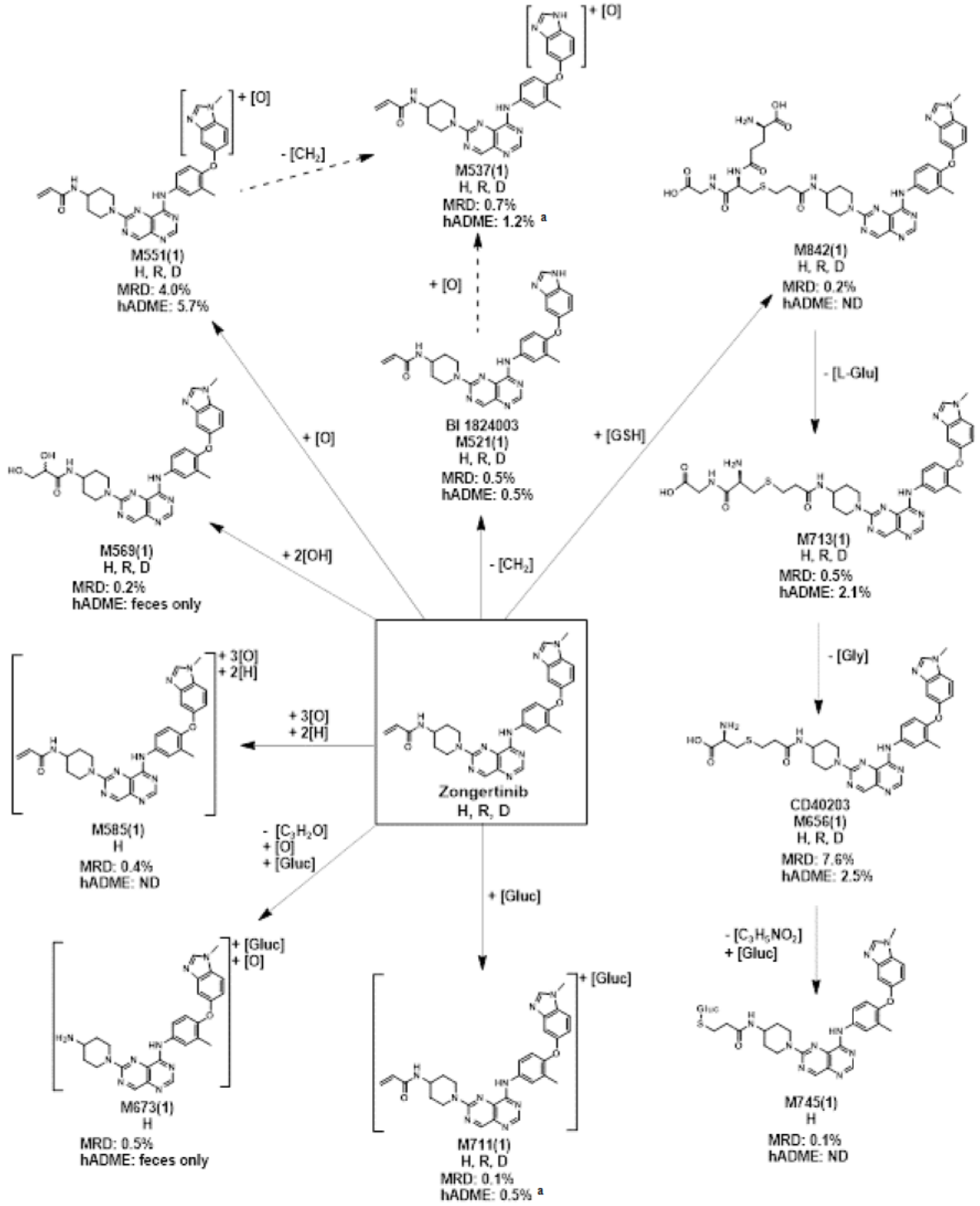
Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

解生成物とともに検出された。ゾンゲルチニブは血漿タンパク質と Michael 付加により共有結合することが考えられる。[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを投与したラット［CTD 4.2.2.4-01_n00295804］及びヒト［CTD 4.2.2.4-03_n00308022］の血漿中に放射能が投与後の長期間，低濃度で検出されたこと，また，有機溶媒添加では血漿試料から放射能を完全に抽出できなかったことは，この共有結合による可能性が高い。

一方，ヒト ADME 試験における代謝物プロファイリングでは，ほぼ 100%の放射能を AUC プール血漿から抽出できたことから，ヒト血漿タンパク質へのゾンゲルチニブの共有結合の程度は低い可能性がある。このことは，ヒト ADME 試験において経口投与後 48 時間で血漿中放射能濃度が速やかに低下したこととも一致した。

ラット，イヌ及びヒトにおけるゾンゲルチニブの推定代謝経路を図 5.3: 1 に示す。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies




a Metabolites M521(1) and M711(1) were co-eluted in hADME, and the value represents the sum of both metabolites.
H, human; R, rat; D, dog; Cys, cysteine; Gluc; glucuronide; Gly, glycine; GSH, glutathione; L-Glu, L-glutamic acid; MRD, multiple rising dose; hADME, $^{14}$C-labeled human absorption, distribution, metabolism, and excretion trial; ND, not detected.
Source documents: CTD 4.2.2.4-02_n00300054, CTD 4.2.2.4-03_n00308022, CTD 4.2.2.4-04_n00308186, CTD 4.2.2.4-05_n00282018, CTD 4.2.2.4-01_n00295804

図 5.3: 1　　ラット，イヌ及びヒトにおけるゾンゲルチニブの推定代謝経路

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 5.4 代謝酵素の同定

### 5.4.1 チトクローム P450 分子種の同定

ゾンゲルチニブの代謝に関与する P450 分子種を，ヒト組換えチトクローム P450（rCYP）1A1, rCYP1A2, rCYP2B6, rCYP2C8, rCYP2C9, rCYP2C19, rCYP2D6, rCYP3A4, rCYP3A5 及び rCYP2J2, 並びにヒト肝ミクロソーム（HLM）を用いて検討した［CTD 4.2.2.4-06_n00282230］。ゾンゲルチニブの代謝には CYP1A1，CYP3A4 及び CYP3A5 が寄与したが，固有クリアランス値は CYP1A1 よりも CYP3A4 及び CYP3A5 で非常に高かった［CTD 4.2.2.4-07_n00282422］。

さらに，HLM を用いてゾンゲルチニブの代謝に及ぼす P450 分子種の選択的阻害剤の影響を検討したところ，CYP3A4/5 が P450 介在の代謝に最も寄与していた［CTD 4.2.2.4-06_n00282230］。これらの結果から，ゾンゲルチニブの代謝に寄与する P450 分子種は主に CYP3A4 及び CYP3A5 であることが示された。ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝物プロファイリングにおいて，酸化的代謝は肝代謝全体の 48%～62%に相当した（5.1.3 項）が，これは CYP3A4/5 の寄与によるものと推定された。

これらのことから，CYP3A 活性を変化させる薬剤の併用によって，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に軽度又は中程度の変化が生じる可能性が考えられた。

### 5.4.2 ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素分子種の同定

ゾンゲルチニブのグルクロン酸抱合に関与する UGT 分子種を，ヒト組換えウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（rUGT）分子種及び HLM を用いて検討した［CTD 4.2.2.4-08_n00299024］。M711(1)は主に UGT1A4 によって生成され，UGT1A1，UGT1A3 及び UGT2B17 もわずかに寄与した。UGT1A4 選択的阻害剤であるヘコゲニンは HLM における M711(1)の生成を 65%阻害したことから，UGT1A4 がゾンゲルチニブのグルクロン酸抱合に寄与する主要な分子種であると考えられた。ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝物プロファイリングにおいて，グルクロン酸抱合は肝代謝全体の 13%～25%に相当した（5.1.3 項）ことから，UGT1A4 は肝代謝全体の 8%～16%に寄与し，UGT1A1，UGT1A3 及び UGT2B17 は合わせて 5%～9%に寄与すると推定された。検討した UGT 分子種の寄与は，いずれの分子種も肝代謝に対して 25%を超えないことから，UGT 活性を変化させる薬剤を併用しても，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に臨床的に意味のある変化は生じないと考えられた。

## 5.5 酵素阻害及び誘導

### 5.5.1 チトクローム P450 誘導

サンドイッチ培養ヒト初代肝細胞を用いて，ゾンゲルチニブの CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8, CYP2C9 及び CYP3A4 に対する誘導作用を検討した［CTD 4.2.2.4-09_n00278549，CTD 4.2.2.4-10_n00279936］。CYP1A2，CYP2B6 及び CYP2C9 のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）発現量の増加率は，ゾンゲルチニブの最大溶解濃度である 10 μmol/L まで溶媒対照の 2 倍を超えなかった。したがって，ゾンゲルチニブが臨床的に意味のある CYP1A2，CYP2B6 及び CYP2C9 の誘導を引き起こす可能性は考えられなかった。CYP2C8 及び CYP3A4 の mRNA 発現量はゾンゲルチニブの

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

濃度依存的に 2 倍を超えて増加した。最も誘導作用が強かったドナーの結果に基づくと，CYP2C8 誘導の最大効果の 50%の効果をもたらす濃度（$EC_{50}$）値及び最大誘導作用（$E_{max}$）値はそれぞれ 0.08 µmol/L 及び 3.2 であり，CYP3A4 誘導の $EC_{50}$ 値及び $E_{max}$ 値はそれぞれ 0.01 µmol/L 及び 2.6 であった。これらの誘導パラメータを用いて，薬物相互作用が生じる可能性を，厚生労働省及び EMA ガイドライン，FDA ガイダンス並びに ICH M12 ガイドラインに示された方法により評価した。ゾンゲルチニブを，現在予定されている治療用量である 120 mg で 1 日 1 回経口投与したときの $C_{max,ss}$（3.18 µmol/L）［CTD_1.13.4.1-03_c32836122］では，臨床的に意味のある CYP2C8 及び CYP3A4 の誘導が生じる可能性が考えられた。また，*in vitro* における CYP2C8 及び CYP3A4 の誘導作用から，臨床的に意味のある CYP2C19 の誘導の可能性を否定することはできない。

### 5.5.2 チトクローム P450 阻害

CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A4 に対するゾンゲルチニブの可逆的及び不可逆的阻害作用を，HLM を用いて検討した［CTD 4.2.2.4-11_n00279830，CTD 4.2.2.3-05_n00282022］。ゾンゲルチニブは 50 µmol/L まで CYP1A2 及び CYP2B6 を阻害しなかった。ゾンゲルチニブは CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 を可逆的に阻害し，その *in vitro* 阻害定数（$K_i$）値はそれぞれ 0.6，1.01，1.34 及び 4.29 µmol/L であった。また，ゾンゲルチニブは CYP3A4 を不可逆的に阻害し，最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害剤濃度（$K_I$）値は 2.57 µmol/L，最大不活性化速度定数（$k_{inact}$）値は 0.01 $min^{-1}$ であった。これらの阻害パラメータを用いて，薬物相互作用が生じる可能性を，厚生労働省及び EMA ガイドライン，FDA ガイダンス，並びに ICH M12 ガイドラインに示された方法により評価した。ゾンゲルチニブを，現在予定されている治療用量である 120 mg の 1 日 1 回経口投与したときの $C_{max,ss}$（3.18 µmol/L）［CTD_1.13.4.1-03_c32836122］では臨床的に意味のある CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 の可逆的阻害は生じないが，CYP3A4 の不可逆的阻害が生じる可能性が考えられた。

### 5.5.3 ウリジンニリン酸グルクロン酸転移酵素阻害

UGT1A1，UGT1A3，UGT1A4，UGT2B7 及び UGT2B17 に対するゾンゲルチニブの阻害作用を，HLM を用いて検討した［CTD 4.2.2.4-12_n00303501，CTD 4.2.2.3-05_n00282022］。ゾンゲルチニブは 25 µmol/L まで UGT1A1 及び UGT1A3 に対して 50%を超える阻害を引き起こさなかった。ゾンゲルチニブは UGT1A4，UGT2B7 及び UGT2B17 を阻害し，50%阻害濃度（$IC_{50}$）値はそれぞれ 1.1，19，及び 0.71 µmol/L であった。これらの阻害パラメータを用いて，薬物相互作用が生じる可能性を，厚生労働省及び EMA ガイドライン，FDA ガイダンス，並びに ICH M12 ガイドラインに示された方法により評価した。現在予定されている治療用量である 120 mg のゾンゲルチニブを 1 日 1 回経口投与したときの $C_{max,ss}$（3.18 µmol/L）では臨床的に意味のある UGT2B17 の阻害が生じる可能性が考えられた。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 6. 排泄

雌雄 Wistar Han ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを 10 mg/kg の用量で単回経口投与したとき，投与後 168 時間までに投与した放射能量の 88.8%が糞中に，1.0%が尿中に排泄された。屠体からは投与した放射能量の 6.9%が回収された。麻酔下のラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを 10 mg/kg の用量で十二指腸内投与したとき，投与後 6 時間までに投与した放射能量の 16.8%（雄）及び 10.9%（雌）が胆汁中に回収された。放射能の胆汁排泄の時間推移から，放射能の排泄率は雌より雄でわずかに高く，胆汁排泄は投与後 6 時間までに完了しないことが示唆された［CTD 4.2.2.5-01_n00289742］。

ヒト ADME 試験において，健康男性被験者に[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを 60 mg の用量で単回経口投与したとき，投与した放射能量の 92.5%が糞中に，1.3%が尿中に排泄された［CTD 5.3.3.1-01_c43542365］。ヒト ADME 試験の結果の詳細は「臨床薬理試験の概要」［CTD 2.7.2］に記載した。

ラット及びヒトに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを投与したときの放射能の排泄率を表 6: 1 に示す。

表 6: 1 ラット及びヒトに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与したときの放射能の排泄率（投与した放射能量に対する割合［%］）

| Species | Rat | | Human |
|---|---|---|---|
| Sex | Male (n=4) | Female (n=4) | Male (n=8) |
| Dose | 10 mg/kg | 10 mg/kg | 60 mg |
| Feces | 89.9 | 87.6 | 92.5 |
| Urine | 1.1 | 0.9 | 1.3 |
| Carcass | 6.4 | 7.4 | NA |
| Total excretion | 97.5 [a] | 96.3 [a] | 93.8 |
| Bile | 16.8 [b] | 10.9 [c] | NA |
| Report number | CTD 4.2.2.5-01_n00289742 | | CTD 5.3.3.1-01_c43542365 |

a Total percentage includes residual radioactivity recovered in animal cage rinse.
b Mean of 3 anesthetized animals
c Mean of 2 anesthetized animals
NA: not applicable

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 7. 薬物動態学的薬物相互作用

*In vitro* で実施したゾンゲルチニブの代謝に関する酵素の同定，ゾンゲルチニブの酵素誘導及び阻害，並びにそれらの結果に基づいた薬物相互作用リスクの評価については 5.4 項及び 5.5 項に記載した。非臨床動物種を用いた *in vivo* での薬物動態学的薬物相互作用試験は実施していない。

### 7.1 薬物トランスポーターによる輸送

ゾンゲルチニブの膜透過における P-gp 及び BCRP の関与を，Caco-2 細胞単層膜を用いて検討した［CTD 4.2.2.6-01_n00282184］。ゾンゲルチニブは実験器具や細胞表面に非特異的に吸着することから，回収率の低下を改善するために BSA を添加した。

2% BSA 存在下でのゾンゲルチニブの Caco-2 細胞単層膜における efflux ratio は 2.1 であった。P-gp 阻害剤 zosuquidar 又は BCRP 阻害剤 fumitremorgin C の存在下で efflux ratio が低下したことから，ゾンゲルチニブは P-gp と BCRP の基質であると考えられた。

ヒトにおいてゾンゲルチニブが P-gp 及び BCRP によって排出輸送される可能性は理論的には否定できない。しかし，ゾンゲルチニブの efflux ratio は 2% BSA 存在下では 2 をわずかに上回る程度であり，BSA 濃度が 0.5%以下では 1.3 未満であり輸送の方向性が失われた。また，BSA 非存在下ではゾンゲルチニブの $P_{app}$ 値は 16～20×$10^{-6}$ cm/sec であり，膜透過性は高かった（3.1 項）。したがって，これらのトランスポーターによってゾンゲルチニブの消化管からの吸収が制限されるとは考えられない。

ゾンゲルチニブの肝取込みにおける OATP1B1 及び OATP1B3 の関与を，それぞれのトランスポーターを発現させた HEK293 細胞を用いて検討した［CTD 4.2.2.6-01_n00282184］。いずれのトランスポーターを発現させた HEK293 細胞においても，ゾンゲルチニブの取込み比は 2 未満であり，トランスポーター非発現細胞と比較して顕著な差はなかった。また，OATP 阻害剤リファンピシンの存在下で，ゾンゲルチニブの取込みは変化しなかった。これらの結果から，ゾンゲルチニブは OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないと考えられた。したがって，ゾンゲルチニブの曝露量は，OATP1B1 又は OATP1B3 を阻害する薬物の併用によって影響を受ける可能性は低いと推察された。

### 7.2 薬物トランスポーター阻害

ゾンゲルチニブの薬物トランスポーター阻害作用を検討した［CTD 4.2.2.6-01_n00282184，CTD 4.2.2.6-02_n00280781］。P-gp 及び BCRP については Caco-2 細胞，OATP1B1，OATP1B3，OAT1，OAT3，OCT2，MATE1 及び MATE2-K についてはそれぞれを発現させた HEK293 細胞を用いた。ゾンゲルチニブは溶解性が低いため，5 µmol/L までの濃度で検討した。また，ゾンゲルチニブは非特異的結合性が高いことから，実際の反応液中濃度で補正して $IC_{50}$ 値を算出した。

ゾンゲルチニブは P-gp，BCRP，OATP1B1，OATP1B3，MATE1 及び MATE2-K を濃度依存的に阻害したが，OAT1，OAT3 及び OCT2 に対しては 1.6 µmol/L（設定濃度 5 µmol/L）までの濃度では 50%を超えて阻害しなかった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ゾンゲルチニブのこれらのトランスポーター阻害による薬物相互作用の可能性を，厚生労働省及び EMA ガイドライン，FDA ガイダンス，並びに ICH M12 ガイドラインに示された方法により検討した。OATP1B1 及び OATP1B3 阻害については，ヒトにゾンゲルチニブ 120 mg を 1 日 1 回投与したときの $C_{max,ss}$ 値 3.18 µmol/L［CTD_1.13.4.1-03_c32836122］及びモデリングから算出した吸収速度定数（$k_a$）値 0.027 $min^{-1}$ を用いて門脈血中濃度を推定し，評価した。P-gp，BCRP，OAT1，OAT3，OCT2，OATP1B1，OATP1B3，MATE1 及び MATE2-K に対して臨床的に意味のある阻害を引き起こす可能性のある $C_{max,ss}$ 値及び治療用量の閾値を表 7.2: 1 に示す。

以上をまとめると，現在予定されている治療用量である 120 mg を 1 日 1 回投与経口投与したときの $C_{max,ss}$（3.18 µmol/L）において，ゾンゲルチニブが P-gp，BCRP，OATP1B1 及び OATP1B3 の臨床的に意味のある阻害を引き起こす可能性が考えられた。また，厚生労働省及び EMA ガイドライン，並びに ICH M12 ガイドラインに基づくと，ゾンゲルチニブが MATE1 及び MATE2-K の臨床的に意味のある阻害を引き起こす可能性が考えられた。さらに，厚生労働省ガイドライン，FDA ガイダンス及び ICH M12 ガイドラインに基づくと，ヒトでの $C_{max,ss}$ 値が 16 µmol/L 未満の場合にゾンゲルチニブによる OAT1，OAT3 及び OCT2 の臨床的に意味のある阻害が生じる可能性は低いと予測された。一方，EMA ガイドラインに従うと，ヒトでの $C_{max,ss}$ 値が 3.2 µmol/L を超える場合にゾンゲルチニブによる OAT1，OAT3 及び OCT2 の臨床的に意味のある阻害が生じる可能性を除外できなかった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 7.2: 1 ゾンゲルチニブによる薬物トランスポーターを介した薬物相互作用の予測

| Transporter | Substrate | Inhibition | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Normalized $IC_{50}$ (μmol/L) [a] | Threshold $C_{max,ss}$ (μmol/L) [b] | Threshold dose (mg) [c] |
| P-gp | Yes | 0.14 | 0.28 | 0.18 |
| BCRP | Yes | 0.080 | 0.16 | 0.10 |
| OATP1B1 | No | 0.18 | Possible [d] | NA |
| OATP1B3 | No | 0.094 | Possible [d] | NA |
| OAT1 | ND | >1.6 [e] | ≥16 [f] | NA |
| OAT3 | ND | >1.6 [e] | ≥16 [f] | NA |
| OCT2 | ND | >1.6 [e] | ≥16 [f] | NA |
| MATE1 | ND | 0.74 | 1.48 [g] | NA |
| MATE2-K | ND | 0.60 | 1.19 [g] | NA |

a Normalized $IC_{50}$ values were determined based on recovered medium concentrations (not nominal concentrations).
b Threshold dose value for inhibition of gastrointestinal transporters
c $C_{max,ss}$ threshold is based on the most conservative guidance of EMA.
d Clinically relevant inhibition of OATP1B1 and OATP1B3 by zongertinib is predicted to be possible based on the estimated portal vein concentration at a dose of 120 mg once daily ($C_{max,ss}$: 3.18 μmol/L).
e Zongertinib did not cause >50% inhibition of OAT1, OAT3, or OCT2 up to the highest test concentrations of 1.6 μmol/L (measured), so $IC_{50}$ values were estimated to be >1.6 μmol/L.
f According to the FDA, MHLW, and ICH DDI criteria, inhibition of these transporters is considered unlikely when $C_{max,ss} \leq 16$ μmol/L. However, solely according to the EMA DDI criteria only, inhibition of OAT1, OAT3, and OCT2 by zongertinib is considered possible when zongertinib $C_{max,ss} \geq 3.2$ μmol/L.
g Threshold values shown are according to ICH, MHLW, and EMA criteria. However, according to the FDA DDI criteria, inhibition of these transporters is considered unlikely when $C_{max,ss} \leq 7.4$ μmol/L for MATE1 and $C_{max,ss} \leq 6$ μmol/L for MATE2-K.

BCRP: breast cancer resistance protein
$C_{max,ss}$: maximum concentration in plasma at steady state
DDI: drug-drug interaction
EMA: European Medicines Agency
FDA: Food and Drug Administration
$IC_{50}$: 50% inhibitory concentration
ICH: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
MATE: multidrug and toxic compound extrusion
MHLW: Ministry of Health, Labour and Welfare
NA: Not applicable, as these transporters are not expressed or relevant in the gastrointestinal tract
ND: Not determined. Zongertinib exposure is not expected to be impacted by inhibition of renal transporters, as renal excretion is a trivial pathway (~1% of dose) of zongertinib elimination
OAT: organic anion transporter
OATP: organic anion transporting polypeptide
OCT: organic cation transporter
P-gp: P-glycoprotein

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 8. その他の薬物動態試験

該当する試験は実施していない。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 9. 考察及び結論

### 吸収

マウス，ラット，イヌ及びミニブタに経口投与後のゾンゲルチニブの全身クリアランスは低く（2.02～8.19 mL/min/kg），分布容積は低い又は中程度（0.33～1.34 L/kg）であり，絶対的バイオアベイラビリティは中程度（31%～60%）であった。トキシコキネティクスにおいて，雌雄ラット，雌ウサギ及び雌雄イヌに経口投与後のゾンゲルチニブの血漿中曝露量は，全体として反復投与によって大きく変化しなかった。ラット及びイヌにおいて，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に明らかな性差は認められなかった。

Caco-2 細胞単層膜におけるゾンゲルチニブの $P_{app}$ 値は，2% BSA 存在下で 6.9～8.9×$10^{-6}$ cm/sec，BSA 非存在下では 16～20×$10^{-6}$ cm/sec であった。ゾンゲルチニブは P-gp 及び BCRP の基質であるが，中程度又は高い膜透過性を示したことから，ゾンゲルチニブの消化管からの吸収が P-gp 又は BCRP によって影響を受ける可能性は低いと推察された。このことは，ヒトにおいて経口投与でのゾンゲルチニブの絶対的バイオアベイラビリティが 76%と高く（1479-0006 試験［CTD 5.3.3.1-01_c43542365］），非臨床動物種で 31%～60%と中程度であったこと，並びにヒト反復投与漸増試験においてゾンゲルチニブの血漿中曝露量が 15～360 mg の用量にほぼ比例して増加したこと（1479-0001 試験［CTD 5.3.5.2-01_c41347760］）と一致する。

### 分布

ゾンゲルチニブの血漿タンパク結合率は高く，マウス，ラット，ウサギ，イヌ及びヒトそれぞれの血漿でいずれも 99%以上であった。このときの $f_u$ は，ラットで 0.074%，ヒトで 0.46%，CD-1 マウスで 0.73%であり，CByB6F1 マウス，ウサギ及びイヌでそれぞれ 1.0%であった。ヒトの $f_u$ はラットの 6.2 倍であったため，ラット-ヒト間でのゾンゲルチニブの曝露量比は，この $f_u$ で補正して算出した［CTD 2.6.6］。ゾンゲルチニブの血球移行率は，ラット，イヌ及びヒトのいずれにおいても低かった。

有色ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを経口投与後，身体質量を構成する主要な組織（筋肉，白色及び褐色脂肪，肺及び皮膚）への放射能の分布は低い又は中程度であった。また，放射能は眼球全体，眼内のメラニン含有組織，有色皮膚に長時間存在した。中枢神経系組織への放射能の分布の程度は非常に低く，血液中濃度の 2.2%以下であった。なお，中枢神経系においては血管内に残存する血液中の放射能が組織中濃度に反映されることが知られており，一般的に，血液中放射能濃度の最大 4%程度はバックグラウンド値としてみなすことに留意しなければならない。したがって，これらの結果からラットにおいて[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ由来放射能が中枢神経系へ分布していることを示すことはできない。しかし，中枢神経系では腫瘍の成長に伴い血液脳関門の完全性が損なわれるため，P-gp 又は BCRP の基質になる抗腫瘍薬の中枢神経内腫瘍への分布が大きくなることが報告されている［CTD 4.3-7_R23-1147，CTD 4.3-8_R23-2883］。ゾンゲルチニブは P-gp 及び BCRP の基質であることから，中枢神経内腫瘍へ十分に分布する可能性が考えられる。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

**代謝**

非臨床動物種及びヒトの肝細胞を用いた *in vitro*，並びに経口投与後のラット及びヒトの *in vivo* において，ゾンゲルチニブは複数の経路を介して代謝され，その代謝物プロファイルは非臨床動物種とヒトで質的に類似していた。主な代謝経路は，①酸化，ヒトでは主に CYP3A によるもの，②グルクロン酸抱合，ヒトでは UGT1A4，UGT1A1，UGT1A3 及び UGT2B17 によるもの，③グルタチオン抱合, 主にその分解生成物であるシステイン抱合体M656(1)の検出により示されたもの，であった。これらの経路以外に，ヒトではゾンゲルチニブの一部が胆汁を介して排泄される可能性がある。また，[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを経口投与後のラットの血漿試料からの放射能抽出率が低かったため, ゾンゲルチニブ又はその代謝物は血漿タンパク質と共有結合することが考えられた。ヒトでは血漿試料からの放射能抽出率はほぼ 100%であったことから, この共有結合の程度は非常に低いと考えられる。

第 I 相臨床試験において，ゾンゲルチニブを反復経口投与して定常状態となったがん患者の血漿中に 11 種類の代謝物が検出された。血漿中の総薬物関連物質量の大部分（83%～88%）は未変化体であった。検出された代謝物はいずれも曝露量が薬物関連物質の総曝露量の 10%未満であったことから，非臨床試験でこれら代謝物のさらなる特徴づけは行わなかった。

ヒト ADME 試験（1479-0006 試験）において，[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ 60 mg を経口投与後の健康男性被験者の血漿，尿及び糞中に 14 種類の代謝物が検出された。血漿中総放射能量の 75%は未変化体であった。血漿中に最も多く存在した代謝物は M551(1)（一酸素付加体）及び M656(1)（システイン抱合体）であり，血漿中総放射能量のそれぞれ 5.7%及び 2.5%に相当した。このヒト ADME 試験の結果からも，第 I 相臨床試験においてヒト血漿中には曝露量が薬物関連物質の総曝露量の 10%を超える代謝物は存在しないことが確認された。また，意味のある薬物相互作用を引き起こす可能性のあるヒト代謝物は存在しなかった。ヒトの糞及び尿中には，投与した放射能量のそれぞれ31%及び0.2%が未変化体として検出された。糞中で最も多かった4種類の代謝物はM656(1)，M537(1)，M551(1)及び M569(1)であり，投与した放射能量のそれぞれ 8.9%，7.6%，6.9%及び 4.9%に相当した。糞中のその他の代謝物はいずれも投与量の 2.5%以下であった。

[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを経口投与したラットの血漿，尿，糞及び胆汁中に 13 種類の代謝物が検出された。未変化体は，血漿試料から抽出可能な放射能の大部分（86%）を占め，また，糞中では投与した放射能量の 52%～60%に相当した。

**排泄**

ラット及びヒトに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを単回経口投与後，尿中には投与した放射能量の 1.0%（ラット）及び 1.3%（ヒト），糞中には投与した放射能量の 88.8%（ラット）及び 92.5%（ヒト）が排泄され，主な排泄経路は糞中であった。胆管カニューレ挿入ラットに[$^{14}$C]ゾンゲルチニブを十二指腸内投与したとき，投与後 6 時間までの胆汁中へ排泄された放射能は少なく，投与した放射能量の約 14%が胆汁中に排泄された。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

**薬物動態学的薬物相互作用**

Caco-2 細胞を用いた検討により，ゾンゲルチニブが P-gp 及び BCRP の基質であることが示された。一方で，ゾンゲルチニブの膜透過性は BSA 非存在下で高かった，また，ヒトに経口投与したときのゾンゲルチニブの絶対的バイオアベイラビリティは 76%と高く，血漿中曝露量は 15～360 mg の範囲で用量にほぼ比例して増加した。これらのことから，P-gp 又は BCRP の阻害剤を併用しても，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に臨床的に意味のある変化が生じる可能性は低いと考えられた。OATP1B1 及び OATP1B3 を発現させた HEK293 細胞を用いた検討により，ゾンゲルチニブは OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではないことが示されたことから，OATP1B1 又は OATP1B3 の阻害剤との併用によってゾンゲルチニブの曝露量は影響を受ける可能性は低いと考えられた。

ゾンゲルチニブのグルクロン酸抱合代謝は複数の UGT 分子種（UGT1A1，UGT1A3，UGT1A4 及び UGT2B17）を介するが，各 UGT 分子種の寄与率は小さかったことから，UGT 活性を変化させる薬剤を併用しても，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に臨床的に意味のある変化は生じないと考えられた。一方，ヒト肝細胞を用いた *in vitro* での検討により，ゾンゲルチニブの肝代謝の 48%～62%に CYP3A4/5 が寄与することが推定されたことから，CYP3A の強力な阻害剤又は誘導剤との併用により，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に軽度又は中程度の変化が生じる可能性が考えられた。このことは，臨床薬物相互作用試験において，強力な CYP3A 阻害剤及び中程度の P-gp 阻害剤であるイトラコナゾールの併用によりゾンゲルチニブの $C_{max}$ が 27%，$AUC_{0-\infty}$が 41%増加したこと（1479-0004 試験［CTD 5.3.3.4-01_c42362953］），また，強力な CYP3A 誘導剤及び中程度の P-gp 誘導剤であるカルバマゼピンの併用によりゾンゲルチニブの $C_{max}$ が 43%，$AUC_{0-\infty}$が 63%減少したこと（1479-0011 試験［CTD 5.3.3.4-02_c43437359］）とも一致する。

*In vitro* で検討したゾンゲルチニブの代謝酵素及び薬物トランスポーターに対する阻害又は誘導作用，並びに第 I 相臨床試験での血漿中曝露量を用いて，ゾンゲルチニブの相互作用薬としての薬物相互作用が生じる可能性を，厚生労働省及び EMA ガイドライン，FDA ガイダンス，並びに ICH M12 ガイドラインに示された方法により評価した。結果として，現在予定されている治療用量である 120 mg のゾンゲルチニブを 1 日 1 回経口投与した場合の $C_{max,ss}$（3.18 μmol/L）では，臨床的に意味のある CYP3A4 及び CYP2C8 の誘導，CYP3A4 の不活性化，UGT2B17 の阻害，並びに P-gp，BCRP，MATE1，MATE2-K，OATP1B1 及び OATP1B3 の阻害が生じる可能性が考えられた。また，EMA ガイドラインに基づくと，ゾンゲルチニブによる OAT1，OAT3 及び OCT2 の阻害の可能性を除外できなかった。

ゾンゲルチニブ 120 mg の 1 日 1 回投与により CYP2C8，CYP2C19 及び CYP3A4 の酵素活性が変化する可能性を検討するため，典型基質としてレパグリニド，オメプラゾール及びミダゾラムを用いた臨床薬物相互作用試験（1479-0014 試験）を現在実施中である。また，ゾンゲルチニブ 120 mg の 1 日 1 回投与によるトランスポーター阻害の可能性を検討するため，典型基質として P-gp についてはダビガトラン，OATP1B1，OATP1B3 及び BCRP についてはロスバスタチン，MATE1，MATE2-K 及び OCT2 についてはメトホルミン，OAT1 及び OAT3 についてはフロセミドを用いた臨床薬物相互作用試験（1479-0015 試験）を現在実施中である。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 10. 図表

図表は本文中に記載した。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 11. 参考文献

R23-1147 Saleem A, Searle GE, Kenny LM, Huiban M, Kozlowski K, Waldman AD, et al. Lapatinib access into normal brain and brain metastases in patients with Her-2 overexpressing breast cancer. EJNMMI Res 2015;5:30. (CTD 4.3-7)

R23-2883 Arvanitis CD, Ferraro GB, Jain RK. The blood-brain barrier and blood-tumour barrier in brain tumours and metastases. Nat Rev Cancer 2020;20(1):26-41. (CTD 4.3-8)

## 第 2 部 CTD の概要

| | |
|---|---|
| **JAN あるいは販売名：** | ゾンゲルチニブ |
| **剤形・含量：** | フィルムコート錠・60 mg |
| **文書名：** | 2.6.5 薬物動態試験概要表 |
| **文書作成日：** | 29 July 2025 |



**Proprietary confidential information**
**© 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.**
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 ..... 2
略号一覧表 ..... 3
1. 薬物動態試験：一覧表 ..... 4
2. 分析方法及びバリデーション試験 ..... 6
3. 薬物動態試験：単回投与後の吸収 ..... 7
4. 薬物動態試験：反復投与後の吸収 ..... 11
5. 薬物動態試験：分布 ..... 12
6. 薬物動態試験：タンパク結合 ..... 19
7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 ..... 20
8. 薬物動態試験：その他の分布試験 ..... 21
9. 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* ..... 24
10. 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* ..... 31
11. 薬物動態試験：推定代謝経路 ..... 39
12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害 ..... 40
13. 薬物動態試験：排泄 ..... 46
14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中 ..... 48
15. 薬物動態試験：薬物相互作用 ..... 49
16. 薬物動態試験：その他 ..... 55

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 略号一覧表

| | | |
|---|---|---|
| ADME | absorption, distribution, metabolism, excretion | 吸収，分布，代謝，排泄 |
| AUC | area under the concentration-time curve in plasma (or tissue) | 血漿（又は組織）中濃度-時間曲線下面積 |
| $AUC_{0-\infty}$ | area under the concentration-time curve in plasma over the time interval from 0 extrapolated to infinity | 投与後時間 0 から無限大時間まで外挿した血漿中濃度-時間曲線下面積 |
| $AUC_{0-t}$ | area under the concentration-time curve in plasma (or tissue) over the time interval from 0 to t | 投与後時間 0 から t までの血漿（又は組織）中濃度-時間曲線下面積 |
| BID | bis in die (twice daily) | 1 日 2 回 |
| BCRP | breast cancer resistance protein | 乳癌耐性タンパク質 |
| Caco-2 | human colonic adenocarcinoma cell line | ヒト結腸癌由来細胞株 |
| $C_{max}$ | maximum concentration in plasma | 最高血漿中濃度 |
| $C_{max,ss}$ | maximum concentration in plasma at steady state | 定常状態における最高血漿中濃度 |
| CYP | cytochrome P450 | チトクローム P450 |
| GLP | Good Laboratory Practice | 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 |
| EMA | European Medicines Agency | 欧州医薬品庁 |
| $EC_{50}$ | concentration that yields 50% of the maximum effect | 最大効果の 50%の効果をもたらす濃度 |
| $E_{max}$ | Maximum induction effect | 最大誘導作用 |
| FDA | Food and Drug Administration | 米国食品医薬品局 |
| h | hour | 時間 |
| HEK | human embryonic kidney | ヒト胎児腎 |
| HSA | human serum albumin | ヒト血清アルブミン |
| $IC_{50}$ | 50% inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| ICH | International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use | 医薬品規制調和国際会議 |
| LC-MS/MS | liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry | 液体クロマトグラフィータンデム質量分析法 |
| LSC | liquid scintillation counting | 液体シンチレーションカウンター |
| MATE | multidrug and toxic compound extrusion | 多剤排出輸送体 |
| mRNA | messenger ribonucleic acid | メッセンジャーリボ核酸 |
| OAT | organic anion transporter | 有機アニオン輸送体 |
| OATP | organic anion transporter polypeptide | 有機アニオン輸送ポリペプチド |
| OCT | organic cation transporter | 有機カチオン輸送体 |
| $P_{app}$ | apparent permeability | 見かけの透過係数 |
| P-gp | P-glycoprotein | P-糖タンパク質 |
| QD | quaque die (once daily) | 1 日 1 回 |
| QWBA | quantitative whole-body autoradiography | 定量的全身オートラジオグラフィー |
| rCYP | recombinant cytochrome P450 | 組換えチトクローム P450 |
| rUGT | recombinant uridine diphosphate glucuronosyltransferase | 組換えウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 |
| UGT | uridine diphosphate glucuronosyltransferase | ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 1. 薬物動態試験：一覧表

| Type of Study | Test System | Method of Administration | Testing Facility | Document Number |
|---|---|---|---|---|
| Analytical methods and validation | | | | |
| Assay method and validation | Rat plasma | Not applicable | BI Germany | CTD 4.2.2.1-01_n00282747 |
| Partial validation | Rat plasma | Not applicable | BI Germany | CTD 4.2.2.1-02_n00300783 |
| Stability validation | Rat plasma | Not applicable | BI Germany | CTD 4.2.2.1-03_n00306878 |
| Assay method and validation | Dog plasma | Not applicable | BI Germany | CTD 4.2.2.1-04_n00281421 |
| Partial validation and stability | Dog plasma | Not applicable | BI Germany | CTD 4.2.2.1-05_n00300222 |
| Assay method and validation | Rabbit plasma | Not applicable | BI Germany | CTD 4.2.2.1-06_n00303617 |
| Stability validation | Rabbit plasma | Not applicable | BI Germany | CTD 4.2.2.1-07_n00306877 |
| Absorption | | | | |
| Pharmacokinetics single dose | Mouse, rat, dog, minipig | Oral, intravenous | BI Austria | CTD 4.2.2.2-01_n00279573 |
| [$^{14}$C]-Pharmacokinetics single dose | Rat | Oral | BI Germany | CTD 4.2.2.2-02_n00292317 |
| Pharmacokinetics of pH effect | Dog | Oral | BI Germany | CTD 4.2.2.2-03_n00282233 |
| Distribution | | | | |
| Quantitative whole-body autoradiography (pigmented) | Rat | Oral | BI Germany | CTD 4.2.2.3-01_n00282411 |
| Quantitative whole-body autoradiography (dosimetry) | Rat | Oral | BI Germany | CTD 4.2.2.3-02_n00292304 |
| Plasma protein binding | Mouse, rat, rabbit, dog, human | *In vitro* | BI Germany | CTD 4.2.2.3-03_n00279937 |
| Blood cell partitioning | Rat, dog, human | *In vitro* | BI Germany | CTD 4.2.2.3-04_n00290147 |
| Binding to human liver microsomes | Human liver microsomes | *In vitro* | BI USA | CTD 4.2.2.3-05_n00282022 |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Type of Study | Test System | Method of Administration | Testing Facility | Document Number |
|---|---|---|---|---|
| Metabolism | | | | |
| Metabolism, *in vivo* $^{14}$C-ADME | Rat | Oral | BI USA | CTD 4.2.2.4-01_n00295804 |
| Metabolism, *in vivo* steady state | Human | Oral | BI USA | CTD 4.2.2.4-02_n00300054 |
| Metabolism, *in vivo* $^{14}$C-ADME | Human | Oral | BI USA | CTD 4.2.2.4-03_n00308022 |
| Comparative preclinical metabolism | Mouse, rat, dog, minipig, human hepatocytes, and animals *in vivo* | *In vitro*<br>*In vivo*: oral | BI Austria | CTD 4.2.2.4-04_n00308186 |
| Metabolism in human hepatocytes | Human hepatocytes | *In vitro* | BI USA | CTD 4.2.2.4-05_n00282018 |
| Responsible CYP enzymes | Human liver microsomes and recombinant CYP enzymes | *In vitro* | BI USA | CTD 4.2.2.4-06_n00282230 |
| Enzyme kinetics of CYP enzymes | Recombinant CYPs 1A1, 3A4/5 | *In vitro* | BI USA | CTD 4.2.2.4-07_n00282422 |
| Responsible UGT enzymes | Human liver microsomes and recombinant UGT enzymes | *In vitro* | [redacted] | CTD 4.2.2.4-08_n00299024 |
| CYP induction | Human hepatocytes | *In vitro* | [redacted] | CTD 4.2.2.4-09_n00278549 |
| Assessment of CYP induction | Human hepatocytes | *In vitro* | BI Germany | CTD 4.2.2.4-10_n00279936 |
| CYP inhibition and inactivation | Human liver microsomes | *In vitro* | BI Germany | CTD 4.2.2.4-11_n00279830 |
| UGT inhibition | Human liver microsomes | *In vitro* | [redacted] | CTD 4.2.2.4-12_n00303501 |
| Excretion | | | | |
| Excretion in the rat | Rat | Oral | BI Germany | CTD 4.2.2.5-01_n00289742 |
| Pharmacokinetic drug interactions | | | | |
| Interaction with transporters | Caco-2 and HEK293 cells and vectors | *In vitro* | BI Japan | CTD 4.2.2.6-01_n00282184 |
| MATE transporter inhibition | HEK293 cells and vectors | *In vitro* | BI USA | CTD 4.2.2.6-02_n00280781 |

BI: Boehringer Ingelheim

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 2. 分析方法及びバリデーション試験

概要文に記載した。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 3. 薬物動態試験：単回投与後の吸収

### 3A マウス，ラット，イヌ及びミニブタに単回投与後の血漿中薬物動態

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.2-01（n00279573）

| Species/strain | Mouse/NMRI | Rat/Wistar Han | Dog/beagle | Minipig/Göttingen |
|---|---|---|---|---|
| Gender (M/F)/number of animals | F/3 | M/3 | M/3 | M/2, F/1 |
| Feeding condition | Fed | Fed | Fasted | Fed |
| Vehicle/Formulation | 25% HP-β-CD | 25% HP-β-CD | 10% HP-β-CD | 10% HP-β-CD |
| Method of administration | Intravenous | Intravenous | Intravenous | Intravenous |
| Dose | 1 mg/kg | 1 mg/kg | 0.5 mg/kg | 0.5 mg/kg |
| Sample | Plasma | Plasma | Plasma | Plasma |
| Analyte | Zongertinib | Zongertinib | Zongertinib | Zongertinib |
| Assay | LC-MS/MS | LC-MS/MS | LC-MS/MS | LC-MS/MS |

| PK parameters: | Mouse | Rat | Dog | Minipig |
|---|---|---|---|---|
| $AUC_{0-\infty}$ (nmol•h/L) | 3800 | 17300 | 2680 | 2860 |
| CL (mL/min/kg) | 8.19 | 2.02 | 5.97 | 5.50 |
| $V_{ss}$ (L/kg) | 0.45 | 0.33 | 1.34 | 1.08 |
| $t_{1/2}$ (h) | 1.03 | 2.55 | 3.38 | 4.25 |
| $MRT_{disp}$ (h) | 0.91 | 2.82 | 3.77 | 3.28 |
| PK parameters are presented as mean values.<br>HP-β-CD: hydroxypropyl-β-cyclodextrin | | | | |
| Additional Information:<br>The PK of zongertinib following intravenous dosing in preclinical species (mouse, rat, dog, and minipig) is characterized by low clearance (CL), small to moderate volume of distribution at steady state ($V_{ss}$), and short to moderate half-life ($t_{1/2}$). | | | | |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Species/strain | Mouse/NMRI | Rat/Wistar Han | Dog/beagle | Minipig/Göttingen |
|---|---|---|---|---|
| Gender (M/F)/Number of animals | F/3 | M/3 | M/3 | F/3 |
| Feeding condition | Fed | Fasted | Fasted | Fasted |
| Vehicle/Formulation | 0.5% Natrosol | 0.5% Natrosol | 0.5% Natrosol | 0.5% Natrosol |
| Method of administration | Oral | Oral | Oral | Oral |
| Dose | 3 mg/kg | 3 mg/kg | 10 mg/kg | 3 mg/kg |
| Sample | Plasma | Plasma | Plasma | Plasma |
| Analyte | Zongertinib | Zongertinib | Zongertinib | Zongertinib |
| Assay | LC-MS/MS | LC-MS/MS | LC-MS/MS | LC-MS/MS |

| PK parameters: | Mouse | Rat | Dog | Minipig |
|---|---|---|---|---|
| $C_{max}$ (nmol/L) | 1200 | 2480 | 2670 | 82.4 |
| $t_{max}$ (h) | 2 | 2 | 4 | 8 |
| $AUC_{0-\infty}$ (nmol•h/L) | 4680 | 16100 | 32200 | 5200 |
| $MRT_{tot}$ (h) | 3.2 | 4.27 | 14.6 | 7.75 |
| Absolute bioavailability | 0.42 | 0.31 | 0.60 | 0.31 |
| PK parameters are presented as the mean values, except $t_{max}$ values which are presented as the median values. | | | | |
| Additional Information:<br>The PK of zongertinib following oral dosing in preclinical species (mouse, rat, dog, and minipig) is characterized by moderate oral bioavailability. | | | | |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 3B [$^{14}$C]ゾンゲルチニブをラットに単回投与後の血漿中薬物動態

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.2-02（n00292317）

| | |
|---|---|
| Species/strain | Rat/Wistar Han |
| Gender (M/F)/number of animals | M/4, F/4 |
| Feeding condition | Fasted |
| Vehicle/Formulation | 3% 0.1 mol/L hydrochloric acid and 10% hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water, pH 3-4 |
| Method of administration | Oral |
| Dose | 10 mg/kg |
| Sample | Plasma |

| Gender | Male | | Female [a] | |
|---|---|---|---|---|
| Analyte | Total radioactivity | Zongertinib | Total radioactivity | Zongertinib |
| Assay | LSC | LC-MS/MS | LSC | LC-MS/MS |
| PK parameters: | | | | |
| $C_{max}$ (nmol/L) | 22100 | 17700 | 14300 | 11700 |
| $t_{max}$ (h) | 2 | 2 | 2 | 2 |
| $AUC_{0-\infty}$ (nmol•h/L) | 913000 | 188000 | 860000 | 134000 |
| $MRT_{tot}$ (h) | 60.6 | 5.92 | 95.0 | 6.29 |
| $t_{1/2}$ (h) | 50.4 | 3.09 | 75.5 | 3.59 |

PK parameters are presented as the mean values, except $t_{max}$ values which are presented as the median values.
a PK parameters for female were calculated using data from three animals due to the death of one of four animals during the experiment.

Additional Information:
There were no apparent sex-based differences in plasma exposure of zongertinib or total radioactivity.
Terminal half-life values in rats were substantially longer for total radioactivity than for unchanged zongertinib, reflecting slow elimination of nonspecific covalently bound [$^{14}$C]zongertinib to plasma proteins.
Unchanged zongertinib represented 21% (male) and 16% (female) of total radioactivity exposure ($AUC_{0-\infty}$).

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 3C　　胃内 pH が吸収に及ぼす影響

被験物質：　　ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）：　　CTD 4.2.2.2-03（n00282233）

| | |
|---|---|
| Species/strain | Dog/beagle |
| Gender (M/F)/number of animals | M/4 |
| Feeding condition | Fasted |
| Vehicle/Formulation | 0.5% natrosol suspension |
| Method of administration | Oral |
| Dose | 3 mg/kg |
| Sample | Plasma |

| Pre-treatment | Intramuscular dosing of 6 µg/kg pentagastrin at 0.5 h before oral dosing of zongertinib | Oral dosing of 40 mg famotidine at 1 h before oral dosing of zongertinib |
|---|---|---|
| Analyte | Zongertinib | Zongertinib |
| Assay | LC-MS/MS | LC-MS/MS |
| PK parameters: | | |
| $C_{max}$ (nmol/L) | 1690 (24.7%) | 106 (37.7%) |
| $t_{max}$ (h) | 4 (2-4) | 4 (2-4) |
| $AUC_{0-\infty}$ (nmol/L•h) | 15500 (21.4%) | 827 (26.2%) |
| $MRT_{tot}$ (h) | 6.56 (7.7%) | 7.30 (23.7%) |
| $t_{1/2}$ (h) | 4.74 (3.9%) | 3.87 (24.7%) |
| PK parameters are presented as the mean (CV%) except for $t_{max}$, which is presented as median (minimum–maximum). | | |
| Additional Information:<br>Zongertinib exposure was substantially higher following pentagastrin pre-treatment (reducing gastric pH to ~1-2) than following famotidine pre-treatment (increasing gastric pH to ~6-7) in dogs, indicating reduced extent of absorption for zongertinib suspension at the high gastric pH.<br>There were no apparent differences in the rate of absorption or the rate of elimination between the two pre-treatment options, as indicated by similar values for time to reach maximum concentration ($t_{max}$) and by similar values of half-life ($t_{1/2}$). | | |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 4. 薬物動態試験：反復投与後の吸収

ラット，ウサギ及びイヌを用いた毒性試験において，ゾンゲルチニブを反復経口投与したときのトキシコキネティクスを検討した。結果は毒性試験の概要表に示した［CTD 2.6.7_2 項，CTD 2.6.7_3 項］。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 5. 薬物動態試験：分布

### 5A 有色ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィー

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.3-01（n00282411）

| | |
|---|---|
| Species/strain: | Rat/Long Evans (RjOrl:(LE)) |
| Sex (M/F)/number of animals: | M/4 (one rat per timepoint) |
| Feeding condition: | Fasted |
| Formulation: | 0.1 mol/L hydrochloric acid (3%, v/v), hydroxypropyl-β-cyclodextrin (10%, w/v), 0.1 mol/L sodium hydroxide (1.8%, v/v), water |
| Method of administration: | Oral (gavage) |
| Dose | 10 mg/kg (radioactive dose = 5 MBq/kg) |
| Radionuclide | $^{14}$C |
| Specific activity | 1.824 MBq/µmol |
| Assays | QWBA, LSC |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Mean concentration of radioactivity: | Concentration (µmol/kg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| Sampling timepoints: | 2 h | 8 h | 24 h | 168 h |
| Locomotor system | | | | |
| Muscle cranial | 1.75 | 1.05 | 0.722 | 0.322 |
| Muscle caudal | 1.43 | 0.971 | 0.630 | 0.271 |
| Connective tissue | 4.07 | 3.85 | 2.96 | 1.84 |
| Bone marrow | 2.49 | 1.59 | 1.45 | 0.415 |
| Digestive system | | | | |
| Tongue | 4.42 | 2.91 | 1.91 | 0.902 |
| Salivary glands | 4.18 | 2.31 | 1.98 | 1.16 |
| Gastro-intestinal tract | 5.31 | 4.11 | 2.05 | 0.579 |
| Liver | 11.2 | 5.94 | 3.29 | 1.15 |
| Pancreas | 4.36 | 2.78 | 1.97 | 0.858 |
| Brown fat | 2.70 | 1.92 | 1.37 | 0.637 |
| White fat | 2.48 | 1.43 | 0.536 | 0.181 |
| Respiratory system | | | | |
| Lung | 6.82 | 4.29 | 3.51 | 0.568 |
| Cardiovascular system | | | | |
| Myocardium | 4.96 | 3.00 | 2.43 | 0.587 |
| Aorta | 5.92 | 4.54 | 4.07 | 0.800 |
| Spleen (total) | 2.81 | 1.67 | 1.68 | 1.56 |
| Spleen red pulp | 3.17 | 1.76 | 1.90 | 2.05 |
| Spleen white pulp | 2.42 | 1.35 | 1.16 | 0.781 |
| Thymus | 1.79 | 1.10 | 0.907 | 0.355 |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Mean concentration of radioactivity | Concentration (μmol/kg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| Sampling timepoints: | 2 h | 8 h | 24 h | 168 h |
| Urogenital system | | | | |
| Kidney (total) | 7.23 | 4.47 | 3.42 | 1.94 |
| Renal cortex | 7.22 | 4.62 | 3.75 | 3.39 |
| Renal outer medulla | 7.96 | 4.73 | 3.28 | 1.91 |
| Renal inner medulla | 5.65 | 3.64 | 3.10 | 0.801 |
| Testis | 1.32 | 1.39 | 1.65 | 1.26 |
| Epididymis | 1.78 | 2.01 | 1.54 | 0.918 |
| Vesicular gland | 2.18 | 1.39 | 0.716 | 0.433 |
| Ppreputial gland | 2.25 | 1.14 | ND | 0.377 |
| Prostate | ND | 1.55 | 1.27 | 0.640 |
| Endocrine system | | | | |
| Adrenal (total) | 17.5 | 6.78 | 3.39 | 1.30 |
| Adrenal cortex | 19.2 | 7.10 | 3.25 | 1.24 |
| Adrenal medulla | 8.58 | 6.67 | 4.27 | 1.72 |
| Thyroid | 2.34 | 1.87 | 1.46 | 1.23 |
| Pineal gland (epiphysis) | 3.38 | 2.15 | 2.17 | 1.16 |
| Pituitary gland (hypophysis) | 5.36 | 3.27 | 3.54 | 1.46 |
| Central nervous system | | | | |
| Brain (total) | 0.166 | 0.121 [a] | 0.100 [a] | BLD |
| Pros- & mesencephalon | 0.157 | 0.114 [a] | 0.091 [a] | BLD |
| Rhombencephalon | 0.199 | 0.137 | 0.117 [a] | BLD |
| Choroid plexus | 1.35 | 1.37 | 0.704 | 0.494 |

a value below lower limit of quantification, but above limit of detection. A trace level of radioactivity in brain tissues is likely related to residual blood in the CNS vasculature at the time of sacrifice.

BLD: below limit of detection

ND: not detected

Additional information:

The half-lives of radioactivity in total eyeball (LSC) and melanin-containing tissues of the ocular bulb (uveal tract and retinal pigment epithelium) were approximately 200 hours and 470 hours, respectively. The half-lives of radioactivity in different tissues of the pigmented skin ranged from 96 to 180 hours. These half-lives were considerably longer than the half-life of radioactivity in plasma and whole blood (about 40 hours). Therefore, it was concluded that there was high affinity and comparatively long-term (yet reversible) exposure of radioactivity to ocular tissues and to the integumentary system after oral dosing.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 5B 有色ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィー（続き）

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.3-02（n00292304）

| | |
|---|---|
| Species/strain | Rat/Long Evans (RjOrl:(LE)) |
| Sex (M/F)/number of animals | M/7 (one rat per timepoint) |
| Feeding condition | Fasted |
| Formulation | 0.1 mol/L hydrochloric acid (3%, v/v), hydroxypropyl-β-cyclodextrin (4% w/v), 0.1 mol/L sodium hydroxide (1.8%, v/v), water |
| Method of Administration | Oral (gavage) |
| Dose | 10 mg/kg (radioactive dose = 5 MBq/kg) |
| Radionuclide | $^{14}$C |
| Specific Activity | 1.824 MBq/µmol |
| Assays | QWBA, LSC |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Mean concentration of radioactivity: | Concentration (μmol/kg) | | | | | | | $AUC_{0\text{-}tz}$ (μmol•h/L) | $t_{1/2}$ (h) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sampling timepoint: | 0.5 h | 2 h | 8 h | 24 h | 72 h | 168 h | 504 h | | |
| Locomotor system | | | | | | | | | |
| Muscle cranial | 2.37 | 3.95 | 1.46 | 0.765 | 1.06 | 0.560 | 0.263 | 288 | 230 |
| Muscle caudal | 2.01 | 3.60 | 1.22 | 0.562 | 0.906 | 0.514 | 0.236 | 252 | 240 |
| Connective tissue | 4.67 | 12.6 | 5.46 | 3.60 | 5.38 | 3.60 | 1.49 | 1580 | 240 |
| Bone marrow | 3.80 | 7.69 | 3.17 | 1.67 | 1.99 | 1.08 | 0.623 | 587 | 290 |
| Digestive system | | | | | | | | | |
| Tongue | 4.45 | 8.16 | 2.79 | 1.86 | 1.83 | 0.922 | 0.390 | 501 | 210 |
| Salivary glands | 5.32 | 10.5 | 3.57 | 2.16 | 2.83 | 1.95 | 1.07 | 935 | 330 |
| Glandular stomach | 6.66 | 6.92 | 5.07 | 1.44 | 1.58 | 0.616 | 0.210 | 391 | 160 |
| Small intestine | 19.3 | 13.3 | 4.57 | 1.93 | 2.93 | 1.26 | 0.506 | 710 | 190 |
| Large intestine | 4.64 | 10.0 | 4.46 | 2.67 | 2.23 | 1.70 | 0.727 | 799 | 270 |
| Mesenteric lymph nodes | 1.61 | 5.32 | 2.98 | 1.44 | 1.30 | 0.769 | 0.248 | 381 | 190 |
| Liver | 18.3 | 26.8 | 9.08 | 3.17 | 4.62 | 2.44 | 0.787 | 1230 | 180 |
| Pancreas | 6.32 | 10.6 | 5.21 | 2.00 | 2.99 | 1.71 | 0.674 | 825 | 210 |
| Brown fat | 4.50 | 8.04 | 3.67 | 2.11 | 2.79 | 1.99 | 1.10 | 938 | 340 |
| White fat | 5.70 | 7.99 | 2.26 | 0.673 | 0.948 | 0.462 | 0.216 | 273 | 230 |
| Respiratory system | | | | | | | | | |
| Lung | 9.38 | 19.7 | 7.18 | 3.66 | 3.49 | 1.49 | 0.632 | 915 | 190 |
| Cardiovascular system | | | | | | | | | |
| Aorta | 5.85 | 18.0 | 7.29 | 3.73 | 4.21 | 2.29 | 1.13 | 1220 | 250 |
| Myocardium | 7.51 | 11.5 | 4.32 | 2.49 | 2.75 | 1.26 | 0.580 | 717 | 210 |
| Spleen (total) | 3.93 | 6.48 | 2.60 | 1.94 | 3.79 | 3.22 | 2.63 | 1520 | 890 |
| Spleen red pulp | 4.31 | 7.17 | 2.86 | 2.40 | 4.81 | 4.73 | 3.80 | 2130 | 1200 |
| Spleen white pulp | 3.09 | 5.48 | 1.99 | 1.18 | 2.01 | 1.30 | 0.913 | 652 | 430 |
| Thymus | 1.93 | 4.08 | 1.91 | 0.959 | 1.36 | 0.796 | 0.519 | 418 | 350 |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Mean concentration of radioactivity: | Concentration (μmol/kg) | | | | | | | $AUC_{0\text{-}tz}$ (μmol•h/L) | $t_{1/2}$ (h) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sampling timepoint: | 0.5 h | 2 h | 8 h | 24 h | 72 h | 168 h | 504 h | | |
| Urogenital system | | | | | | | | | |
| kidney (total) | 9.43 | 17.3 | 7.51 | 3.68 | 5.77 | 3.85 | 2.20 | 1850 | 330 |
| renal cortex | 10.3 | 17.7 | 7.79 | 4.09 | 7.71 | 6.37 | 3.80 | 2810 | 430 |
| renal outer medulla | 9.24 | 19.2 | 8.18 | 3.48 | 5.82 | 3.81 | 2.13 | 1830 | 320 |
| renal inner medulla | 7.87 | 15.9 | 6.63 | 3.18 | 3.56 | 1.47 | 0.739 | 904 | 220 |
| testis | 0.707 | 3.75 | 2.54 | 1.55 | 2.88 | 2.22 | 1.88 | 1090 | 810 |
| epididymis | 1.01 | 4.52 | 3.38 | 1.90 | 3.61 | 1.34 | 1.07 | 820 | 310 |
| prostate | 2.29 | 7.84 | 2.92 | 1.24 | 2.84 | 1.24 | 0.840 | 693 | 290 |
| vesicular gland | 0.428 | 2.27 | 1.33 | 0.634 | 0.408 | 0.300 | 0.105 [a] | 148 [a] | 220 [a] |
| preputial gland | ND | ND | 5.98 | 2.65 | 3.79 | 2.28 | 0.600 | 950 | 170 |
| Endocrine system | | | | | | | | | |
| adrenal (total) | 26.7 | 39.1 | 10.6 | 2.95 | 4.14 | 2.80 | 2.35 | 1640 | 630 |
| adrenal cortex | 27.8 | 40.2 | 10.6 | 2.83 | 3.94 | 2.56 | 2.15 | 1540 | 590 |
| adrenal medulla | 18.5 | 28.9 | 10.4 | 3.58 | 4.49 | 3.23 | 3.09 | 1870 | 1000 |
| thyroid | 7.84 | 4.60 | 1.90 | 1.28 | 3.24 | 2.59 | 0.977 | 990 | 250 |
| pineal gland (epiphysis) | 5.41 | 8.68 | 3.73 | 2.09 | 3.61 | 2.67 | 1.46 | 1200 | 340 |
| pituitary gland (hypophysis) | 6.08 | 9.15 | 6.10 | 4.00 | 7.27 | 4.29 | 1.85 | 1920 | 230 |
| Central nervous system | | | | | | | | | |
| brain (total) | 0.200 | 0.391 | 0.155 | 0.0891 [a] | BLD | BLD | BLD | 3.93 [a] | 12 [a] |
| pros- & mesencephalon | 0.195 | 0.353 | 0.145 | BLD | BLD | BLD | BLD | 1.86 | NC |
| rhombencephalon | 0.214 | 0.451 | 0.185 | 0.102 [a] | BLD | BLD | BLD | 4.57 [a] | 11 [a] |
| choroid plexus | 3.86 | 5.20 | 2.56 | 1.83 | 1.47 | 2.52 | 1.16 | 920 | 690 |
| Sensory system (visual) | | | | | | | | | |
| Lens | BLD | BLD | 0.188 | BLD | BLD | BLD | BLD | NC | NC |
| Melanin-containing tissues of the ocular bulb | 13.7 | 65.9 | 94.3 | 80.7 | 116 | 68.4 | 67.5 | 38100 | 740 |
| Total eyeball (LSC) | 1.71 | 11.0 | 17.3 | 14.2 | 19.3 | 12.9 | 11.2 | 6710 | 660 |
| Harderian gland | 2.34 | 8.55 | 3.33 | 1.88 | 3.25 | 2.25 | 1.89 | 1160 | 650 |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Mean concentration of radioactivity: | Concentration (µmol/kg) | | | | | | | $AUC_{0-tz}$ (µmol•h/L) | $t_{1/2}$ (h) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sampling timepoint: | 0.5 h | 2 h | 8 h | 24 h | 72 h | 168 h | 504 h | | |
| Integumentary system | | | | | | | | | |
| Skin (total) | 2.91 | 9.09 | 5.48 | 4.19 | 4.99 | 2.76 | 0.863 | 1260 | 180 |
| Cutis | 2.55 | 8.10 | 5.22 | 4.14 | 3.81 | 2.02 | 0.610 | 980 | 170 |
| Subcutis | 3.69 | 11.1 | 6.05 | 4.38 | 7.20 | 4.26 | 1.29 | 1790 | 180 |
| Fur | ND | ND | ND | ND | 11.6 | 5.66 | 5.58 | 3100 | 550 |
| Circulatory system | | | | | | | | | |
| Whole blood (LSC) | 13.1 | 25.8 | 10.5 | 5.23 | 4.15 | 1.01 | 0.0785 | 816 | 79 |
| Plasma (LSC) | 23.7 | 45.8 | 19.1 | 9.63 | 7.89 | 1.88 | 0.0936 | 1480 | 69 |

a value below lower limit of quantification, but above limit of detection. A trace level of radioactivity in brain tissues is likely related to residual blood in the CNS vasculature at the time of sacrifice.

BLD: below limit of detection

ND: not detected

Additional information:

The distribution of radioactivity into the main body mass constituting tissues – musculature, total skin, and both types of fat – was low to moderate with ratios up to 0.19 (muscles), 0.63 (brown fat), 0.18 (white fat), and 0.85 (total skin). The lowest radioactivity exposure levels were found in forebrain and midbrain (0.13% of plasma exposure), hindbrain (0.31%), and vesicular gland (10%). In total, the extent of distribution from plasma into tissues was considered as relatively low to moderate.

Apparent half-lives could be determined for most tissues. Most reliably determinable half-lives were long, ranging from 69 hours (plasma) to 1,200 hours (red pulp of the spleen). These apparent half-lives of radioactivity in tissues tended to exceed the half-life of radioactivity in plasma (LSC) and whole blood (LSC), at approximately 69 and 79 hours, respectively. The geometric mean of reliably determinable half-lives in tissues was approximately 300 hours.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 6. 薬物動態試験：タンパク結合

### 6A 血漿タンパク結合

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.3-03（n00279937）

| | |
|---|---|
| Study system: | *In vitro*, plasma or protein solutions |
| Test system and method: | Equilibrium dialysis and quantification via LSC (confirmation of method via LC-MS/MS) |

| Species (strain) or protein solution | Concentration (µmol/L) § | % fraction bound ($f_b$) | % fraction unbound ($f_u$) |
|---|---|---|---|
| Mouse (Crl:CD1(ICR)) | 2, 200 | 99.3 | 0.733 |
| Mouse (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic (wt/wt)) | 2, 200 | 99.0 | 1.00 |
| Rat (Crl:Wistar Han) | 0.5, 2, 20, 200 | 99.93 | 0.074 |
| Rabbit (Crl:KBL(NZW)) | 0.2#, 2, 20, 200 | 99.0 | 1.02 |
| Dog (beagle) | 0.2#, 2, 20, 200 | 99.0 | 1.03 |
| Human | 0.2#, 2, 20 | 99.5 | 0.460 |
| Human, HSA 45 g/L | 2 | 99.4 | 0.626 |
| Human, AGP 1 g/L | 2 | 67.3 | 32.7 |

§ Achieved concentrations (except for concentrations marked with §) deviated from nominal concentrations by less than 15%.
# Achieved concentrations were lower than nominal concentrations by roughly 50%.

Additional information:
Radioactivity data were verified in a control experiment, in which zongertinib concentrations were quantified in parallel by LSC and LC MS/MS. The resulting $f_b$ and $f_u$ values in rat, dog, and human plasma were very similar between the two analytical methods, confirming the results based by LSC measurements.
[$^{14}$C]zongertinib was very highly bound to animal and human plasma proteins with noted differences across the investigated species.
The drug binding in human and dog plasma was similar between males and females, whereas in rat plasma at the highest tested concentration (200 µmol/L) the $f_u$ was slightly higher in females than in males. For Crl:CD1(ICR) and CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic (wt/wt) mice a plasma pool of male and female animals was investigated; for rabbits a plasma pool of females only was used.
The $f_u$ of [$^{14}$C]zongertinib was concentration-independent between 0.2 and 20 µmol/L. At the highest tested concentration of 200 µmol/L [$^{14}$C]zongertinib, the $f_u$ values in animal plasma were approximately 2-fold higher than the $f_u$ values observed at lower concentrations.
Human serum albumin (HSA) was the predominant binding protein for zongertinib in human plasma with only minor contributions of binding from human alpha-1-acid glycoprotein (AGP).

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当する試験はない。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 8. 薬物動態試験：その他の分布試験

### 8A 血球移行（*in vitro*）

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.3-04（n00290147）

| | |
|---|---|
| Study system: | *In vitro* |
| Test system and method: | Blood, centrifugation using silicon oil as a spacer and quantification in blood and plasma via LSC |

| Species (strain) | Concentration (µmol/L) | $C_C/C_P$ | $C_B/C_P$ |
|---|---|---|---|
| Rat (Crl:Wistar Han) | 0.2, 2, 60# | 0.058 | 0.620 |
| Dog (beagle) | 0.2, 2, 20# | 0.465 | 0.787 |
| Human | 0.2, 2, 20# | 0.299 | 0.700 |

# Achieved concentrations deviated from nominal concentrations by less than 15%.

Additional information:
Blood cell-to-plasma ratio ($C_C/C_P$) and whole blood-to-plasma ratio ($C_B/C_P$) values are presented as mean values of three replicates obtained at each concentration.
Individual blood samples were collected from rats, dogs, and healthy human donors (2 males and 2 females, each) using EDTA as an anticoagulant.
As indicated by respective $C_C/C_P$ values, the [$^{14}$C]zongertinib in human and dog blood was distributed to a greater extent into plasma than into the blood cell fraction; while in rat blood, the [$^{14}$C]zongertinib was predominantly distributed into plasma. Partitioning of [$^{14}$C]zongertinib between blood cells and plasma was similar in blood from male and female individuals.
There was a trend towards slightly decreasing blood cell-to-plasma ratios with increasing zongertinib concentrations in dog and human blood.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 8B 血球移行（*ex vivo*）

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.2-02（n00292317）

| | |
|---|---|
| Species/strain | Rat/Wistar Han |
| Gender (M/F)/number of animals | M/4, F/4 |
| Feeding condition | Fasted |
| Vehicle/formulation | 3% 0.1 mol/L hydrochloric acid and 10% hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water, pH 3-4 |
| Method of administration | Oral |
| Dose (mg/kg) | 10 |
| Sample | Blood cell pellets, plasma |
| Analyte | Total radioactivity |
| Assay method | LSC |

| Time after administration (h) | Blood cell-to-plasma ratio ($C_c/C_p$) | | |
|---|---|---|---|
| | Male | Female | Male and female combined |
| 0.25 | 0.055 | 0.042 | 0.049 |
| 0.5 | 0.039 | 0.030 | 0.036 |
| 1 | 0.032 | 0.058 | 0.043 |
| 2 | 0.100 | 0.097 | 0.099 |
| 4 | 0.055 | 0.075 | 0.064 |
| 8 | 0.127 | 0.147 | 0.136 |
| 24 | 0.046 | 0.044 | 0.045 |
| 48 | 0.048 | 0.106 | 0.073 |
| 72 | 0.065 | 0.119 | 0.088 |
| 96 | 0.056 | 0.160 | 0.101 |
| 168 | 0.136 | 0.098 | 0.117 |
| Additional Information:<br>The ratios of radioactivity concentration between blood cells to plasma were very low at all time points, ranging from 0.030 to 0.160, indicating a very low extent of partitioning of zongertinib related materials into rat blood cells. The results are consistent with the *in vitro* blood cell distribution data in rat blood. | | | |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 8C ヒト肝ミクロソーム中タンパク質との結合

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.3-05（n00282022）

| | |
|---|---|
| Study system: | *In vitro* |
| Test system and method: | HLM bound to magnetizable beads, and quantification using LC-MS/MS |

| HLM concentration (mg/mL) | Zongertinib concentration (μmol/L) | Mean of fraction unbound in HLM (range) |
|---|---|---|
| 0.01 | 0.5 | 0.472 (0.451-0.497) |
| | 5 | 0.457 (0.444-0.481) |
| | 20 | 0.377 (0.349-0.415) |
| 0.1 | 0.5 | 0.363 (0.348-0.381) |
| | 5 | 0.395 (0.377-0.417) |
| | 20 | 0.224 (0.188-0.257) |
| HLM: human liver microsome | | |
| Additional information:<br>In HLM incubations, zongertinib fraction unbound values ranged from 0.224 to 0.472.<br>There was a trend for fraction unbound values to slightly decrease with the increasing HLM concentration.<br>There was a trend for fraction unbound values to slightly decrease with the increasing zongertinib concentration. | | |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 9. 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

### 9A ラット血漿，尿，糞及び胆汁中代謝物

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.4-01（n00295804）

| | |
|---|---|
| Species/strain: | Rat/Wistar Han |
| Gender (M/F)/number of animals: | M/4, F/4 for plasma samples; M/4, F/4 for urine and feces sampling; M/3, F/2 for bile sampling |
| Feeding condition: | Fasted |
| Vehicle/formulation: | 5% 0.1 mol/L hydrochloric acid and 10% hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water, pH 2-4 |
| Method of Administration: | Oral (gavage) for plasma and excretion; intraduodenal for bile collection |
| Dose: | 10 mg/kg |
| Radionuclide, Specific Activity: | $^{14}$C, 0.26 to 0.27 MBq/µmol |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Compound | % of total radioactivity ($AUC_{0-48}$) in plasma | | % of radioactivity administered | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Urine (0-168 h) | | Feces (0-48 h) | | Total (urine and feces) | | Bile (0-6 h) | |
| | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| Zongertinib | 85.7 | 86.5 | 0.1 | 0.1 | 52.1 | 59.9 | 52.2 | 60.0 | 4.5 | 3.7 |
| M656(1)/CD 40203 | 1.7 | 2.7 | ND | ND | 13.5 | 4.6 | 13.5 | 4.6 | 1.2 | 0.9 |
| M316(1) | 1.6 | ND | ND | ND | 0.8 | 1.1 | 0.8 | 1.1 | ND | ND |
| M441(1) | ND | 1.3 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| M481(1) | ND | ND | 0.5 | 0.4 | ND | ND | 0.5 | 0.4 | ND | ND |
| M491(1) | ND | ND | 0.1 | 0.03 | ND | ND | 0.1 | ND | ND | ND |
| M521(1) | ND | ND | ND | ND | 2.2 | 1.9 | 2.2 | 1.9 | 0.2 | 0.3 |
| M551(1) | 1.1 | 1.2 | ND | ND | 2.6 | 4.3 | 2.6 | 4.3 | 0.1 | 0.1 |
| M569(1) | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 0.6 | 0.1 |
| M617(1) | ND | ND | ND | ND | ND | 1.3 | ND | 1.3 | ND | ND |
| M656(2) | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 8.0 | 2.3 |
| M698(1) | ND | ND | ND | ND | 1.6 | ND | 1.6 | ND | ND | 0.2 |
| M713(1) | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 0.5 | 0.6 |
| M842(1) | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 2.0 |
| Total identified | 90.1 | 91.7 | 0.7 | 0.5 | 72.8 | 73.1 | 73.5 | 73.6 | 15.1 | 10.2 |
| Total excreted (% of dose) | NA | NA | 1.1 | 0.9 | 89.9 | 87.6 | 91.0 | 88.5 | 16.8 | 10.9 |

NA: not applicable
ND: not detected

Additional information:
In rat plasma, unchanged zongertinib represented the majority (~86%) of extractable radioactivity ($AUC_{0-48}$). Each of 4 metabolites identified in plasma represented ≤2.7% of the extractable radioactivity ($AUC_{0-48}$).
In feces, unchanged zongertinib represented 52% (male) and 60% (female) of the orally administered dose. Overall, certain sex-based exposure differences were observed for the metabolites identified in plasma, bile, and feces. Only ~1% of the radioactive dose was excreted into urine.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Covalently bound radioactivity to rat plasma, assessed as unextractable radioactivity that was retained in pellet | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Gender | Male | | | | Female | | | |
| Time after administration | 2 h | 24 h | 48 h | 96 h | 2 h | 24 h | 48 h | 96 h |
| % radioactivity recovery from supernatant (extractable) | 93% | 18% | 14% | 17% | 91% | 15% | 17% | 17% |
| % radioactivity recovery from dissolved pellet (unextractable) | 14% | 90% | 76% | 67% | 9% | 93% | 83% | 87% |
| % Total Recovery | 107% | 108% | 89% | 84% | 100% | 108% | 100% | 104% |

Additional information:
Additional rat plasma samples were obtained after oral dosing of 10 mg/kg [$^{14}$C]zongertinib to rats for the purpose of further investigation of covalent binding. The results demonstrated a substantial loss of extractable radioactivity in rat plasma collected between 2 and 24 h. At the 2 h time point, >90% of radioactivity was extractable, while at 24 h or later time points, only 14%-18% of radioactivity was extractable. The remaining unextractable radioactivity was observed within the plasma protein pellet and was confirmed after dissolution with sodium hydroxide. This information, in conjunction with the fact that zongertinib and certain metabolites of zongertinib contain a Michael acceptor within their chemical structures, suggests that covalent bonds slowly form between zongertinib (and its metabolites) and rat plasma proteins, and total plasma radioactivity at later time points represented primarily covalently bound radioactivity.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 9B がん患者に反復投与後の血漿中代謝物

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.4-02（n00300054）

| | |
|---|---|
| Gender(M/F)/number of subjects: | 6 cancer patients from trial 1479-0001 (3 from 30 mg BID dose group and 3 from 60 mg BID dose group) |
| Vehicle/formulation: | Film-coated tablets (TF1) |
| Method of Administration: | Oral |
| Dose: | 30 mg BID or 60 mg BID (60 mg and 120 mg total daily doses) |
| Analysis: | Plasma samples from Day 15 were AUC-pooled and were analyzed using LC/MS, exposures of all identified compounds are reported as % of total drug-related material (TDRM) and % of unchanged zongertinib |

| Compound | % Total drug-related material (Day 15: $AUC_{□,ss}$) | | % Unchanged zongertinib (Day 15: $AUC_{□,ss}$) | |
|---|---|---|---|---|
| | 30 mg BID | 60 mg BID | 30 mg BID | 60 mg BID |
| Zongertinib | 83.1 | 88.2 | 100 | 100 |
| M521(1) (BI 1824003) [a] | 0.6 | 0.4 | 0.7 | 0.4 |
| M537(1) [a] | 1.0 | 0.4 | 1.2 | 0.5 |
| M551(1) [a] | 5.2 | 2.7 | 6.3 | 3.1 |
| M569(1) [a] | 0.2 | 0.2 | 0.3 | 0.2 |
| M585(1) [b] | 0.3 | 0.5 | 0.3 | 0.6 |
| M656(1) (CD 40203) [a] | 8.8 | 6.3 | 10.6 | 7.2 |
| M673(1) [b] | ND | 0.5 | ND | 0.6 |
| M711(1) | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| M713(1) | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| M745(1) [b] | 0.1 | ND | 0.1 | ND |
| M842(1) [b] | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.2 |

a M521(1), M537(1), M551(1), M569(1), and M656(1) levels were determined using $^{14}C$-calibration. Levels for other minor metabolites are based on MS peak areas only.
b Results are based on peak areas of the negative ion mode, as these metabolites are more effectively ionized in the negative mode.
$AUC_{\tau,ss}$: area under the concentration-time curve in plasma at steady state over a uniform dosing interval $\tau$
ND: not detected

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

Additional information:
Zongertinib was determined to be the predominant compound circulating in human plasma, representing 83.1% and 88.2% of TDRM ($AUC_{□,ss}$) in the 30 mg twice daily (BID) and 60 mg BID dose groups, respectively. All identified metabolites are minor metabolites, each representing < 9% of TDRM. The most abundant metabolite, M656(1), is a cysteine conjugate, which is presumably a breakdown product of an initial glutathione conjugate. M656(1) represents 8.8% (30 mg BID) and 6.3% (60 mg BID) of TDRM ($AUC_{□,ss}$) in human plasma.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 9C　　健康被験者に[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ投与後の血漿，尿及び糞中代謝物

被験物質：　[$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）：　CTD 4.2.2.4-03（n00308022）

| | |
|---|---|
| Gender(M/F)/number of subjects: | 8 healthy male volunteers (1479-0006 study) |
| Vehicle/formulation: | Solution in PEG400 |
| Method of Administration: | Oral |
| Dose: | 60 mg |
| Analysis: | Plasma samples were AUC-pooled from 0 to 168 h and metabolite profiles were analyzed using accelerator mass spectrometry. Urine and fecal samples were pooled and analyzed using HPLC-radio detection. Structures were elucidated using tandem MS. |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Compound | Plasma (% of total radioactivity [$AUC_{0-168}$]) | Feces (% of radioactivity administered) | Urine (% of radioactivity administered) |
|---|---|---|---|
| Zongertinib | 74.6 | 31.4 | 0.18 |
| M521(1) | 0.52 # | 1.77 | ND |
| M537(1) | 1.16 | 7.60 | 0.02 |
| M551(1) | 5.68 | 6.91 | 0.03 |
| M551(2) | ND | 2.50 | ND |
| M553(1) | ND | 1.41 | ND |
| M569(1) | ND | 4.94 | ND |
| M569(2) | ND | 1.26 | ND |
| M585(2) | ND | 1.61 | ND |
| M585(3) | ND | 1.46 | ND |
| M585(4) | ND | 1.08 | ND |
| M656(1) | 2.48 | 8.86 | 0.31 |
| M673(1) | ND | 0.867 | ND |
| M711(1) | 0.52 # | 2.14 | ND |
| M713(1) | 2.12 | ND | ND |

# Metabolites M521(1) and M711(1) co-eluted, and the value represents the sum of both metabolites.

ND: not detected

Additional information:

Nearly 100% radioactivity was recovered from AUC-pooled plasma in this metabolite profiling analysis. The metabolite data from the human ADME study confirmed what was determined previously in the Phase I study analysis (previous page), i.e., that there are no major metabolites of zongertinib, as the exposure of each individual metabolite represents <10% of total drug-related material ($AUC_{0-168}$).

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 10. 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

### 10A 肝細胞中での代謝安定性

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.2-01（n00279573）

| | |
|---|---|
| Study system: | Suspended hepatocytes from NMRI mouse, Wistar Han rat, beagle dog, Göttingen minipig, and human |
| Method: | Zongertinib (1 µmol/L) was incubated with suspended hepatocytes from each species at 37°C for 8 h. Serum from each respective species was added at 50% to the incubation medium for each species. Half-life ($t_{1/2}$) values determined based on the disappearance of zongertinib in the incubations were used to calculate intrinsic clearance ($CL_{int}$). Total hepatic metabolic clearance ($CL_{hep}$) was scaled from $CL_{int}$ values using the well-stirred model. Hepatic CL in humans were predicted based on *in vitro* to *in vivo* extrapolation (IVIVE). |

| Species | Mouse | Rat | Dog | Minipig | Human |
|---|---|---|---|---|---|
| $CL_{int}$ (µL/min/million cells) | 3.8 | 1.4 | 5.6 | 0.95 | 0.94 |
| $CL_{hep}$ (mL/min/kg) | 3.6 | 1.4 | 4.8 | 2.7 | 0.9 |
| $CL_{in\ vivo}$ (mL/min/kg) [a] | 8.2 | 2.0 | 6.0 | 5.5 | 1.5 / 1.35 [b] |
| $CL_{in\ vivo}/CL_{hep}$ | 2.3 | 1.4 | 1.2 | 2.0 | 1.5 [c] |

a From intravenous PK studies in animal species.
b Predicted to be 1.5 mL/min/kg based on IVIVE and observed as 1.35 mL/min/kg following intravenously dosing (mean body weight of 78.5 kg) [CTD 5.3.3.1-01_c43542365].
c Calculated based on the observed CL of 1.35 mL/min/kg following intravenously dosing vs. predicted $CL_{hep}$.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 10C 比較代謝（*in vitro* 及び *in vivo*）

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.4-04（n00308186）

| | |
|---|---|
| Study system: | *In vitro* hepatocytes from NMRI mouse, Wistar Han rat, beagle dog, Göttingen minipig, and human; *in vivo* plasma from mice, rats, dogs, and minipigs. |
| Methods: | Zongertinib (1 µmol/L) was incubated with human and animal hepatocytes for up to 240 min. Zongertinib was administered to mice, rats, dogs, and minipigs orally at 100, 30, 10, and 3 mg/kg, respectively. Blood samples were collected at 2 h post dose from mice and rats and at 4 h post dose from dogs and minipigs. Zongertinib and its metabolites in extracts from hepatocyte suspensions and plasma were analyzed using LC/MS. The relative abundances of these metabolites, calculated as percentage of total drug-related material (TDRM) based on MS peak areas, are summarized in the following table. |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Compound | % TDRM in *in vitro* hepatocyte incubations (4 h incubation) [a] | | | | | % TDRM in plasma after a single oral dosing of zongertinib [a] | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mouse | Rat | Dog | Minipig | Human | Mouse (2 h) | Rat (2 h) | Dog (4 h) | Minipig (4 h) |
| Zongertinib | 56 | 58 | 81 | 79 | 88 | 86 | 93 | 96 | 94 |
| M521(1) | 7 | 2 | 12 | 8 | 2 | 5 | 1 | 2 | 2 |
| M537(1) | <1 | <1 | <1 | <1 | 1 | <1 | <1 | <1 | <1 |
| M551(1) | 1 | ND | 1 | 1 | 2 | 6 | 1 | 1 | 1 |
| M569(1) | 9 | 3 | 3 | 1 | 2 | <1 | <1 | <1 | <1 |
| M711(1) | <1 | <1 | <1 | 6 | 4 | ND | <1 | <1 | <1 |
| M842(1) and its degradants [b] | 9 | 34 | 2 | 1 | 1 | 2 | 4 | 1 | <1 |

a Calculated based on HPLC-MS peak areas.

b Detected degradation products of glutathione conjugate M842(1) are: M713(1) (cysteine-glycine conjugate), M672(1) (cysteine-sulfoxide conjugate), and M656(1) (cysteine conjugate).

ND: not detected

Additional Information:

Zongertinib was metabolized via multiple pathways in hepatocytes from human and animal species. These metabolites were also found *in vivo* in plasma collected from mice, rats, dogs, and minipig after a single oral dose of zongertinib. The identified metabolites are M521(1) (formed via *N*-demethylation), M537(1) (formed via *N*-demethylation and mono-oxidation), M551(1) (formed via mono-oxidation), M569(1) (formed via di-hydroxylation), M711(1) (formed via *N*-glucuronidation), and M842(1) (formed via glutathione conjugation). The degradation products of the glutathione conjugate, M842(1), were also detected and these were M713(1) (cysteine-glycine conjugate), M672(1) (cysteine-sulfoxide conjugate), and M656(1) (cysteine conjugate). From these *in vitro* and *in vivo* studies, it was determined that zongertinib was metabolized via multiple pathways in all tested species, and all metabolites that were identified following incubation with human hepatocytes were also identified in animal hepatocytes and in animal plasma. Therefore, no unique human metabolites of zongertinib were identified in these studies.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 10D ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 代謝物プロファイリング

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.4-05（n00282018）

| | |
|---|---|
| Study system: | *In vitro* human hepatocytes |
| Method: | Metabolic profiling and structure elucidation were conducted in suspended human hepatocytes (1 million cells/mL, pooled from 20 donors) following 6 h incubations with 1 and 10 µmol/L [$^{14}$C]zongertinib. Metabolite radioprofiling was accomplished by HPLC radiochromatography using fractionation coupled with solid scintillation counting. Metabolites were characterized and identified by mass spectrometry, including accurate mass determination in conjunction with radioactive detection. Metabolite structure elucidation, conducted in both positive and negative ion mode, was based on collision-induced dissociation tandem mass spectrometry (CID MS/MS) fragmentation and considered tentative, unless an authentic standard was available. |

| Compound | % Radioactivity | |
|---|---|---|
| | 1 µmol/L | 10 µmol/L |
| Zongertinib | 47.7 | 63.1 |
| M521(1) | ND | 1.5 |
| M537(1) | 5.1 | 4.0 |
| M551(1) | 6.3 | 7.2 |
| M569(1) | 2.7 | ND |
| M656(1) | 3.7 | 5.3 |
| M711(1) | 7.2 | 2.6 |
| m1 | 4.3 | ND |
| Others | 23.0 | 16.3 |
| Total | 100 | 100 |

ND: not detected

Additional Information:
Seven metabolites were identified from human hepatocyte incubations. The metabolic pathways in human hepatocytes are: *N*-demethylation to form M521(1), *N*-demethylation and mono-oxidation to form M537(1), mono-oxidation to form M551(1), dihydroxylation to form M569(1), cysteine conjugation to form M656(1), and glucuronidation to M711(1). Metabolites formed via Phase I metabolism (M521(1), M551(1), M537(1), and M569(1)) are predicted to represent 48%-62% of total hepatic metabolism. Glucuronidation (M711(1)) is predicted to represent 13%-25% of total hepatic metabolism. The glutathione conjugation pathway (M656(1)) is predicted to represent 13%-26% of total hepatic metabolism.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 10E チトクローム P450 酵素の同定

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.4-06（n00282230）

| | |
|---|---|
| Study system: | Human liver microsomes (HLM); recombinant CYP isoforms (rCYP) 1A1, 1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4, 3A5, and 2J2 |
| Method: | The depletion of zongertinib (1.0 μmol/L) was monitored in rCYP incubations (30 min). Formation of oxidative metabolites (M551(1), M521(1), M537(1), and M569(1)) was monitored in HLM incubations (30 min) with and without the presence of CYP isoform-selective chemical inhibitors. |

| rCYP isoform | % Zongertinib remaining (mean±SD, n=3) | |
|---|---|---|
| | +NADPH | −NADPH |
| rCYP1A1 | 28.7±4.6 | 106±8.5 |
| rCYP1A2 | 95.1±5.5 | 103±4.1 |
| rCYP2B6 | 105±7.3 | 103±7.4 |
| rCYP2C8 | 99.1±6.6 | 108±4.1 |
| rCYP2C9 | 97.8±2.6 | 104±8.6 |
| rCYP2C19 | 104±6.5 | 112±0.42 |
| rCYP2D6 | 96.4±4.6 | 103±13 |
| rCYP3A4 | 9.77±1.1 | 105±5.37 |
| rCYP3A5 | 3.83±0.2 | 98.4±5.2 |
| rCYP2J2 | 100±1.3 | 105±8.3 |
| Additional Information:<br>Based on incubations with a panel of rCYP isoforms, CYP3A4 and CYP3A5 are involved in the hepatic metabolism of zongertinib. Extrahepatically expressed CYP1A1 may also contribute (to a minor extent) to the metabolism of zongertinib. | | |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| Inhibitor | CYP isoform | % inhibition of metabolite formation (mean±SD, n=3) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | M551(1) | M521(1) | M537(1) | M569(1) |
| Furafylline | CYP1A2 | 20.2±4.6 | 13.9±2.4 | 12.3±8.9 | 26.1±4.0 |
| 2-phenyl-2-(1-piperidinyl) propane HCl | CYP2B6 | 19.5±9.1 | 15.0±5.0 | 29.4±10.4 | 18.7±5.6 |
| Montelukast | CYP2C8 | 8.64±2.5 | 5.33±3.6 | 10.4±4.8 | 11.2±3.0 |
| Sulfaphenazole | CYP2C9 | 10.3±6.3 | 7.15±4.1 | 17.5±5.9 | 13.1±2.9 |
| (+)-N-3-benzyl-nirvanol | CYP2C19 | 0 | 0 | 3.68±4.5 | 0 |
| Quinidine | CYP2D6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Azamulin | CYP3A | 98.8±0.51 | 90.2±1.1 | 100±0 | 85.9±1.3 |
| Additional Information:<br>Based on incubations in HLM with and without isoform-selective CYP inhibitors, CYP3A isoforms (CYP3A4 and CYP3A5) were determined to be the major hepatic CYP isoforms responsible for the CYP-mediated metabolism of zongertinib. These data are consistent with results from the rCYP studies (previous page). | | | | | |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 10F チトクローム P450 分子種の代謝寄与率

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.4-07（n00282422）

| | |
|---|---|
| Study system: | Human liver microsomes (HLM); recombinant CYP isoforms (rCYP) 1A1, 3A4, and 3A5 |
| Method: | Determine enzyme kinetic parameters ($K_m$, $k_{cat}$, $V_{max}$, and $CL_{int}$) of CYP-mediated metabolite formation in HLM and rCYPs. |

| Metabolite | HLM (SE) | | rCYP isoform (SE) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Parameters | rCYP1A1 | rCYP3A4 | rCYP3A5 |
| M521(1) | $V_{max}$ (pmol/min/mg protein) | 72 (5) | $k_{cat}$ ($min^{-1}$) | 0.31 (0.05) | 1.1 (0.1) | 4.9 (0.2) |
| | $K_m$ (μmol/L) | 3.7 (0.6) | $K_m$ (μmol/L) | 4.4 (1.2) | 2.4 (0.3) | 2.8 (0.3) |
| | $CL_{int}$ (μL/min/mg protein) | 19 | $CL_{int}$ (μL/min/pmol rCYP) | 0.07 | 0.5 | 2 |
| M537(1) | $V_{max}$ (pmol/min/mg protein) | 3.9 (0.5) | $k_{cat}$ ($min^{-1}$) | NA [a] | 0.13 (0.01) | 0.36 (0.09) |
| | $K_m$ (μmol/L) | 4.1 (1.0) | $K_m$ (μmol/L) | NA | 1.2 (0.2) | 4.9 (1.5) |
| | $CL_{int}$ (μL/min/mg protein) | 1 | $CL_{int}$ (μL/min/pmol rCYP) | NA | 0.1 | 0.1 |
| M551(1) | $V_{max}$ (pmol/min/mg protein) | 56 (5) | $k_{cat}$ ($min^{-1}$) | 0.093 (0.011) | 0.81 (0.03) | 1.9 (0.1) |
| | $K_m$ (μmol/L) | 4.6 (0.8) | $K_m$ (μmol/L) | 3.3 (0.7) | 1.7 (0.2) | 2.4 (0.3) |
| | $CL_{int}$ (μL/min/mg protein) | 12 | $CL_{int}$ (μL/min/pmol rCYP) | 0.03 | 0.5 | 0.8 |
| M569(1) | $V_{max}$ (pmol/min/mg protein) | 27 (2) | $k_{cat}$ ($min^{-1}$) | 0.069 (0.004) | 0.20 (0.01) | 0.39 (0.03) |
| | $K_m$ (μmol/L) | 3.1 (0.5) | $K_m$ (μmol/L) | 1.3 (0.2) | 0.59 (0.09) | 1.7 (0.2) |
| | $CL_{int}$ (μL/min/mg protein) | 9 | $CL_{int}$ (μL/min/pmol rCYP) | 0.05 | 0.3 | 0.2 |

a M537(1) formation is not detectable using rCYP1A1.
SE: standard error

Additional Information:
Enzyme kinetic data derived from rCYPs 1A1, 3A4, and 3A5 indicate that zongertinib was much more efficiently metabolized by CYP3A4/5 than by CYP1A1, as indicated by much higher $CL_{int}$ values for CYP3A4 and CYP3A5.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 10G　　ウリジンニリン酸グルクロン酸転移酵素の同定

被験物質：　　ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）：　　CTD 4.2.2.4-08（n00299024）

| | |
|---|---|
| Study system: | Human liver microsomes (HLM); uridine glucuronosyltransferase isoforms (rUGT) 1A1, 1A3, 1A4, 1A6, 1A7, 1A8, 1A9, 1A10, 2B4, 2B7, 2B10, 2B15, and 2B17. |
| Method: | Zongertinib (1.0 and 10 µmol/L) was incubated with 13 rUGT isoforms (1A1, 1A3, 1A4, 1A6, 1A7, 1A8, 1A9, 1A10, 2B4, 2B7, 2B10, 2B15, and 2B17) or HLM (0.1–1.0 mg/mL) to determine the formation of glucuronide metabolite M711(1). The selective UGT1A4 inhibitor, hecogenin (100 µmol/L), was used to determine the contribution of UGT1A4 in glucuronide M711(1) formation in HLM. |

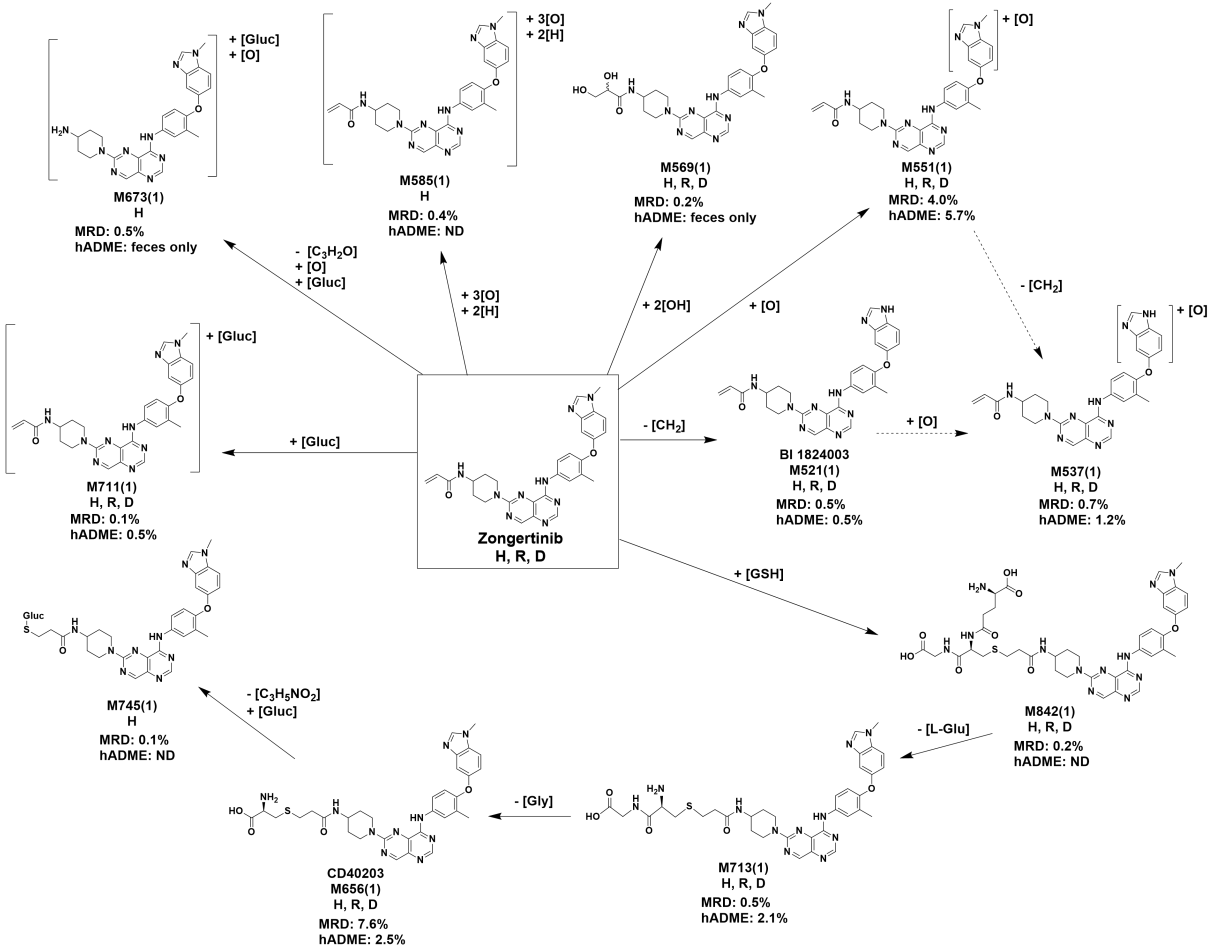
| rUGT isoform # | Zongertinib concentration (µmol/L) | Peak area ratios of glucuronide M711 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Rep1 | Rep2 | Rep3 | Mean | SD |
| rUGT1A1 | 1.0 | 0.057 | 0.051 | 0.045 | 0.051 | 0.0056 |
| | 10 | 0.28 | 0.15 | 0.18 | 0.20 | 0.068 |
| rUGT1A3 | 1.0 | 0.077 | 0.072 | 0.075 | 0.075 | 0.0023 |
| | 10 | 1.0 | 0.73 | 0.92 | 0.89 | 0.15 |
| rUGT1A4 | 1.0 | 1.7 | 1.5 | 1.5 | 1.6 | 0.085 |
| | 10 | 6.0 | 6.5 | 7.0 | 6.5 | 0.51 |
| rUGT2B17 | 1.0 | 0.067 | 0.064 | 0.067 | 0.066 | 0.0016 |
| | 10 | 0.98 | 0.79 | 0.49 | 0.75 | 0.25 |

# M711 was detected in incubations with rUGTs 1A1, 1A3, 1A4, and 2B17, but not with other rUGTs.
Rep: replicate

Additional Information:
Largest amount of M711(1) was formed by rUGT1A4; a lower amount of M711(1) was formed by rUGTs 1A1, 1A3, and 2B17.
The selective UGT1A4 inhibitor, hecogenin, inhibited M711(1) formation by 65% in HLM, indicating that in liver, ~65% of zongertinib glucuronidation occurs via UGT1A4, and ~35% of glucuronidation occurs via UGTs 1A1, 1A3, and 2B17.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 11. 薬物動態試験：推定代謝経路




Metabolic pathways of zongertinib including abundance of zongertinib metabolites in human plasma (% of total drug related material AUC) and presence of these metabolites in rats and dogs: data compiled from reports CTD 4.2.2.4-02_n00300054, CTD 4.2.2.4-03_n00308022, CTD 4.2.2.4-04_n00308186, CTD 4.2.2.4-05_n00282018, and CTD 4.2.2.4-01_n00295804. H: human, R: rat, D: dog, Cys: cysteine, Gluc: glucuronide, Gly: glycine, GSH: glutathione, L-Glu: L-glutamic acid, MRD: multiple rising dose, hADME: $^{14}$C-labeled human ADME trial, ND: not detected.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害

### 12A チトクローム P450 酵素の誘導

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.4-09（n00278549）

| | |
|---|---|
| Study system: | Sandwich-cultured primary human hepatocytes (three donors) |
| Method: | Following treatment for 48 h, at nominal zongertinib concentrations ranging from 0.01 to 10 µmol/L in hepatocyte culture medium, the enzyme activities of CYP1A2, 2B6, and 3A4 were assessed using enzyme-selective probe substrates by HPLC-MS/MS quantification. mRNA levels for CYP1A2, 2B6, 2C8, 2C9, and 3A4 were determined by semi-quantitative real-time PCR. The results for zongertinib were compared to vehicle control and prototypical CYP inducers that served as negative and positive controls, respectively. Zongertinib concentrations were also measured in the incubation medium from 0 to 24-h time points after starting the last day of spiking. All subsequent calculations of induction parameters were based on the calculated in-assay concentrations of zongertinib. |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

Summary of mean fold induction for CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4 (mRNA and activity) and for CYP2C8 and CYP2C9 (mRNA) after 48 h treatment with zongertinib and controls in sandwich-cultured human hepatocytes

| Inducer | Conc. (µmol/L) | CYP1A2 | | | | CYP2B6 | | | | CYP3A4 | | | | CYP2C8 | | CYP2C9 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Activity | | mRNA | | Activity | | mRNA | | Activity | | mRNA | | mRNA | | mRNA | |
| | | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD |
| Zongertinib | 0.01 | 0.98 | 0.37 | 0.95 | 0.15 | 0.79 | 0.27 | 1.3 | 0.40 | 1.3 | 0.26 | 1.8 | 0.23 | 1.2 | 0.75 | 1.2 | 0.42 |
| | 0.05 | 0.91 | 0.25 | 0.88 | 0.26 | 0.93 | 0.49 | 1.4 | 0.40 | 1.3 | 0.15 | 2.4 | 0.46 | 1.4 | 0.50 | 1.4 | 0.25 |
| | 0.1 | 1.0 | 0.35 | 0.82 | 0.26 | 0.89 | 0.44 | 1.4 | 0.71 | 1.5 | 0.25 | 2.8 | 0.64 | 1.7 | 0.86 | 1.5 | 0.42 |
| | 0.5 | 0.68 | 0.15 | 0.63 | 0.13 | 0.93 | 0.42 | 1.3 | 0.52 | 1.4 | 0.17 | 3.0 | 0.25 | 1.7 | 0.71 | 1.5 | 0.25 |
| | 1 | 0.65 | 0.22 | 0.62 | 0.10 | 0.80 | 0.35 | 1.5 | 1.0 | 1.3 | 0.31 | 3.3 | 0.44 | 2.2 | 1.3 | 1.6 | 0.51 |
| | 2.5 | 0.56 | 0.18 | 0.60 | 0.11 | 0.72 | 0.26 | 1.5 | 0.92 | 1.0 | 0.072 | 3.9 | 0.44 | 2.6 | 1.5 | 1.6 | 0.45 |
| | 5 | 0.44 | 0.17 | 0.55 | 0.072 | 0.64 | 0.40 | 1.5 | 0.85 | 0.62 | 0.090 | 3.4 | 0.76 | 2.7 | 1.2 | 1.5 | 0.40 |
| | 10 | 0.17 | 0.067 | 0.31 | 0.0058 | 0.29 | 0.12 | 0.49 | 0.23 | 0.093 | 0.059 | 0.16 | 0.12 | 1.0 | 0.23 | 0.90 | 0.34 |
| Omeprazole | 50 | 18 | 2.0 | 95 | 32 | NA | - | NA | - | NA | - | NA | - | NA | - | NA | - |
| Phenobarbital | 1000 | NA | - | NA | - | 15 | 3.8 | 24 | 1.2 | NA | - | NA | - | NA | - | NA | - |
| CITCO | 0.1 | NA | - | NA | - | 6.6 | 1.2 | 9.4 | 1.5 | NA | - | NA | - | NA | - | NA | - |
| Rifampicin | 10 | NA | - | NA | - | NA | - | NA | - | 17 | 4.0 | 61 | 37 | 8.9 | 6.2 | 3.5 | 0.91 |

Data are presented as the arithmetic mean and standard deviation (SD) (n=3 donors) for fold of changes relative to the vehicle control.
- not calculated
CITCO: 6-(4-Chlorophenyl)imidazo[2,1-b][1,3]thiazole-5-carbaldehyde O-(3,4-dichlorobenzyl)oxime.
Conc.: concentration
NA: not applicable

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

Additional Information:
Following treatment with zongertinib, no induction response was observed for CYP1A2 mRNA or enzyme activity across the three lots tested. Inconsistent borderline effects were observed for CYP2B6 mRNA with a maximum fold induction of 2.6-fold at 2.5 µmol/L in lot 336. No induction response was observed for CYP2B6 mRNA for lots 338 and 399, and enzyme activity for all three lots. Concentration-dependent induction responses were observed across all three lots for CYP3A4 mRNA with a maximum fold induction of 4.4-fold at 2.5 µmol/L. No induction response was observed for CYP3A4 enzyme activity. Concentration-dependent induction responses were also observed in lots 336 and 399 for CYP2C8 mRNA with a maximum fold induction of 4.2-fold at 2.5 µmol/L. Inconsistent borderline effects were observed for CYP2C9 mRNA with a maximum fold induction of 2.2-fold at 1 µmol/L in lot 336. No induction response was observed for CYP2C9 mRNA in lots 338 and 399.

In the upfront cytotoxicity test, treatment with zongertinib at 60 µmol/L caused decreases in cell viability up to 43% in lot 336. Therefore, the top concentration of zongertinib was reduced to 10 µmol/L for the induction study. No pronounced decreases in cell viability were observed following treatment with zongertinib at concentrations of 0.01-10 µmol/L in the concurrent MTT assay in lots 336, 338, and 399. Zongertinib was soluble over the concentrations range of 0.01 to 10 µmol/L. No morphological changes in hepatocytes were apparent by visual inspection during the treatment period.

Measured concentrations of zongertinib in the incubation medium before the start of the experiment (dosing solutions) were overall similar to the nominal concentrations (73%-188%) applied to hepatocytes across all test concentrations. Concentrations measured in incubation medium at time 0 were consistent with the measured spiking solutions, indicating negligible loss of zongertinib from the incubation medium. A time-dependent loss of test article was observed during the 24-h incubation period across all three lots of the hepatocytes.

Zongertinib is not an *in vitro* inducer of CYP1A2, CYP2B6, or CYP2C9, whereas it is an *in vitro* inducer of CYP2C8 and CYP3A4 at the concentrations tested in human hepatocytes.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 12B チトクローム P450 酵素誘導による薬物相互作用の可能性

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.4-10（n00279936）

| | |
|---|---|
| Type of study: | Assessment of CYP induction potential based on *in vitro* induction data from primary human hepatocytes (see previous page in Section 12A) using basic models $R_3$ and F2 according to the FDA and EMA guidances. |
| Method: | Induction parameters $EC_{50}$ and $E_{max}$ were estimated by nonlinear regression of *in vitro* induction data from incubations of sandwich cultured primary human hepatocytes of three different donors. The induction potential of zongertinib towards the human CYP3A4 and CYP2C8 was assessed using the basic models $R_3$ and $F_2$ and these *in vitro* results. $I_{max,total}$ value that would result in $R_3$=0.8 were calculated by rearranging the $R_3$ equation. |

| CYP isoform | Donor | $E_{max}$ (fold change) | $EC_{50}$ (µmol/L) | $F_2$ (µmol/L) | Threshold $I_{max,tot}$ (µmol/L) # at $R_3$=0.8 |
|---|---|---|---|---|---|
| CYP3A4 | BD 336 | 2.6 | 0.0109 | 0.007 | *0.0116* |
| | BD 338 | 3.4 | 0.118 | 0.049 | 0.0940 |
| | BD 399 | 2.7 | 0.0159 | 0.009 | 0.0162 |
| CYP2C8 | BD 336 | 3.2 | 0.0785 | 0.034 | *0.0665* |
| | BD 338 | NA | NA | NA | NA |
| | BD 399 | 1.5 | 0.222 | 0.444 | 0.444 |

Induction parameters $E_{max}$, $EC_{50}$, and $F_2$ for zongertinib and threshold plasma exposure (Imax,total) at $R_3$=0.8 are presented. Imax,total at $R_3$= 0.8 of worst-case donor (strongest induction signal) is highlighted in italic.

# A fraction unbound ($f_u$) value of 0.01 was used for calculations as a conservative approach according to the guidances (measured $f_u$ was 0.0046 [CTD 4.2.2.3-03_n00279937]).

NA: not applicable due to no induction observed *in vitro* in this donor.

Additional Information:

Zongertinib caused concentration-dependent and relevant induction (≥2-fold increase of CYP mRNA levels over solvent control) of CYP3A4 (all three donors) and CYP2C8 (two donors). No concentration-dependent or relevant induction was observed for CYP1A2, CYP2B6, or CYP2C9.

The potential for clinically relevant induction of these CYP isoforms was assessed using calculation methods outlined in FDA, MHLW, EMA, and ICH guidances and the experimentally determined induction parameters. From these calculations, zongertinib may cause clinically relevant induction of CYP3A4 and CYP2C8 if $C_{max,ss}$ exceeds 0.012 µmol/L and 0.067 µmol/L, respectively. No clinically relevant induction of CYP1A2, CYP2B6, or CYP2C9 by zongertinib is expected.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 12C チトクローム P450 酵素の阻害

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.4-11（n00279830）

| | |
|---|---|
| Study system: | Human liver microsomes (HLM) |
| Method: | To investigate reversible CYP inhibition, zongertinib (0.15, 0.5, 1.5, 5, 15, and 50 µmol/L) was co-incubated with the probe substrates of each major CYP enzyme and HLM in the presence of NADPH. To investigate time-dependent inhibition, zongertinib was pre-incubated with HLM for 30 min in the presence and absence of NADPH until addition of the probe substrates and start of the incubation. $K_I$ and $k_{inact}$ values were further determined only for isoforms showing time-dependent inhibition. Formation of the metabolites from probe substrates for each major CYP enzymes was quantified using sensitive and selective analytical techniques. |

| CYP isoform | Test reaction | $IC_{50}$ (µmol/L) | $K_i$ (µmol/L) |
|---|---|---|---|
| CYP1A2 | Phenacetin *O*-deethylation | >50 | ND |
| CYP2B6 | Bupropion hydroxylation | >50 | ND |
| CYP2C8 | Amodiaquine *N*-deethylation | 1.90 | 0.6 |
| CYP2C9 | Diclofenac 4'-hydroxylation | 3.02 | 1.01 |
| CYP2C19 | *S*-mephenytoin 4'-hydroxylation | 1.95 | 1.34 |
| CYP2D6 | Dextromethorphan *O*-demethylation | 9.64 | 4.29 |
| CYP3A4 | Midazolam 1'-hydroxylation | 36.1 | ND |
| CYP3A4 | Nifedipine oxidation | >50 | ND |
| CYP3A4 | Testosterone 6β-hydroxylation | 39.4 | ND |
| ND: not determined, as $IC_{50}$ values are so high that no clinically relevant inhibition is expected. | | | |

Additional Information:
Zongertinib is a competitive inhibitor of CYPs 2C8, 2C19, 2C9, and 2D6 *in vitro*.
Zongertinib is a time-dependent inhibitor of CYP3A4 *in vitro*, with a $K_I$ value of 2.57 µmol/L and a $k_{inact}$ value of 0.01 $min^{-1}$ for midazolam 1'-hydroxylation.
The potential for clinically relevant inhibition of these CYP isoforms was assessed using calculation methods outlined in FDA, MHLW, EMA, and ICH guidances and the experimentally determined inhibition and inactivation parameters ($K_{i,u}$, $K_{I,u}$, and $k_{inact}$). From these calculations, zongertinib at a dose of 120 mg QD ($C_{max,ss}$ = 3.18 µmol/L) may cause clinically relevant inactivation of CYP3A.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 12D　　ウリジンニリン酸グルクロン酸転移酵素の阻害

被験物質：　　ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）：　　CTD 4.2.2.4-12（n00303501）

| | |
|---|---|
| Study system: | Human liver microsomes (HLM) |
| Method: | Inhibition of enzyme activities of UGTs 1A1, 1A3, 1A4, 2B7, and 2B17 was evaluated by quantifying the amount of metabolite generated from UGT-selective probe substrates in the absence and presence of increasing concentrations of zongertinib or the respective positive control inhibitor. Zongertinib incubation concentrations ranged from 0.1-50 µmol/L. The probe substrate metabolites were quantified by LC-MS/MS. The concentrations associated with 50% inhibition ($IC_{50}$) of UGT activities for all positive control inhibitors were within the predefined acceptance criteria, thus confirming that the test system was functioning properly. |

| UGT isoform | Substrate | Zongertinib $IC_{50}$ (µmol/L) | Maximum %inhibition (at 25 µmol/L zongertinib) |
|---|---|---|---|
| UGT1A1 | 17β-Estradiol | >25 | 36 |
| UGT1A3 | Chenodeoxycholic acid | >25 | 41 |
| UGT1A4 | Trifluoperazine | 1.1 | 86 |
| UGT2B7 | Zidovudine | 19 | 51 |
| UGT2B17 | Testosterone | 0.71 | 74 |

Additional Information:
Due to incomplete solubility for zongertinib at 50 µmol/L in the assay buffer, only data obtained in incubations up to 25 µmol/L were used for analysis including curve fitting for $IC_{50}$ values. Zongertinib inhibited UGT1A4, UGT2B7, and UGT2B17 *in vitro* with $IC_{50}$ values of 1.1, 19, and 0.71 µmol/L, respectively. Zongertinib did not cause >50% inhibition on UGT1A1 or UGT1A3 up to the highest test concentration. Therefore, the $IC_{50}$ values of zongertinib for both UGT1A1 and UGT1A3 are >25 µmol/L.
The potential for clinically relevant inhibition of these UGT isoforms was assessed using calculation methods outlined in FDA, MHLW, EMA, and ICH guidances and the experimentally determined $K_{i,u}$ values. From these calculations, zongertinib at a dose of 120 mg QD ($C_{max,ss}$ = 3.18 µmol/L) may cause clinically relevant inhibition of UGT2B17.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 13. 薬物動態試験：排泄

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.5-01（n00289742）

| | |
|---|---|
| Species/strain: | Rat/Wistar Han |
| Gender (M/F)/number of animals: | M/4, F/4 |
| Feeding condition: | Fasted |
| Vehicle/formulation: | 5% 0.1 mol/L hydrochloric acid and 10% hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water, pH 2-4 |
| Method of Administration: | Oral |
| Dose: | 10 mg/kg |
| Analyte | Radioactivity |
| Assay | LSC |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| | Cumulative amount excreted (% of the dose) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Gender | Male | | | Female | | |
| Excretion route: | Urine | Feces | Total [#] | Urine | Feces | Total [#] |
| Time interval | | | | | | |
| 0–8 h | 0.2 | | | 0.1 | | |
| 0–24 h | 0.3 | 80.5 | 80.9 | 0.2 | 71.9 | 72.4 |
| 0–48 h | 0.4 | 87.3 | 87.9 | 0.3 | 84.0 | 84.7 |
| 0–72 h | 0.5 | 88.0 | 88.6 | 0.4 | 85.0 | 85.7 |
| 0–96 h | 0.7 | 88.5 | 89.3 | 0.5 | 85.6 | 86.6 |
| 0–168 h | 1.1 | 89.9 | 91.1 | 0.9 | 87.6 | 89.0 |
| Subtotal (excluding cage wash): | 1.1 | 89.9 | 91.1[#] | 0.9 | 87.6 | 89.0[#] |
| Carcass | | | 6.4 | | | 7.4 |
| Total amount excreted (urine, faeces, cage wash & carcass) | | | 97.5 | | | 96.3 |
| #: including cage wash | | | | | | |

Additional information:
After oral administration of [$^{14}$C]zongertinib to male and female rats, the majority of the dosed radioactivity was excreted via feces without a pronounced sex difference. Only a small amount of the dosed radioactivity was excreted into urine. The excretion of drug–related radioactivity was relatively fast; however, the total recovery of radioactivity for all animals was not complete and accounted for 90.1% after 168 h of sampling (91.1% in males, 89.0% in females). A relevant amount of drug-related radioactivity was recovered from the animal carcass (6.9%) and inclusion of this amount in the mass balance calculation led to a virtually complete recovery of dosed radioactivity at 96.9% (97.5% in males, 96.3% in females) within 168 h.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.5-01（n00289742）

| | |
|---|---|
| Species/strain: | Rat/Wistar Han |
| Gender (M/F)/number of animals: | M/3, F/2 |
| Feeding condition: | Fasted |
| Vehicle/Formulation: | 5% 0.1 mol/L hydrochloric acid and 10% hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water, pH 2-4 |
| Method of Administration: | Intraduodenal (to anesthetized bile duct-cannulated animals) |
| Dose: | 10 mg/kg |
| Analyte | Radioactivity |
| Assay | LSC |

| | Cumulative amount excreted to bile (% of the dose) | |
|---|---|---|
| Gender | Male | Female |
| Excretion route | Bile | Bile |
| Time interval: | | |
| 0–1 h | 2.0 | 0.8 |
| 0–2 h | 5.0 | 3.4 |
| 0–4 h | 12.0 | 6.9 |
| 0–6 h | 16.8 | 10.9 |
| Subtotal (excluding cage wash): | 16.8 | 10.9 |

Additional information:
The investigation of biliary excretion in anesthetized animals was part of the mass balance excretion study. The maximum observable time interval for anesthetized animals was up to 6 h. The biliary excretion of drug-related radioactivity after intraduodenal dosing of [$^{14}$C]zongertinib was 16.8% of dosed radioactivity in male rats and 10.9% in female rats within 6 h. The data suggested that biliary excretion of radioactivity was slightly higher in male rats than in female rats. The time course of bile excretion data suggested that biliary excretion was not complete by the 6 h time point.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 15. 薬物動態試験：薬物相互作用

## 15A 薬物トランスポーターの基質認識性（P-gp 及び BCRP）

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.6-01（n00282184）

| | |
|---|---|
| Study system: | Caco-2 cell monolayers (endogenously co-expressing P-gp and BCRP) |
| Method: | Transcellular transport of [$^{14}$C]zongertinib (1 µmol/L) in Caco-2 cells in the presence or absence of the selective P-gp inhibitor zosuquidar (ZSQ, 1 µmol/L), the selective BCRP inhibitor fumitremorgin C (FTC, 1 µmol/L), or combination of both inhibitors was examined in the presence of 2% bovine serum albumin (BSA). |

[$^{14}$C]Zongertinib transport across Caco-2 cell monolayers in the absence and presence of P-gp and/or BCRP inhibitors (with 2% BSA)

| Inhibitor | Direction | $C_{t0}$ (µmol/L) | $P_{app}$ ($\times 10^{-6}$ cm/sec) | Efflux ratio (ER) |
|---|---|---|---|---|
| None | A to B | 0.684 | 5.23±0.304 | 2.14±0.139 |
| | B to A | 0.809 | 11.2±0.318 | |
| ZSQ | A to B | 0.664 | 5.58±0.551 | 1.68±0.212 |
| | B to A | 0.765 | 9.37±0.738 | |
| FTC | A to B | 0.632 | 5.45±0.784 | 1.76±0.267 |
| | B to A | 0.744 | 9.58±0.466 | |
| ZSQ+FTC | A to B | 0.686 | 6.87±1.04 | 1.30±0.252 |
| | B to A | 0.802 | 8.93±1.08 | |

$P_{app}$ and ER are represented as the mean±standard deviation (n=3).
$C_{t0}$: initial radioactivity concentration in the donor compartment at start of transport experiment ($t_0$)

Additional Information:
Vectorial transport was observed at a concentration of 1 µmol/L zongertinib (ER: 2.14) under the control condition with 2% BSA, suggesting zongertinib is a substrate of efflux transporters (P-gp and/or BCRP) in Caco-2 cells.
The addition of a combination of ZSQ and FTC nearly completely inhibited the vectorial transport of zongertinib (ER: 1.3 (+ZSQ/FTC)), but ZSQ alone or FTC alone only resulted in partial inhibition (ER: 1.7 (+ZSQ); 1.8 (+FTC)). These findings indicate that zongertinib is a substrate of both P-gp and BCRP.
The estimated intrinsic membrane permeability of zongertinib (in the presence of ZSQ and FTC and 2% BSA) is moderate, ranging from 6.8 to $9.0\times10^{-6}$ cm/sec.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

15A 薬物トランスポーターの基質認識性（P-gp 及び BCRP）（続き）

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.6-01（n00282184）

| | |
|---|---|
| Study system: | Caco-2 cell monolayers (endogenously co-expressing P-gp and BCRP) |
| Method: | Transcellular transport of [$^{14}$C]zongertinib (1 µmol/L) in Caco-2 cells in the absence or presence of 0.25%, 0.5%, 1%, and 2% bovine serum albumin (BSA). |

| BSA (%) | Direction | $C_{t0}$ (µmol/L) | $P_{app}$ ($\times 10^{-6}$ cm/sec) | | Efflux ratio | | Mean recovery (% of $Q_{Dt-30}$) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Mean | SD | Mean | SD | $Q_{tot}$ | $Q_{Dtn}$ | $Q_{tp}$ | $Q_{mem}$ | $Q_{plate}$ | $Q_{Dsampling}$ |
| 0 | A to B | 0.247 | 15.8 | 1.28 | 1.28 | 0.143 | 109 | 34.4 | 8.50 | 34.8 | 12.0 | 19.1 |
| | B to A | 0.351 | 20.2 | 1.55 | | | 92.7 | 46.7 | 3.06 | 16.3 | 21.1 | 5.53 |
| 0.25 | A to B | 0.536 | 12.1 | 1.09 | 1.10 | 0.169 | 98.5 | 46.7 | 7.73 | 19.8 | 3.36 | 20.9 |
| | B to A | 0.681 | 13.3 | 1.65 | | | 92.0 | 67.9 | 2.50 | 7.80 | 7.59 | 6.18 |
| 0.5 | A to B | 0.577 | 11.0 | 1.84 | 1.19 | 0.222 | 100 | 53.4 | 7.23 | 14.7 | 3.21 | 21.6 |
| | B to A | 0.698 | 13.1 | 1.09 | | | 94.1 | 74.7 | 2.54 | 5.37 | 5.28 | 6.22 |
| 1 | A to B | 0.655 | 9.79 | 2.81 | 1.65 | 0.493 | 99.3 | 59.7 | 6.74 | 8.48 | 2.48 | 21.9 |
| | B to A | 0.685 | 16.2 | 1.29 | | | 92.4 | 75.6 | 3.11 | 3.69 | 3.77 | 6.22 |
| 2 | A to B | 0.650 | 4.51 | 0.490 | 2.46 | 0.273 | 89.4 | 57.8 | 3.44 | 4.35 | 1.71 | 22.1 |
| | B to A | 0.770 | 11.1 | 0.250 | | | 97.9 | 84.7 | 2.39 | 2.14 | 2.29 | 6.36 |

$C_{t0}$: initial radioactivity concentration in the donor compartment at start of transport experiment ($t_0$)
SD: standard deviation
$Q_{tot}$: total recovery of compound (%)
$Q_{tp}$: total amount of compound transported during the entire time interval of the transport experiment (%)
$Q_{Dtn}$: total amount of compound remaining in the donor compartment at time $t_n$ (%)
$Q_{mem}$: total amount of compound retained in the cells at time $t_n$ (%)
$Q_{plate}$: total amount of compound adsorbed to the well at time $t_n$ (%)
$Q_{Dsampling}$: total amount of compound disappeared from the transport experiment for radioactivity measurement at sampling points (%)

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

Additional Information:
Nonspecific binding of [$^{14}$C]zongertinib to the filter membrane and plate ($Q_{mem}$+ $Q_{plate}$) decreased with increasing BSA concentrations.
The directional transport of zongertinib, i.e., with an ER value slightly >2, was observed only in the presence of 2% BSA. No directional transport of zongertinib was observed in the absence of BSA or in the presence of ≤1% BSA.
The measured apparent zongertinib apical-to basolateral permeability was higher in the absence of BSA. In the absence of BSA the Papp was $15.8\times10^{-6}$ cm/s, while in the presence of 2% BSA the Papp was $4.51\times10^{-6}$ cm/s.
Taken together, active efflux transport of zongertinib by P-gp and BCRP may occur. However, the impact of zongertinib transport by P-gp and BCRP may not be significant, as evidenced by the small ER in the presence of 2% BSA, lack of directional transport when the BSA level is ≤1%, and the high permeability in the absence of BSA.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 15B 薬物トランスポーターの基質認識性（OATP1B1 及び OATP1B3）

被験物質： [$^{14}$C]ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.6-01（n00282184）

| | |
|---|---|
| Study system: | HEK293 cells transfected with cDNA of either OATP1B1 or OATP1B3 |
| Method: | Uptake of [$^{14}$C]zongertinib (0.5 µmol/L) into HEK293 cells expressing OATP1B1 or OATP1B3 vs. HEK293 cells transfected with vector-controls was investigated in the presence of 4% BSA. |

| Ratio of [$^{14}$C]zongertinib (0.5 µmol/L) uptake in HEK293 cells expressing OATP1B1 or OATP1B3 to uptake in vector control cells | | |
|---|---|---|
| Incubation time (min) | OATP1B1 uptake ratio | OATP1B3 uptake ratio |
| 0.5 | 1.25±0.191 | 1.25±0.160 |
| 2 | 1.06±0.111 | 1.10±0.0754 |
| 5 | 1.04±0.0941 | 1.32±0.131 |
| 10 | 0.922±0.0885 | 1.26±0.139 |
| 20 | 0.966±0.0673 | 1.15±0.0943 |
| 5 (+rifampicin) | 1.03±0.129 | 1.04±0.0748 |
| Data are represented as the mean±standard deviation (n=3). | | |
| Additional Information:<br>Uptake of zongertinib in OATP1B1- or OATP1B3-expressing HEK293 cells was not substantially higher than uptake in vector controls with uptake ratios <2 at all timepoints. Also, addition of the OATP inhibitor rifampicin did not substantially reduce zongertinib uptake.<br>These findings demonstrate that zongertinib is not a substrate of OATP1B1 or OATP1B3. | | |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 15C 薬物トランスポーターの阻害

被験物質： ゾンゲルチニブ
資料番号（社内報告書番号）： CTD 4.2.2.6-01（n00282184），CTD 4.2.2.6-02（n00280781）

| | |
|---|---|
| Study systems: | Caco-2 cell monolayers (endogenously co-expressing P-gp and BCRP), and HEK293 cells transfected with cDNA of OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, MATE1, or MATE2-K |
| Method: | Transcellular transport of P-gp and BCRP probe substrates across Caco-2 cell monolayers and uptake of probe substrates of OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, MATE1, or MATE2-K into HEK293 cells expressing the corresponding transporters were evaluated in the absence or presence of increasing zongertinib concentrations up to 5 µmol/L. No BSA was added to the media for inhibition assays.<br>Due to high non-specific binding of zongertinib, zongertinib recovery was measured in these incubations to estimate the actual incubation concentrations in the media for accurate determination of $IC_{50}$ values. Recovery of zongertinib in the Caco-2 cells averaged 36.2% in the apical to basolateral direction and 47.5% in the basolateral to apical direction. Recovery of zongertinib in HEK293 cell systems expressing OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, and OCT2 averaged 31.3%. Recovery of zongertinib in the HEK293 cells expressing MATE1 and MATE2-K averaged 59%. Zongertinib nominal concentrations were fitted to curves to calculate the $IC_{50}$ values, and normalized $IC_{50}$ values were obtained by multiplying nominal $IC_{50}$ values by the recovery values. |

| Transporter | Probe Substrate (µmol/L) | Inhibition | | | Document No. |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Normalized $IC_{50}$ (µmol/L) [a] | Threshold $C_{max,ss}$ (µmol/L) [b] | Threshold Dose (mg) [c] | |
| P-gp | Digoxin (1) | 0.14 | 0.28 | 0.18 | CTD 4.2.2.6-01_n00282184 |
| BCRP | Estrone 3-sulfate (10) | 0.080 | 0.16 | 0.10 | CTD 4.2.2.6-01_n00282184 |
| OATP1B1 | Rosuvastatin (0.1) | 0.18 | Possible [d] | NA [e] | CTD 4.2.2.6-01_n00282184 |
| OATP1B3 | Rosuvastatin (0.1) | 0.094 | Possible [d] | NA [e] | CTD 4.2.2.6-01_n00282184 |
| OAT1 | Acyclovir (0.05) | >1.6 [f] | ≥16 [g] | NA [e] | CTD 4.2.2.6-01_n00282184 |
| OAT3 | Estrone 3-sulfate (0.1) | >1.6 [f] | ≥16 [g] | NA [e] | CTD 4.2.2.6-01_n00282184 |
| OCT2 | Metformin (10) | >1.6 [f] | ≥16 [g] | NA [e] | CTD 4.2.2.6-01_n00282184 |
| MATE1 | Metformin (5) | 0.74 | 1.48 [h] | NA [e] | CTD 4.2.2.6-02_n00280781 |
| MATE2-K | Metformin (10) | 0.60 | 1.19 [h] | NA [e] | CTD 4.2.2.6-02_n00280781 |

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

| | |
|---|---|
| a | Normalized $IC_{50}$ values were determined based on recovered medium concentrations (not nominal concentrations) |
| b | Threshold plasma total $C_{max,ss}$ value for inhibition of systemic transporters |
| c | Threshold dose value for inhibition of gastrointestinal transporters |
| d | Clinically relevant inhibition of OATP1B1 and OATP1B3 by zongertinib is predicted possible based on the estimated portal vein concentration at a 120 mg QD dose ($C_{max,ss}$=3.18 μmol/L). |
| e | Not applicable, as these transporters are not expressed or relevant in the gastro-intestinal tract |
| f | Zongertinib did not cause >50% inhibition of OAT1, OAT3, or OCT2 up to the highest test concentrations of 1.6 μmol/L (measured), so $IC_{50}$ values were estimated to be >1.6 μmol/L. |
| g | According to the FDA, MHLW, and ICH DDI criteria, inhibition of these transporters is considered unlikely when $C_{max,ss}$<16 μmol/L. However, solely according to the EMA DDI criteria only, inhibition of OAT1, OAT3, and OCT2 by zongertinib is considered possible when zongertinib $C_{max,ss}$>3.2 μmol/L. |
| h | Threshold values shown are according to ICH, MHLW, and EMA criteria. However, according to the FDA DDI criteria, inhibition of these transporters is considered unlikely when $C_{max,ss}$ < 7.4 μmol/L for MATE1 and $C_{max,ss}$<6.0 μmol/L for MATE2-K. |

Additional Information:

According to FDA, EMA, MHLW, and ICH DDI criteria, clinically relevant inhibition of P-gp, BCRP, OATP1B1, and OATP1B3 by zongertinib is predicted to be possible at a dose of 120 mg QD ($C_{max,ss}$ =3.18 μmol/L).

According to EMA, MHLW, and ICH DDI criteria, clinically relevant inhibition of MATE1 and MAET2-K by zongertinib is predicted to be possible at a dose of 120 mg QD ($C_{max,ss}$ =3.18 μmol/L). However, according to the FDA DDI criteria, inhibition of MATE1 or MATE2-K is considered as unlikely when zongertinib $C_{max,ss}$<7.4 μmol/L for MATE1 and $C_{max,ss}$<6.0 μmol/L for MATE2-K.

According to the FDA, MHLW, and ICH DDI criteria, inhibition of these transporters by zongertinib is considered as unlikely when zongertinib $C_{max,ss}\leq$16 μmol/L. However, according to the EMA DDI criteria only, inhibition of OAT1, OAT3, and OCT2 by zongertinib is predicted possible at 120 mg QD dose ($C_{max,ss}$ =3.18 μmol/L).

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

## 16. 薬物動態試験：その他

該当する試験はない。