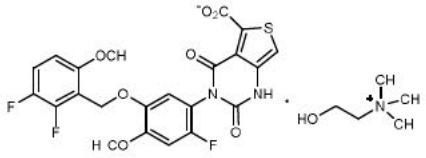
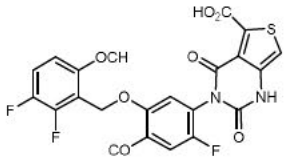
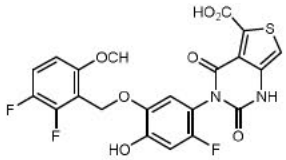
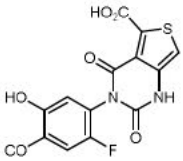
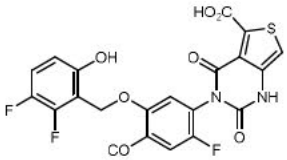
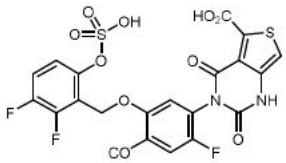
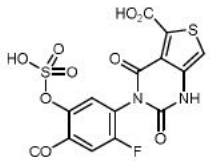
目次

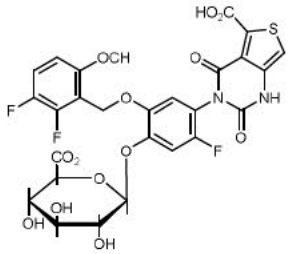
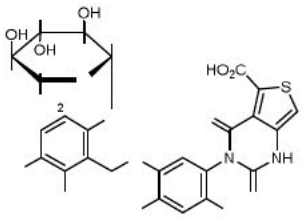
2.6.4 薬物動態試験の概要文 7
2.6.4.1 まとめ 7
2.6.4.1.1 吸収 8
2.6.4.1.2 分布 9
2.6.4.1.3 代謝 9
2.6.4.1.4 排泄 9
2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用 10
2.6.4.2 分析法 10
2.6.4.2.1 標識体 10
2.6.4.2.2 非標識体 11
2.6.4.2.2.1 ヒト胆汁中 KLH-2109 濃度分析法バリデーション 11
2.6.4.2.2.2 マウス血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション 12
2.6.4.2.2.3 マウス血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション 12
2.6.4.2.2.4 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びに血漿ろ液中 KLH-2109 濃度分析法バリデーション 13
2.6.4.2.2.5 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びに血漿ろ液中 KP017 濃度分析法バリデーション 13
2.6.4.2.2.6 ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション 14
2.6.4.2.2.7 ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション 15
2.6.4.2.2.8 ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション 15
2.6.4.2.2.9 ウサギ血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション 16
2.6.4.2.2.10 イヌ血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション 16
2.6.4.2.2.11 サル血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション 16
2.6.4.2.2.12 サル血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション 17
2.6.4.3 吸収 17
2.6.4.3.1 単回投与 17
2.6.4.3.1.1 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口及び単回静脈内投与したときの血漿中放射能濃度推移 17
2.6.4.3.1.2 ラットに KLH-2109 コリン塩を単回経口及び単回静脈内投与したときの血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度推移 18
2.6.4.3.1.3 サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口及び単回静脈内投与したときの血漿中放射能、KLH-2109 及び KP017 濃度推移 19
2.6.4.3.2 反復投与（トキシコキネティクス） 20
2.6.4.3.2.1 マウス反復経口投与試験 20
2.6.4.3.2.2 ラット反復経口投与試験 20
2.6.4.3.2.3 イヌ反復経口投与試験 21
2.6.4.3.2.4 サル反復経口投与試験 22
2.6.4.3.3 その他吸収試験 23
2.6.4.3.3.1 ラット消化管ループにおける[^{14}C]KLH-2109 コリン塩の吸収部位 23

2.6.4.4 分布 24
2.6.4.4.1 組織分布試験 24
2.6.4.4.1.1 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの組織中放射能分布 24
2.6.4.4.1.2 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの全身オートラジオグラフィー 24
2.6.4.4.1.3 有色ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときのメラニン含有組織における放射能分布 29
2.6.4.4.1.4 有色ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの組織中放射能分布 29
2.6.4.4.2 蛋白結合 29
2.6.4.4.2.1 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおける[^{14}C]KLH-2109 の血漿蛋白結合（*in vitro*） 29
2.6.4.4.2.2 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおける KLH-2109 の血漿蛋白結合（*in vitro*） 30
2.6.4.4.2.3 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおける KP017 の血漿蛋白結合（*in vitro*） 30
2.6.4.4.3 血球への移行 30
2.6.4.4.3.1 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおける[^{14}C]KLH-2109 の血球移行性（*in vitro*） 30
2.6.4.4.4 胎盤通過試験 31
2.6.4.4.4.1 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの胎盤通過性 31
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） 31
2.6.4.5.1 代謝経路 31
2.6.4.5.2 *In vivo* 代謝試験 32
2.6.4.5.2.1 マウスにおける代謝物プロファイル 32
2.6.4.5.2.2 ラットにおける代謝物プロファイル 33
2.6.4.5.2.3 サルにおける代謝物プロファイル 33
2.6.4.5.3 *In vitro* 代謝試験 34
2.6.4.5.3.1 マウス、ラット、サル及びヒトの凍結肝細胞を用いた[^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* 代謝試験 34
2.6.4.5.3.2 ヒト肝ミクロソームを用いた[^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* 代謝試験 35
2.6.4.5.3.3 KLH-2109 の酸化代謝物生成に関与する CYP 分子種の推定 35
2.6.4.5.3.4 KLH-2109 の代謝経路への CYP 分子種の寄与 36
2.6.4.6 排泄 38
2.6.4.6.1 尿、糞及び胆汁中排泄 38
2.6.4.6.1.1 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの尿、糞及び胆汁中排泄 38
2.6.4.6.1.2 サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの尿及び糞中排泄 38
2.6.4.6.1.3 ラットにおける[^{14}C]KLH-2109 コリン塩の腸肝循環 39
2.6.4.6.2 乳汁移行 39

2.6.4.6.2.1 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの乳汁移行性 39
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 39
2.6.4.7.1 血漿蛋白結合に対する相互作用 39
2.6.4.7.1.1 [^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* 血漿蛋白結合に及ぼす薬物の影響 39
2.6.4.7.1.2 薬物の *in vitro* 血漿蛋白結合に及ぼす KLH-2109 の影響 40
2.6.4.7.2 CYP に対する相互作用 41
2.6.4.7.3 凍結ヒト肝細胞を用いた KLH-2109 の酵素誘導 41
2.6.4.7.4 ヒト CYP 活性に及ぼす KLH-2109 の影響 42
2.6.4.7.5 CYP2C8 活性に対する KLH-2109 の K_I 及び k_{inact} の算出 43
2.6.4.7.6 薬物トランスポーターに対する相互作用 43
2.6.4.7.6.1 P-gp を介したジゴキシン輸送に及ぼす KLH-2109 の影響 43
2.6.4.7.6.2 BCRP を介したエストロン 3-サルフェート輸送に及ぼす KLH-2109 の影響 43
2.6.4.7.6.3 KLH-2109 の BSEP 輸送活性に及ぼす影響 43
2.6.4.7.6.4 KLH-2109 の OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K 輸送活性に及ぼす影響 44
2.6.4.7.6.5 KLH-2109 が薬物トランスポーターの基質となる可能性の評価 45
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 46
2.6.4.9 考察及び結論 46
2.6.4.10 図表 49

化合物一覧

略号・一般名	化学名	構造式	由来
KLH-2109 コリン塩 (KLH-2109 Choline) リンザゴリクスコリン (Linzagolix Choline)	2-Hydroxy-*N*,*N*,*N*-trimethylethanaminium 3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylate		原薬
KLH-2109	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		原薬のフリー体 (未変化体)
KP017	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-hydroxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP018	3-(2-fluoro-5-hydroxy-4-methoxyphenyl)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP046	3-{5-[(2,3-difluoro-6-hydroxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP048	3-(5-{[2,3-difluoro-6-(sulfooxy)phenyl]methoxy}-2-fluoro-4-methoxyphenyl)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP049	3-[2-fluoro-4-methoxy-5-(sulfooxy)phenyl]-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物

略号・一般名	化学名	構造式	由来
KP050	4-(5-carboxy-2,4-dioxo-1,2-dihydrothieno[3,4-*d*]pyrimidin-3(4*H*)-yl)-2-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-5-fluorophenyl β-D-glucopyranosiduronic acid		代謝物
KP143	2-{[5-(5-carboxy-2,4-dioxo-1,2-dihydrothieno[3,4-*d*]pyrimidin-3(4*H*)-yl)-4-fluoro-2-methoxyphenoxy]methyl}-3,4-difluorophenyl β-D-glucopyranosiduronic acid		代謝物

略号一覧

略号	略していない表現	内容
[^{14}C]	Carbon 14 labeled	炭素 14 標識
[^{3}H]	Tritium labeled	トリチウム標識
ABzT	1-Aminobenzotriazole	1-アミノベンゾトリアゾール
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24}$	Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours	0～24 時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	Area under the concentration-time curve from time 0 to infinity	0～無限大時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	Area under the concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration	投与後 0 時間から最終定量可能時間までの濃度-時間曲線下面積
BA	Bioavailability	バイオアベイラビリティ
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳がん耐性蛋白質
BSEP	Bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
Caco-2	human colon adenocarcinoma cell lines	ヒト結腸がん由来の細胞株
CL_{tot}	Total body clearance	全身クリアランス
C_{max}	Maximum concentration	最高濃度
CV	Coefficient of variation	変動係数
CYP	Cytochrome P450	シトクロム P450
eq.	equivalent	当量
F	Female	雌
HLM	Human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフ法
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
K_I	Inhibition constant	阻害定数（k_{inact} が 50%となる濃度）
k_{inact}	Maximal inactivation rate constant	最大不活性化速度定数
k_{obs}	Inactivation rate constant	不活性化速度定数
LC-MS/MS	Liquid chromatography/tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析法
LE	Long Evans	—
LSC	Liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数法
M	Male	雄
m/z	Mass to charge ratio	質量電荷比
MATE	Multidrug and toxin extrusion	多剤及び毒素排出
MRT	Mean residence time	平均滞留時間
NADPH	β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-Phosphate reduced	還元型 β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド 2'-リン酸

略号	略していない表現	内容
NFR	Net flux ratio	正味の透過性比
NSAID	Non-steroidal anti-inflammatory drugs	非ステロイド性抗炎症薬
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
$P_{A/B}$	Apparent permeability of apical side to basolateral side	頂端膜側から側底膜への見かけの透過係数
P_{app}	Apparent permeability coefficient	見かけの透過係数
$P_{B/A}$	Apparent permeability of basolateral side to apical side	側底膜から頂端膜側への見かけの透過係数
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
SD	Sprague-Dawley	—
SLC	Solute carrier	—
$t_{1/2}$	half-life	半減期
T_{max}	Time of maximum concentration	最大濃度到達時間
UR	Uptake ratio	取込み比
Vd_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態の分布容積
V_Z/F	Apparent volume of distribution during terminal phase after oral administration	経口投与時の終末相における見かけの分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

KLH-2109 の吸収、分布、代謝、排泄及び薬物動態学的薬物相互作用について、KLH-2109 コリン塩及び炭素 14 標識体である[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を用いて *in vivo* 及び *in vitro* 試験にて検討した（表 2.6.4.1-1）。なお、必要に応じて、[^{14}C]KLH-2109 コリン塩は KLH-2109 コリン塩と混和して試験に用いた。また、投与量及び濃度はすべて、フリー体（KLH-2109）換算値で示した。

In vivo 試験の動物種は、安全性薬理試験及び毒性試験で使用された主要評価種であるマウス（CD-1 系）、ラット（SD 系、Wistar 系及び LE 系）、イヌ（ビーグル）及びサル（カニクイ）とした。投与経路は主に経口投与とし、薬物動態試験においては食餌の影響及び乳汁移行の検討を除き、絶食下にて投与した。静脈内投与時の薬物動態パラメータ及び BA を求めるために静脈内投与も実施した。KLH-2109 コリン塩及び[^{14}C]KLH-2109 コリン塩の投与媒体として、経口投与では 0.5%メチルセルロース溶液を、静脈内投与では生理食塩水を使用した。

In vitro 試験として、KLH-2109 のヒト血漿蛋白質への結合、代謝、CYP 又は薬物トランスポーターが関与する薬物相互作用を評価した。

血漿中 KLH-2109 及びその主要代謝物である KP017 濃度は、LC-MS/MS を用いたバリデートされた分析法により測定した。[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を用いた試験では、試料中の放射能濃度は LSC を用いて測定した。なお、必要に応じてサンプルオキシダイザーを用いて燃焼処理した。また、[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を用いた代謝試験では、代謝物は放射能検出器付き HPLC を用いて分析し、さらに必要に応じて LC-MS/MS を用いて構造推定を行った。

表 2.6.4.1-1　　KLH-2109 の非臨床薬物動態試験

試験の種類	試験系	投与方法	投与量又は濃度 [a)]	添付資料
吸収				
単回投与（標識体）	ラット	経口 静脈内	1, 3, 10 及び 30 mg/kg 3 mg/kg	4.2.2.2.1
単回投与	ラット	経口 静脈内	1, 3, 10 及び 30 mg/kg 3 mg/kg	4.2.2.2.2
単回投与（標識体）	サル	経口 静脈内	3 mg/kg 3 mg/kg	4.2.2.2.3
13 週間反復投与試験	マウス	経口	40, 750 及び 1500 mg/kg/日	4.2.3.2.8
4 週間反復投与試験	ラット	経口	20, 200 及び 2000 mg/kg/日	4.2.3.2.1 4.2.3.2.2
13 週間反復投与試験	ラット	経口	50, 150, 500 及び 1500 mg/kg/日	4.2.3.2.3
26 週間反復投与試験	ラット	経口	50, 200 及び 1000 mg/kg/日	4.2.3.2.4
2 週間反復投与試験	イヌ	経口	10, 100 及び 1000 mg/kg/日	4.2.3.2.9
4 週間反復投与試験	イヌ	経口	10, 100 及び 1000 mg/kg/日	4.2.3.2.10
4 週間反復投与試験	サル	経口	10, 100 及び 1000 mg/kg/日	4.2.3.2.5
13 週間反復投与試験	サル	経口	10, 100 及び 1000 mg/kg/日	4.2.3.2.6
39 週間反復投与試験	サル	経口	10, 100 及び 1000 mg/kg/日	4.2.3.2.7
消化管吸収部位（標識体）	ラット	消化管ループ内	3 mg/kg	4.2.2.2.4
分布				
組織分布（組織摘出法）（標識体）	ラット	経口	3 mg/kg	4.2.2.3.1
全身オートラジオグラフィー（標識体）	ラット	経口	3 mg/kg	4.2.2.3.2
組織分布（組織摘出法）（標識体）	有色ラット	経口	3 mg/kg	4.2.2.3.3
組織分布（QWBA）（標識体）	有色ラット	経口	3 mg/kg	4.2.2.3.4
血漿蛋白結合及び結合蛋白種（標識体）	*In vitro*		5, 20 及び 100 µg/mL	4.2.2.3.5
血漿蛋白結合	*In vitro*		5, 20 及び 100 µg/mL	4.2.2.3.6
KP017 の血漿蛋白結合	*In vitro*		1, 2.5 及び 5 µg/mL	4.2.2.3.7
血球移行性（標識体）	*In vitro*		5, 20 及び 100 µg/mL	4.2.2.3.9 4.2.2.3.10

試験の種類	試験系	投与方法	投与量又は濃度 a)	添付資料
胎盤通過性（QWBA）（標識体）	妊娠ラット（妊娠 13 日目）	経口	3 mg/kg	4.2.2.3.2
胎盤通過性（組織摘出法）（標識体）	妊娠ラット（妊娠 17 日目）	経口	3 mg/kg	4.2.2.3.8
代謝				
生体試料中代謝物（血漿、尿、糞、胆汁、肝臓及び腎臓）（標識体）	マウス	経口	3 mg/kg	4.2.2.4.1
生体試料中代謝物（血漿、尿、糞、胆汁、肝臓、腎臓、下垂体、子宮及び卵巣）（標識体）	ラット	経口	3 mg/kg	4.2.2.4.2
生体試料中代謝物（血漿、尿及び糞）（標識体）	サル	経口	3 mg/kg	4.2.2.4.3
凍結肝細胞を用いた代謝（標識体）	*In vitro*		100 µmol/L	4.2.2.4.4
HLM を用いた代謝（標識体）	*In vitro*		30 µmol/L	4.2.2.4.5
ヒト CYP 分子種の推定（標識体）	*In vitro*		30 µmol/L	4.2.2.4.6
ヒト CYP 分子種寄与率の推定	*In vitro*		1.6, 3.1, 6.3, 13, 25 及び 50 µmol/L（*in vitro* 固有 CL の算出） 3 µmol/L（KP017 及び KP046 生成阻害）	4.2.2.4.7 4.2.2.4.8 4.2.2.4.9 4.2.2.4.10
排泄				
尿及び糞中排泄（標識体）	ラット	経口	3 mg/kg	4.2.2.5.1
尿及び糞中排泄（標識体）	サル	経口	3 mg/kg	4.2.2.2.3
胆汁中排泄（標識体）	ラット b)	経口	3 mg/kg	4.2.2.5.1
腸肝循環（標識体）	ラット b)	経口及び十二指腸内	3 mg/kg	4.2.2.5.2
乳汁移行性（標識体）	哺育ラット（分娩後 8～9 日）	経口	3 mg/kg	4.2.2.5.3
薬物動態学的薬物相互作用				
血漿蛋白結合に及ぼす各種薬物の影響	*In vitro*		20 µg/mL	4.2.2.6.1
各種薬物の血漿蛋白結合に及ぼす影響	*In vitro*		20 及び 100 µg/mL	4.2.2.6.2 4.2.2.6.3
凍結ヒト肝細胞を用いた酵素誘導	*In vitro*		6, 30 及び 150 µmol/L	4.2.2.6.4
ヒト CYP 活性に及ぼす影響	*In vitro*		30 及び 100 µmol/L（IC_{50} 値算出時：0.3, 1, 3, 10, 30 及び 100 µmol/L）	4.2.2.6.5
CYP2C8 活性の時間依存的阻害	*In vitro*		5, 10, 20, 30 及び 40 µmol/L	4.2.2.6.6
P-gp 輸送活性に及ぼす影響	*In vitro*		30, 100 及び 300 µmol/L	4.2.2.6.7
BCRP 輸送活性に及ぼす影響	*In vitro*		3, 10, 30, 100 及び 300 µmol/L	4.2.2.6.10
BSEP 輸送活性に及ぼす影響	*In vitro*		0.34, 1.03, 3.09, 9.26, 27.78, 83.33 及び 250.00 µmol/L	4.2.2.6.8
SLC トランスポーター（OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 及び MATE2-K）輸送活性に及ぼす影響	*In vitro*		0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 及び 100 µmol/L	4.2.2.6.9 4.2.2.6.10
P-gp 及び BCRP 基質性評価（標識体）	*In vitro*		10, 30, 100 及び 300 µmol/L	4.2.2.6.10
SLC トランスポーター（OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 及び MATE2-K）基質性評価（標識体）	*In vitro*		10 及び 30 µmol/L	4.2.2.6.10

a) 投与量又は濃度は KLH-2109 換算値として表記した。
b) 胆管カニューレ処置したラット

2.6.4.1.1 吸収

ラット及びサルに KLH-2109 コリン塩（それぞれ 1～30 mg/kg 及び 3 mg/kg）を単回経口投与したとき、KLH-2109 は速やかに吸収され、血漿中 KLH-2109 濃度はそれぞれ投与後 1.5 及び 2 時間以内に C_{max} に達した。その後、緩やかに消失し、$t_{1/2}$ はラットでは 9.9～14.3 時間、サルでは 7.4 時間であった。ラットにおいて KLH-2109 の C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$はほぼ投与量に比例して増加した。ラット及びサルにおける BA はいずれも 80%以上と良好であった。また、KLH-2109 はラット消化管の広範囲より吸収され、特に十二指腸及び空腸からの吸収が良好であった。

KLH-2109 コリン塩を、マウスに 13 週間（40～1500 mg/kg/日）、ラットに 4 週間（20～

2000 mg/kg/日）、13 週間（50～1500 mg/kg/日）及び 26 週間（50～1000 mg/kg/日）、イヌに 2 及び 4 週間（10～1000 mg/kg/日）、並びにサルに 4、13 及び 39 週間（10～1000 mg/kg/日）反復経口投与したとき、血漿中 KLH-2109 濃度の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は投与量の増加に伴い増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。また、顕著な性差は認められなかった。

2.6.4.1.2 分布

KLH-2109 は血漿蛋白結合率（94%以上）が高く、血球移行率は低かった。ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、放射能は速やか、かつ広範に組織へ分布したが、中枢神経系を含め組織への移行性は低く、組織への残留性は認められなかった。有色ラットのメラニン含有組織にも残留性は認められず、さらに妊娠ラットにおいても同様な組織分布が認められた。組織中放射能は、血漿中放射能の消失に伴って消失した。母動物に比べ胎児中の放射能濃度が緩やかに上昇したことから、KLH-2109 及びその代謝物は胎盤を通過し、緩やかに胎児に分布すると考えられた。

2.6.4.1.3 代謝

マウス、ラット及びサルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、いずれの動物種においても血漿中には主に KLH-2109 が存在し、ラットでは作用部位である下垂体においても主に KLH-2109 が認められた。その他生体試料を含め主要な代謝物として、マウス及びサルでは KP017（*O*-脱メチル体）、KP018（*O*-脱アルキル体）及び KP046（*O*-脱メチル体）が認められた。また、マウスでは、KP049（KP018 の硫酸抱合体）、KP050（KP017 のグルクロン酸抱合体）及び KP143（KP046 のグルクロン酸抱合体：M2）も認められた。ラットでは KP018 及び KP048（KP046 の硫酸抱合体）が認められ、KP017 もわずかに認められた。マウスにおける KLH-2109 の代謝経路は、主に KP017 及び KP046 への *O*-脱メチル化とそれに続く KP050 及び KP143 へのグルクロン酸抱合化、並びに KP018 への *O*-脱アルキル化とそれに続く KP049 への硫酸抱合化と考えられた。ラットにおける主要代謝経路は、KP018 への *O*-脱アルキル化、並びに KP046 への *O*-脱メチル化とそれに続く KP048 への硫酸抱合化と考えられた。サルにおける代謝経路は、主に KP017 及び KP046 への *O*-脱メチル化、並びに KP018 への *O*-脱アルキル化と考えられた。

ヒト肝細胞では KP017 と KP050 が生成された。また、ヒト肝ミクロソームでは、NADPH 存在下で KP017、KP018 及び KP046 が生成され、KP017 は主に CYP2C9 により、KP046 は主に CYP2C8、2C9 及び 3A4 により生成されると考えられた。KP018 は、CYP により生成されるとともに、生理的 pH 条件下における KP046 からの非酵素的な生成が認められた。KLH-2109 は CYP により代謝され、主に CYP2C8、2C9 及び 3A4 が関与し、寄与率はそれぞれ 9.0%、24.7%及び 1.3%と推定された。

2.6.4.1.4 排泄

ラット及びサルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、投与放射能の約 70%が糞中に排泄された。また、胆管カニューレ処置したラットでは、投与放射能の約 87%が吸収され、約 58%が胆汁中に排泄されたことから、KLH-2109 の主要な排泄経路は、胆汁を介した糞中排泄と考えられた。胆汁中では主に KLH-2109 として存在し、かつ胆汁中に排泄された放射能の約 80%が再吸収されたことから、KLH-2109 は腸肝循環すると考えられた。

哺育ラットでは、血漿中の放射能が乳汁中に移行した。

2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用

血漿蛋白結合に起因して薬物相互作用が生じる可能性について検討した結果、臨床で併用の可能性がある NSAID は KLH-2109 の血漿蛋白結合に影響を及ぼさなかった。また、KLH-2109 はそれら薬物の血漿蛋白結合に影響を及ぼさなかった。

KLH-2109 は高濃度（150 μmol/L）で CYP3A4/5 活性の誘導能を示し、CYP2C8 活性に対する可逆的阻害作用（IC_{50} 値：2.89 μmol/L）及び時間依存的阻害作用（K_I：3.34 μmol/L、k_{inact}：0.00639 min^{-1}）を示した。

主要な薬物トランスポーターに関して、KLH-2109 は OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3 の基質であり、OATP1B1 及び OAT3 を介した基質輸送に対して阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 11.2 及び 0.964 μmol/L であった。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 標識体

[^{14}C]KLH-2109 コリン塩は、[redacted]にて合成した。また、放射化学的純度が低下した標識体を[redacted]にて精製した。[^{14}C]KLH-2109 コリンの構造式及び標識位置を図 2.6.4.2.1-1 に示す。

[^{14}C]KLH-2109 コリン塩は、ラット及びサルの薬物動態試験、血漿蛋白結合試験、血球移行性試験、*in vitro* 及び *in vivo* の代謝試験並びに薬物トランスポーター試験に使用した。なお、[^{14}C]KLH-2109 コリン塩は必要に応じて KLH-2109 コリン塩と混和して使用した。[^{14}C]KLH-2109 コリン塩は放射化学的純度 95%以上のものを使用し、比放射能及び放射化学的純度を表 2.6.4.2.1-1 に示した。

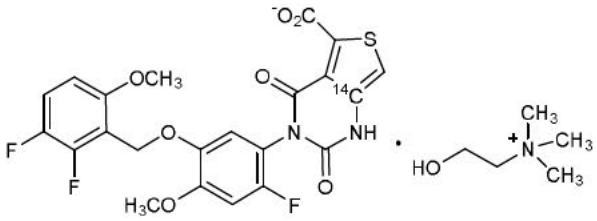


図 2.6.4.2.1-1　　[^{14}C]KLH-2109 コリン塩の構造式及び標識位置

表 2.6.4.2.1-1　　薬物動態試験に用いた[^{14}C]KLH-2109 コリン塩

ロット番号	比放射能（MBq/mg）	放射化学的純度（%）[a]	合成又は精製場所
[redacted]	3.34	99.2	[redacted]
[redacted]	3.30	99.4	[redacted]

[a] 合成又は精製時の放射化学的純度

ラット及びサルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を投与したときの組織及び糞中放射能は、試料を組織溶解剤にて溶解又はサンプルオキシダイザーによる燃焼後、シンチレーターを加えて LSC により測定した。血漿、尿及び胆汁中放射能は、試料に直接シンチレーターを加えて LSC により測定した。[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を経口投与したときの組織分布は、組織摘出法又は QWBA にて評価した。試料中放射能濃度は、[^{14}C]KLH-2109 eq.量として表示した。血漿、尿、

糞、胆汁及び組織中の代謝物分析は、試料を有機溶媒で除蛋白処理して上清を濃縮乾固させた後、再溶解した試料を HPLC で分離しフローシンチレーションアナライザー又は質量分析器により分析した。

2.6.4.2.2 非標識体

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルにおける生体試料中 KLH-2109 及び/又は主要代謝物である KP017 濃度は、LC-MS/MS により測定した。内標準物質として、安定同位体標識の KLH-2109 及び KP017 を使用した。非臨床試験における生体試料中濃度分析法を表 2.6.4.2.2-1 に示す。

表 2.6.4.2.2-1　生体試料中濃度分析法のバリデーション試験及びその測定法を用いた非臨床試験の一覧

生体試料中濃度分析法のバリデーション試験			非臨床試験	
試験の種類	試験番号	添付資料	試験番号	添付資料
ヒト胆汁中 KLH-2109 濃度分析法バリデーション	52191	4.2.2.1.1	32061	4.2.3.7.3.3
マウス血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション	51212	4.2.2.1.2	52167 [redacted]	4.2.3.7.3.2 4.2.3.2.8
マウス血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション	[redacted]	4.2.2.1.3	[redacted]	4.2.3.4.2.1 4.2.3.4.2.2
マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びに血漿ろ液中 KLH-2109 濃度分析法バリデーション	DMPK[redacted]-0058	4.2.2.1.4	DMPK[redacted]-0065	4.2.2.3.6
マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びに血漿ろ液中 KP017 濃度分析法バリデーション	DMPK[redacted]-0010	4.2.2.1.5	DMPK[redacted]-0011	4.2.2.3.7
ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション	51186 51191	4.2.2.1.6 4.2.2.1.7	11070 51210 11076 11090 11093 11071 11073 [redacted]	4.2.3.1.1 4.2.3.2.2 4.2.3.2.1 4.2.3.2.3 4.2.3.2.4 4.2.3.5.1.2 4.2.3.5.2.2 4.2.3.7.7.2
ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション	[redacted]	4.2.2.1.8	[redacted]	4.2.3.4.1.1
ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション	DMPK[redacted]-0022	4.2.2.1.9	DMPK[redacted]-0036	4.2.2.2.2
ウサギ血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション	51185	4.2.2.1.10	11074	4.2.3.5.2.4
イヌ血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション	52058	4.2.2.1.11	[redacted]	4.2.3.1.3 4.2.3.2.9 4.2.3.2.10 4.2.3.7.3.1
サル血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション	51184	4.2.2.1.12	[redacted]	4.2.3.1.2 4.2.3.2.5 4.2.3.2.6 4.2.3.2.7 4.2.3.7.3.1
サル血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション	[redacted]	4.2.2.1.13	[redacted]	4.2.2.2.3

2.6.4.2.2.1 ヒト胆汁中 KLH-2109 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.1

ヒト胆汁中 KLH-2109 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.1-1 に示す。この分析法は毒性試験（32061）に使用された。

表 2.6.4.2.2.1-1　ヒト胆汁中 KLH-2109 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109
Lower limit of quantification (LLOQ):	150 µg/mL
Validated range:	150 to 30000 µg/mL
QC levels:	300, 15000, and 24000 µg/mL
Within-run precision (%CV):	1.0 to 2.5
Within-run accuracy (%Bias):	−0.9 to 1.0

2.6.4.2.2.2 マウス血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.2

マウス血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.2-1 に示す。この分析法は毒性試験（52167 及び[redacted]）に使用された。

表 2.6.4.2.2.2-1　マウス血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109	KP017
Lower limit of quantification (LLOQ):	20 ng/mL	2 ng/mL
Validated range:	20 to 100000 ng/mL	2 to 10000 ng/mL
QC levels:	50, 5000, and 80000 ng/mL	5, 500, and 8000 ng/mL
Dilution factor:	10- and 100-fold	10- and 100-fold
Within-run precision (%CV):	1.24 to 3.73	0.949 to 3.33
Between-run precision (%CV):	3.05 to 7.32	1.97 to 4.65
Within-run accuracy (%Bias):	−6.64 to 11.6	−2.08 to 6.44
Between-run accuracy (%Bias):	−2.28 to 9.44	0.0830 to 3.99
Stability in plasma:	2 and 3 freeze-thaw cycles Left at room temperature for 4 hours Stored in a freezer below –65°C for 14 and 31 days	
Processed extract stability:	Left in an autosampler (4°C) for at least 25 hours	

2.6.4.2.2.3 マウス血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.3

マウス血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.3-1 に示す。この分析法は毒性試験（[redacted] 及び[redacted]）に使用された。

表 2.6.4.2.2.3-1　マウス血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109	KP017
Lower limit of quantification (LLOQ):	200 ng/mL	20 ng/mL
Validated range:	200 to 100000 ng/mL	20.0 to 10000 ng/mL
QC levels:	200, 500, 5000, and 80000 ng/mL	20.0, 50.0, 500, and 8000 ng/mL
Dilution factor:	10- and 100-fold	10- and 100-fold
Within-run precision (%CV):	2.7 to 4.4 (ICR) and 3.0 to 6.5 (NonTg)	1.5 to 7.6 (ICR) and 3.4 to 7.9 (NonTg)
Between-run precision (%CV):	3.0 to 6.9 (ICR)	3.2 to 7.4 (ICR)
Within-run accuracy (%Bias):	−2.8 to 4.9 (ICR) and −5.0 to 1.2 (NonTg)	−5.5 to 9.7 (ICR) and −3.9 to 1.0 (NonTg)
Between-run accuracy (%Bias):	−0.9 to 2.5 (ICR)	0.7 to 7.6 (ICR)
Stability in plasma:	5 freeze-thaw cycles at −20°C and −80°C Left at room temperature for 24 hours Stored in a freezer below −20°C for 92 days Stored in a freezer below −80°C for 92 days	
Processed extract stability:	Stability in processed samples (4°C, 48 hours)	

2.6.4.2.2.4 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びに血漿ろ液中 KLH-2109 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.4

マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びに血漿ろ液中 KLH-2109 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.4-1 に示す。この分析法は薬物動態試験（DMPK[redacted]-0065）に使用された。

表 2.6.4.2.2.4-1　マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びに血漿ろ液中 KLH-2109 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109	
Lower limit of quantification (LLOQ):	10 ng/mL	
Validated range:	10 to 10000 ng/mL	
QC levels:	10, 20, 5000, and 8000 ng/mL	
Dilution factor:	10-fold	
Within-run precision (%CV):	Mice	1.9 to 15.3
	Rats	1.9 to 6.7
	Rabbits	2.4 to 5.5
	Monkeys	2.2 to 3.8
	Humans	2.0 to 4.2
Between-run precision (%CV):	Mice	4.4 to 10.5
	Rats	3.3 to 5.9
	Rabbits	3.8 to 4.5
	Monkeys	3.0 to 7.6
	Humans	3.0 to 4.3
Within-run accuracy (%Bias):	Mice	−7.0 to 5.8
	Rats	2.8 to 14.9
	Rabbits	−4.4 to 1.2
	Monkeys	−3.4 to 1.0
	Humans	−7.9 to 1.9
Between-run accuracy (%Bias):	Mice	−4.2 to 1.1
	Rats	1.2 to 7.4
	Rabbits	−4.8 to 0.0
	Monkeys	−3.5 to −0.7
	Humans	−6.8 to 1.3
Stability in plasma and plasma filtrate:	Stable at room temperature for 4 hours	
Stability after pre-treatment:	Stable in an autosampler (set at 10ºC) for at least 48 hours	
Stability in the vehicle:	Stable for at least 4 weeks in a refrigerator (set at 4ºC)	

2.6.4.2.2.5 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びに血漿ろ液中 KP017 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.5

マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びに血漿ろ液中 KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.5-1 に示す。この分析法は薬物動態試験（DMPK[redacted]-0011）に使用された。

表 2.6.4.2.2.5-1　マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒト血漿並びに血漿ろ液中 KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KP017
Lower limit of quantification (LLOQ):	1 ng/mL
Validated range:	1 to 1000 ng/mL
QC levels:	1, 2.5, 500, and 800 ng/mL

	KP017	
Dilution factor:	10-fold	
Within-run precision (%CV):	Mice	1.4 to 11.8
	Rats	3.4 to 5.5
	Rabbits	2.5 to 3.6
	Monkeys	3.4 to 8.5
	Humans	2.5 to 7.8
Between-run precision (%CV):	Mice	2.4 to 9.1
	Rats	5.8 to 6.7
	Rabbits	3.5 to 14.8
	Monkeys	3.4 to 8.1
	Humans	3.8 to 6.7
Within-run accuracy (%Bias):	Mice	−8.0 to 0.3
	Rats	−10.3 to −4.0
	Rabbits	−9.0 to 2.8
	Monkeys	0.1 to 7.8
	Humans	−4.9 to 0.6
Between-run accuracy (%Bias):	Mice	−4.7 to −0.9
	Rats	−4.6 to −1.1
	Rabbits	−5.7 to 4.7
	Monkeys	1.4 to 3.6
	Humans	−5.0 to 1.6
Stability in plasma and plasma filtrate:	Stable at room temperature for 4 hours	
Stability after pre-treatment:	Stable in an autosampler (set at 10ºC) for at least 48 hours	
Stability in the vehicle:	Stable for at least 4 weeks in a refrigerator (set at 4ºC)	

2.6.4.2.2.6 ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.6、4.2.2.1.7

ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.6-1 に示す。この分析法は毒性試験（11070、51210、11076、11090、11093、11071、11073 及び [redacted]）に使用された。

表 2.6.4.2.2.6-1　ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109	KP017
Lower limit of quantification (LLOQ):	20 ng/mL	2 ng/mL
Validated range:	20 to 100000 ng/mL	2 to 10000 ng/mL
QC levels:	50, 5000, and 80000 ng/mL	5, 500, and 8000 ng/mL
Dilution factor:	10- and 100-fold	10- and 100-fold
Within-run precision (%CV):	0.9 to 6.5	1.3 to 9.7
Between-run precision (%CV):	2.3 to 5.3	2.8 to 6.9
Within-run accuracy (%Bias):	−13.6 to 6.4	−9.0 to 4.4
Between-run accuracy (%Bias):	−11.4 to 2.5	−4.7 to 0.7
Stability in plasma:	2 and 3 freeze-thaw cycles Left at room temperature for 4 hours Stored in a freezer below –65°C for 14 and 28 days	
Processed extract stability:	Left in an autosampler (4°C) for at least 25 hours	
Stability in the vehicle:	Stable for 34 days in a refrigerator	

2.6.4.2.2.7 ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.8

ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.7-1 に示す。このラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法は毒性試験（[redacted]）に使用された。

表 2.6.4.2.2.7-1　ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109	KP017
Lower limit of quantification (LLOQ):	200 ng/mL	20.0 ng/mL
Validated range:	200 to 100000 ng/mL	20.0 to 10000 ng/mL
QC levels:	200, 500, 5000, and 80000 ng/mL	20.0, 50.0, 500, and 8000 ng/mL
Dilution factor:	10- and 100-fold	10- and 100-fold
Within-run precision (%CV):	1.4 to 6.7	1.0 to 10.9
Between-run precision (%CV):	1.9 to 6.9	1.9 to 10.3
Within-run accuracy (%Bias):	−6.4 to 2.0	−10.5 to 2.3
Between-run accuracy (%Bias):	−6.4 to 1.0	−6.8 to 2.0
Stability in plasma:	5 freeze-thaw cycles at −20°C and −80°C Left at room temperature for 24 hours Stored in a freezer below −20°C for 90 days Stored in a freezer below −80°C for 90 days	
Processed extract stability:	Stability in processed samples (4°C, 48 hours)	

2.6.4.2.2.8 ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.9

ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.8-1 に示す。このラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法は薬物動態試験（DMPK[redacted]-0036）に使用された。

表 2.6.4.2.2.8-1　ラット血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109	KP017
Lower limit of quantification (LLOQ):	10 mg/mL	5 ng/mL
Validated range:	10 to 20000 ng/mL	5 to 10000 ng/mL
QC levels:	10, 50, 10000, and 16000 ng/mL	5, 25, 5000, and 8000 ng/mL
Dilution factor:	4- and 10-fold	4- and 10-fold
Within-run precision (%CV):	0.8 to 1.4	1.1 to 1.9
Between-run precision (%CV):	2.5 to 3.0	1.6 to 3.5
Within-run accuracy (%Bias):	−6.6 to −3.6	−5.8 to −4.8
Between-run accuracy (%Bias):	−7.9 to −1.3	−6.8 to −3.8
Stability in plasma:	Stable after 4 freeze-thaw cycles at –20°C Stable at room temperature for 4 hours Stable in a freezer at –20°C for 4 weeks	
Processed extract stability:	Stable at least 48 hours in an auto-injector set at 10°C	

2.6.4.2.2.9 ウサギ血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.10

ウサギ血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.9-1 に示す。この分析法は毒性試験（11074）に使用された。

表 2.6.4.2.2.9-1　ウサギ血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109	KP017
Lower limit of quantification (LLOQ):	20 ng/mL	2 ng/mL
Validated range:	20 to 100000 ng/mL	2 to 10000 ng/mL
QC levels:	50, 5000, and 80000 ng/mL	5, 500, and 8000 ng/mL
Dilution factor:	10- and 100-fold	10- and 100-fold
Within-run precision (%CV):	0.9 to 6.6	1.4 to 6.2
Between-run precision (%CV):	2.0 to 5.7	2.9 to 5.9
Within-run accuracy (%Bias):	−7.6 to 6.5	−1.9 to 6.4
Between-run accuracy (%Bias):	−6.6 to 4.3	−0.3 to 1.8
Stability in plasma:	2 and 3 freeze-thaw cycles Left at room temperature for 4 hours Stored in a freezer below –65°C for 7 and 14 days	
Processed extract stability:	Left in an autosampler (4°C) for at least 26 hours	

2.6.4.2.2.10 イヌ血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.11

イヌ血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.10-1 に示す。この分析法は毒性試験（[redacted]、[redacted]、[redacted]）に使用された。

表 2.6.4.2.2.10-1　イヌ血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109	KP017
Lower limit of quantification (LLOQ):	200 ng/mL	2 ng/mL
Validated range:	200 to 100000 ng/mL	2 to 1000 ng/mL
QC levels:	500, 50000, and 80000 ng/mL	5, 500, and 800 ng/mL
Dilution factor:	10- and 100-fold	10- and 100-fold
Within-run precision (%CV):	0.4 to 1.8	1.0 to 6.4
Between-run precision (%CV):	1.3 to 4.2	2.4 to 6.3
Within-run accuracy (%Bias):	−10.2 to 6.4	−6.5 to 3.3
Between-run accuracy (%Bias):	−9.2 to 2.1	−4.2 to −0.4
Stability in plasma:	2 and 3 freeze-thaw cycles Left at room temperature for 4 hours Stored in a freezer below –65°C for 28 and 42 days	
Processed extract stability:	Left in an autosampler (4°C) for at least 52 hours	

2.6.4.2.2.11 サル血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.12

サル血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.11-1 に示す。この分析法は毒性試験（[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted] 及び [redacted]）に使用された。

表 2.6.4.2.2.11-1　サル血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109	KP017
Lower limit of quantification (LLOQ):	200 ng/mL	2 ng/mL
Validated range:	200 to 100000 ng/mL	2 to 1000 ng/mL
QC levels:	50, 50000, and 80000 ng/mL	5, 500, and 800 ng/mL
Dilution factor:	10- and 100-fold	10- and 100-fold
Within-run precision (%CV):	0.9 to 13.0	1.4 to 7.5
Between-run precision (%CV):	3.9 to 8.0	2.9 to 5.7
Within-run accuracy (%Bias):	−9.9 to 5.4	−4.6 to 6.9
Between-run accuracy (%Bias):	−6.5 to 1.5	−1.1 to 3.8
Stability in plasma:	2 and 3 freeze-thaw cycles Left at room temperature for 4 hours Stored in a freezer below –65°C for 14 and 34 days	
Processed extract stability:	Left in an autosampler set at 4°C for at least 25 hours	

2.6.4.2.2.12 サル血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーション

添付資料 4.2.2.1.13

サル血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果を、表 2.6.4.2.2.12-1 に示す。この分析法は薬物動態試験（[redacted]）に使用された。

表 2.6.4.2.2.12-1　サル血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度分析法バリデーションの主な結果

	KLH-2109	KP017
Lower limit of quantification (LLOQ):	10 ng/mL	5 ng/mL
Validated range:	10 to 10000 ng/mL	5 to 5000 ng/mL
QC levels:	10, 20, 1000, and 8000 ng/mL	5, 10, 500, and 4000 ng/mL
Dilution factor:	20-fold	20-fold
Within-run precision (%CV):	1.3 to 4.5	1.5 to 4.5
Between-run precision (%CV):	2.4 to 4.1	2.7 to 5.3
Within-run accuracy (%Bias):	–2.7 to 3.7	–10.2 to 3.8
Between-run accuracy (%Bias):	–1.7 to 2.0	–6.1 to 1.4
Stability in plasma:	Stable in a freezer at for 31 days Stable at room temperature for 6 hours Stable after 3 cycles of freeze and thaw	
Processed extract stability:	Stable in an auto-sampler set at 4°C for 48 hours	

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 単回投与

2.6.4.3.1.1 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口及び単回静脈内投与したときの血漿中放射能濃度推移

添付資料 4.2.2.2.1

絶食した雌ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（1、3、10 及び 30 mg/kg）を単回経口投与したとき、投与量に比例した C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$の増加が認められた（表 2.6.4.3.1.1-1）。血漿中放射能濃度は投与後 1.0～2.3 時間で C_{max} に達し、その後 36.3～41.4 時間の $t_{1/2}$ で消失した。雄ラットの C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$は、雌ラットとほぼ同等であった。

雄及び雌ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回静脈内投与したときの血漿中放射能濃度推移は二相性の消失を示し、終末相の $t_{1/2}$ はそれぞれ 59.5 時間及び 40.7 時間であった。雄ラットの CL_{tot} は雌ラットの 0.6 倍であった。雄及び雌ラットの Vd_{ss} はいずれも 300 mL/kg 未

満と小さく、ほぼ同等であった。放射能の BA は、雄ラットでは 61%であり、雌ラットでは 93%であった。非絶食の雌ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、絶食時に対し C_{max}、$AUC_{0-\infty}$及び T_{max} はそれぞれ約 0.7 倍、1.4 倍及び 1.9 倍であった。

表 2.6.4.3.1.1-1　ラットにおける[^{14}C]KLH-2109 の薬物動態パラメータ

Treatment Group/ Route/ Dose (mg/kg)	F fasted	F fasted	F fed	M fasted	F fasted	F fasted	F fasted	M fasted
	Oral						Intravenous	
	1	3	3	3	10	30	3	3
PK parameters								
C_{max} (µg eq./mL)	8.03	19.41	14.39	17.02	59.25	160.84	NA	NA
T_{max} (hr)	2.3	1.7	3.3	1.7	1.1	1.0	NA	NA
$t_{1/2}$ (hr)	41.4	39.7	42.1	55.0	40.1	36.3	40.7	59.5
AUC_{0-t} (µg eq.•hr/mL)	210	436	582	423	1146	3888	469	664
$AUC_{0-\infty}$ (µg eq.•hr/mL)	256	527	738	572	1361	4532	567	940
CL_{tot} (mL/hr/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.51	3.32
MRT_{0-t} (hr)	28.0	25.9	33.4	30.2	25.5	26.9	27.6	32.6
$MRT_{0-\infty}$ (hr)	51.0	45.8	59.3	67.9	45.3	44.1	49.0	76.1
Vd_{ss} (mL/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	262	251
BA (%)	—	93	—	61	—	—	NA	NA

試験番号 DMPK[redacted]-0024
各数値は 3 例の平均値を示す。
M：雄、F：雌
—：算出していない
NA：該当しない

2.6.4.3.1.2 ラットに KLH-2109 コリン塩を単回経口及び単回静脈内投与したときの血漿中 KLH-2109 及び KP017 濃度推移

添付資料 4.2.2.2.2

絶食した雌ラットに KLH-2109（1、3、10 及び 30 mg/kg）を単回経口投与したとき、C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$は投与量にほぼ比例して増加した（表 2.6.4.3.1.2-1）。血漿中 KLH-2109 濃度は投与後 0.4～1.1 時間で C_{max} に達し、その後 9.9～14.3 時間の $t_{1/2}$ で消失した。絶食した雄ラットの PK パラメータは雌ラットとほぼ同等であった。

絶食した雄及び雌ラットに KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回静脈内投与したとき、いずれも血漿中 KLH-2109 濃度は二相性の消失を示し、終末相の $t_{1/2}$ はそれぞれ 9.8 時間及び 11.6 時間であった。PK パラメータに明らかな性差は認められなかった。Vd_{ss} はいずれも約 300 mL/kg と小さく、CL_{tot} も 30 mL/hr/kg 未満と低かった。経口投与後の KLH-2109 の BA は、雄ラットでは 111%であり、雌ラットでは 120%であった。

KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を非絶食のラットに単回経口投与した結果、絶食に対し C_{max}、T_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$はそれぞれ 0.5 倍、2.5 倍及び 0.7 倍であった。

表 2.6.4.3.1.2-1　ラットにおける KLH-2109 の薬物動態パラメータ

Treatment Group/ Route/ Dose (mg/kg)	F fasted	F fasted	F fed	M fasted	F fasted	F fasted	F fasted	M fasted
	Oral						Intravenous	
	1	3	3	3	10	30	3	3
PK parameters								
C_{max} (ng/mL)	3680.79	12501.31	5860.79	11951.53	52817.46	102635.94	NA	NA
T_{max} (hr)	0.9	0.6	1.5	1.0	0.4	1.1	NA	NA
$t_{1/2}$ (hr)	9.9	14.3	10.8	12.8	11.1	14.0	11.6	9.8
AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	37731	155517	106255	123515	410474	1596252	129986	112027

Treatment Group/ Route/ Dose (mg/kg)	F fasted	F fasted	F fed	M fasted	F fasted	F fasted	F fasted	M fasted
	Oral						Intravenous	
	1	3	3	3	10	30	3	3
PK parameters								
$AUC_{0-\infty}$ (ng•hr/mL)	38083	156832	106758	124832	411181	1608325	130571	112350
CL_{tot} (mL/hr/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	23.6	27.5
MRT_{0-t} (hr)	10.9	14.9	14.8	12.1	10.9	14.2	12.9	10.0
$MRT_{0-\infty}$ (hr)	11.5	15.7	15.2	12.9	11.0	14.9	13.4	10.2
Vd_{ss} (mL/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	305	272
BA (%)	—	120	—	111	—	—	NA	NA

試験番号 DMPK[redacted]-0036
各数値は 4 例の平均値を示す。
M：雄、F：雌
—：算出していない
NA：該当しない

ラットに経口投与及び静脈内投与したときの KP017 の曝露量（$AUC_{0-\infty}$）は KLH-2109 に対し 0.4%未満であり、経口投与では投与量にほぼ比例して増加した。

2.6.4.3.1.3 サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口及び単回静脈内投与したときの血漿中放射能、KLH-2109 及び KP017 濃度推移

添付資料 4.2.2.2.3

絶食した雌サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したとき、放射能及び血漿中 KLH-2109 濃度は投与後 2.0 時間に C_{max} に達し、その後それぞれ 21.0 時間及び 7.4 時間の $t_{1/2}$ で消失した（表 2.6.4.3.1.3-1）。

絶食した雌サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回静脈内投与したとき、放射能及び血漿中 KLH-2109 濃度はほぼ二相性の消失を示し、終末相の $t_{1/2}$ はそれぞれ 33.4 時間と 8.6 時間であった。放射能及び KLH-2109 の Vd_{ss} はいずれも 200 mL/kg 未満と小さく、また CL_{tot} はいずれも 20 mL/hr/kg 未満と低かった。放射能の $AUC_{0-\infty}$に対する KLH-2109 の $AUC_{0-\infty}$の割合は、経口投与では 96%であり静脈内投与では 91%であったことから、血漿中の放射能はほぼ KLH-2109 であることが推察された。また、経口投与における放射能の BA は 81.4%であり、KLH-2109 の BA は 86.0%であった。

表 2.6.4.3.1.3-1　サルにおける[^{14}C]KLH-2109 及び KLH-2109 の薬物動態パラメータ

PK parameters	[^{14}C]KLH-2109		KLH-2109	
	Oral	Intravenous	Oral	Intravenous
C_{max} (ng eq. or ng/mL)	14331.62	NA	14249.07	NA
C_0 (ng eq. or ng/mL)	NA	49224.13	NA	51323.38
T_{max} (hr)	2.0	NA	2.0	NA
$t_{1/2}$ (hr)	21.0	33.4	7.4	8.6
AUC_{0-t} (ng eq.•hr/mL or ng•hr/mL)	147996	177387	141811	163430
$AUC_{0-\infty}$ (ng eq.•hr/mL or ng•hr/mL)	149011	180761	142486	163800
CL/F (mL/hr/kg)	22.4	NA	23.9	NA
CL_{tot} (mL/hr/kg)	NA	17.2	NA	19.0
V_z/F (mL/kg)	677	NA	256	NA
Vd_{ss} (mL/kg)	NA	185	NA	109
BA (%)	81.4	—	86.0	—

試験番号[redacted]
各数値は 3 例の平均値を示す。
—：算出していない
NA：該当しない

サルに経口投与及び静脈内投与したときの KP017 の曝露量（$AUC_{0-\infty}$）は、いずれも放射能の $AUC_{0-\infty}$に対し 1%以下であった。

2.6.4.3.2 反復投与（トキシコキネティクス）

2.6.4.3.2.1 マウス反復経口投与試験

添付資料 4.2.3.2.8

マウスに KLH-2109 コリン塩（40、750 及び 1500 mg/kg/日）を 13 週間反復経口投与したときのトキシコキネティクスを表 2.6.4.3.2.1-1 に示す。

C_{max} 及び AUC_{0-24} は 750 mg/kg/日までは投与量の増加に伴って増加したが、1500 mg/kg/日で頭打ち傾向を示した。C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与 13 週目の方が投与 1 日目より、やや高い傾向が認められた。また、C_{max} 及び AUC_{0-24} に、明らかな性差は認められなかった。KP017 の AUC_{0-24} は、KLH-2109 に対し 2.9%～8.6%であった。

表 2.6.4.3.2.1-1　マウス反復経口投与試験における KLH-2109 のトキシコキネティクス

13-week toxicity study; Study number: [redacted]						
Dose (mg/kg/day)	40		750		1500	
Gender	M	F	M	F	M	F
Day 1						
C_{max} (ng/mL)	117000	110000	305000	310000	317000	356000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	1190000	1650000	3570000	3420000	4250000	4860000
Week 13						
C_{max} (ng/mL)	131000	216000	338000	447000	451000	496000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	1320000	2090000	5910000	6370000	7260000	8060000

各数値は平均値を示す。
M：雄、F：雌

2.6.4.3.2.2 ラット反復経口投与試験

添付資料 4.2.3.2.1、4.2.3.2.2、4.2.3.2.3、4.2.3.2.4

ラットに KLH-2109 コリン塩を 4 週間（20、200 及び 2000 mg/kg/日）、13 週間（50、150、500 及び 1500 mg/kg/日）及び 26 週間（50、200 及び 1000 mg/kg/日）反復経口投与したときのトキシコキネティクスを表 2.6.4.3.2.2-1 に示す。

4 週間反復経口投与試験において、C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加し、反復投与による明らかな影響はおおむね認められなかった。Wistar 系ラットでは C_{max} 及び AUC_{0-24} に明らかな性差はおおむね認められなかったが、SD 系ラットでは AUC_{0-24} は雌の方がやや高い傾向が認められた。KP017 の AUC_{0-24} は、KLH-2109 に対し 0.2%～1.4%であった。

13 週間反復経口投与試験において、C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。また、C_{max} 及び AUC_{0-24} に明らかな性差は認められなかった。KP017 の AUC_{0-24} は、KLH-2109 に対し 0.2%～1.3%であった。

26 週間反復経口投与試験において、C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。また、C_{max} 及び AUC_{0-24} に明らかな性差は認められなかった。KP017 の AUC_{0-24} は、KLH-2109 に対し 0.2%～1.6%であった。

表 2.6.4.3.2.2-1　ラット反復経口投与試験における KLH-2109 のトキシコキネティクス

4-week toxicity study (Wistar rats); Study number: 51210								
Dose (mg/kg/day)	20		200		2000			
Gender	M	F	M	F	M	F		
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	71100	60300	207000	257000	347000	428000		
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	95300	841000	2730000	3620000	6410000	6260000		
Week 4								
C_{max} (ng/mL)	69600	81000	158000	225000	383000	319000		
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	778000	809000	2740000	3650000	7500000	6280000		
4-week toxicity study with 4-week recovery period (SD rats); Study number: 11076								
Dose (mg/kg/day)	20		200		2000			
Gender	M	F	M	F	M	F		
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	47847.5	67517.5	168025.0	218725.0	353225.0	325300.0		
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	606274.7	880377.1	2151443.8	3082781.3	5264618.8	5687800.0		
Week 4								
C_{max} (ng/mL)	46865.0	77387.5	121975.0	202000.0	349150.0	304325.0		
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	420107.2	877524.3	1665954.1	3202877.5	4979482.5	5097706.3		
13-week toxicity study (Wistar rats); Study number: 11090								
Dose (mg/kg/day)	50		150		500		1500	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	146000	151000	192000	240000	328000	406000	371000	409000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	1880000	1720000	2270000	2860000	3740000	4990000	5340000	5630000
Week 4								
C_{max} (ng/mL)	132000	163000	144000	271000	256000	341000	371000	386000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	1380000	2070000	2440000	3630000	4110000	5300000	6380000	5940000
Week 13								
C_{max} (ng/mL)	137000	154000	174000	242000	275000	292000	425000	337000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	1720000	1800000	2480000	3040000	3520000	4350000	5090000	4530000
26-week toxicity study with 10-week recovery period (Wistar rats); Study number: 11093								
Dose (mg/kg/day)	50		200		1000			
Gender	M	F	M	F	M	F		
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	137000	162000	228000	278000	298000	445000		
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	1940000	2160000	2750000	3100000	4030000	5590000		
Week 13								
C_{max} (ng/mL)	104000	195000	128000	222000	195000	307000		
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	1160000	2380000	1920000	3310000	3160000	4480000		
Week 26								
C_{max} (ng/mL)	80200	136000	110000	174000	173000	259000		
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	983000	1730000	1670000	2700000	2580000	3920000		

各数値は平均値を示す。
M：雄、F：雌

2.6.4.3.2.3 イヌ反復経口投与試験

添付資料 4.2.3.2.9、4.2.3.2.10

イヌに KLH-2109 コリン塩（10、100 及び 1000 mg/kg/日）を 2 週間及び 4 週間反復経口投与したときのトキシコキネティクスを表 2.6.4.3.2.3-1 に示す。

2 週間反復経口投与試験（雌のみ）において、C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。KP017 の AUC_{0-24} は、KLH-2109 に対し 0.01%～0.06%であった。

4 週間反復経口投与試験において、C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。また、C_{max} 及び AUC_{0-24} に、明らかな性差は認

められなかった。KP017 の AUC_{0-24} は、KLH-2109 に対し 0.01%～0.04%であった。

表 2.6.4.3.2.3-1　イヌ反復経口投与試験における KLH-2109 のトキシコキネティクス

2-week toxicity study; Study number: [redacted]						
Dose (mg/kg/day)	10		100		1000	
Gender	M	F	M	F	M	F
Day 1						
C_{max} (ng/mL)	—	43200	—	156000	—	291000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	—	527000	—	2530000	—	4630000
Day 14						
C_{max} (ng/mL)	—	58500	—	167000	—	255000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	—	757000	—	2250000	—	3430000
4-week toxicity study with 4-week recovery period; Study number: [redacted]						
Dose (mg/kg/day)	10		100		1000	
Gender	M	F	M	F	M	F
Day 1						
C_{max} (ng/mL)	55500	45700	132000	156000	215000	178000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	686000	641000	1930000	2110000	3600000	2950000
Week 4						
C_{max} (ng/mL)	70500	62400	141000	137000	167000	170000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	1010000	888000	1930000	2200000	2370000	2480000

各数値は平均値を示す。
M：雄、F：雌

2.6.4.3.2.4 サル反復経口投与試験

添付資料 4.2.3.2.5、4.2.3.2.6、4.2.3.2.7

サルに KLH-2109 コリン塩（10、100 及び 1000 mg/kg/日）を 4 週間、13 週間及び 39 週間反復経口投与したときのトキシコキネティクスを表 2.6.4.3.2.4-1 に示す。

4 週間反復経口投与試験において、C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。また、C_{max} 及び AUC_{0-24} に明らかな性差は認められなかった。KP017 の AUC_{0-24} は、KLH-2109 に対し 0.4%～2.7%であった。

13 週間反復経口投与試験において、C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。また、C_{max} 及び AUC_{0-24} に明らかな性差はおおむね認められなかった。KP017 の AUC_{0-24} は、KLH-2109 に対し 0.4%～2.1%であった。

39 週間反復経口投与試験において、C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。また、C_{max} 及び AUC_{0-24} に明らかな性差は認められなかった。KP017 の AUC_{0-24} は、KLH-2109 に対し 0.3%～1.3%であった。

表 2.6.4.3.2.4-1　サル反復経口投与試験における KLH-2109 のトキシコキネティクス

4-week toxicity study with 4-week recovery period; Study number: [redacted]						
Dose (mg/kg/day)	10		100		1000	
Gender	M	F	M	F	M	F
Day 1						
C_{max} (ng/mL)	23683	26823	128133	111133	237040	168420
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	260460	274379	1444264	1579468	3650583	2370201
Week 4						
C_{max} (ng/mL)	17393	25017	85467	110927	186520	160540
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	220424	244714	1097538	1132970	2703624	1763695
13-week toxicity study; Study number: [redacted]						
Dose (mg/kg/day)	10		100		1000	
Gender	M	F	M	F	M	F
Day 1						
C_{max} (ng/mL)	22100	36500	84500	110000	206000	196000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	253000	265000	1200000	1510000	3430000	2800000
Week 13						
C_{max} (ng/mL)	19900	40200	119000	152000	199000	206000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	209000	282000	1340000	1550000	2370000	2640000
39-week toxicity study with 20-week recovery period; Study number: [redacted]						
Dose (mg/kg/day)	10		100		1000	
Gender	M	F	M	F	M	F
Day 1						
C_{max} (ng/mL)	16700	21800	127000	123000	228000	217000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	225000	222000	1870000	1490000	3620000	2920000
Week 26						
C_{max} (ng/mL)	23300	29100	87500	133000	182000	186000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	328000	301000	1530000	1780000	2710000	2400000
Week 39						
C_{max} (ng/mL)	25200	26200	115000	133000	208000	222000
AUC_{0-24} (ng•hr/mL)	310000	310000	1650000	1640000	2840000	2910000

各数値は平均値を示す。
M：雄、F：雌

2.6.4.3.3 その他吸収試験

2.6.4.3.3.1 ラット消化管ループにおける[^{14}C]KLH-2109 コリン塩の吸収部位

添付資料 4.2.2.2.4

ラットにおける KLH-2109 の消化管吸収部位を検討するため、絶食させた雌ラットの消化管ループ（胃、十二指腸、空腸、回腸及び大腸）に麻酔下で[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を注入した。注入後 5、15、30、60 及び 120 分の血漿中放射能濃度を測定した。また、注入後 120 分において消化管ループを採取し、消化管ループ内容物及び消化管ループの洗浄液中の放射能を測定した。

十二指腸、空腸及び回腸ループに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を注入したときの血漿中放射能濃度は、胃及び大腸ループに注入したときよりも速やかに上昇し、高い推移を示した。胃、十二指腸、空腸、回腸及び大腸ループに残存した放射能は、それぞれ投与量の 63.9%、27.3%、36.7%、57.6%及び 69.3%であり、十二指腸及び空腸ループの残存放射能は他の消化管部位よりも低かった。胃、回腸及び大腸ループの残存放射能はほぼ同等であったが、血漿中への放射能の移行は胃ループに比べ回腸及び大腸ループに注入したときの方が速やかであった。

以上の結果より、ラットにおける KLH-2109 の吸収部位は消化管の広範囲にわたっていることが示唆され、特に十二指腸及び空腸からの吸収が他の部位に比べ良好であると考えられた。

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 組織分布試験

2.6.4.4.1.1 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの組織中放射能分布

添付資料 4.2.2.3.1

絶食した雌雄ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与し、組織摘出法により KLH-2109 の組織分布を評価した。雄ラットでは投与後 2、8 及び 72 時間に、雌ラットでは投与後 0.25、2、8、24、72 及び 168 時間に組織中放射能濃度を測定した。

雄ラットでは、血漿中放射能濃度は投与後 2 時間において 12696.8 ng eq./mL と最も高く、投与後 72 時間では 2331.7 ng eq./mL に低下した。雌ラットでは、血漿中放射能濃度は投与後 2 時間に最高濃度 18125.1 ng eq./mL に達し、投与後 72 及び 168 時間にはそれぞれ 2082.9 及び 1191.0 ng eq./mL に低下した。各組織中の放射能濃度推移に顕著な性差は認められなかったが、雌ラットでは最高濃度が高く、雄ラットでは消失が遅い傾向が認められた。

血漿及び血液の放射能濃度と同様に、組織中放射能濃度はほぼすべての組織において投与後 2 時間に最高濃度に達した。雄及び雌ラットともに血漿中放射能濃度は、ほぼすべての時点で最も高く、血液（組織/血漿中放射能濃度比：0.40～0.62）、投与初期の肝臓（～0.97）、消化管（～1.19）、投与後 24 時間以降の子宮（0.31～0.36）、気管（0.24～0.30）、皮膚（0.23～0.26）、卵巣（0.21～0.26）、膀胱（0.20～0.26）及び肺（0.21～0.24）で放射能濃度が高かった。大脳及び小脳の放射能濃度比はすべての時点において 0.01 であり、下垂体の放射能濃度比は 0.13～0.22 であった。すべての組織において、血漿中放射能濃度の消失に伴い組織中放射能濃度が低下し、組織への残留性は認められなかった。

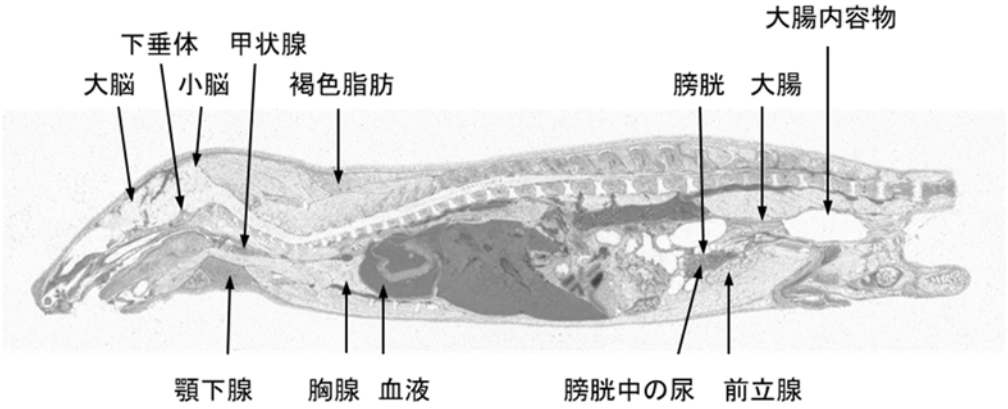
2.6.4.4.1.2 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの全身オートラジオグラフィー

添付資料 4.2.2.3.2

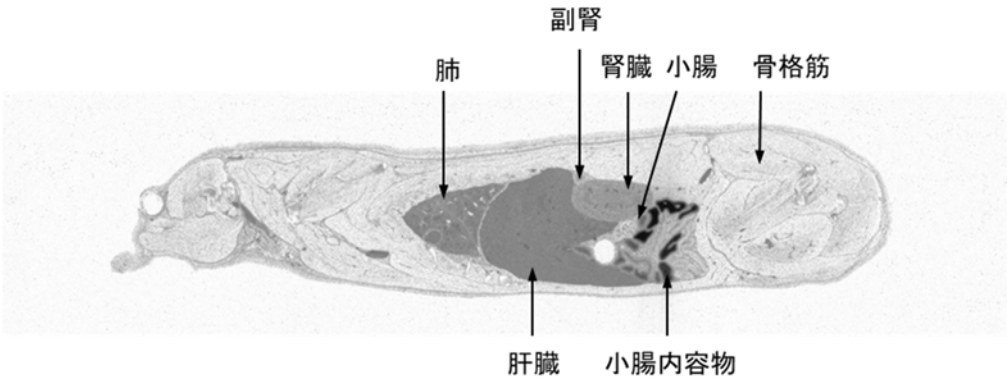
絶食した雌雄ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与し、全身オートラジオグラフィーにより KLH-2109 の組織分布を評価した。雄ラットでは投与後 2、8 及び 72 時間、雌ラットでは投与後 2、8、24、72 及び 168 時間の組織中放射能濃度を評価した。投与後 2 及び 72 時間における代表的な全身オートラジオグラムをそれぞれ図 2.6.4.4.1.2-1～図 2.6.4.4.1.2-4 に示した。

雄ラットでは肝臓と肺に高い放射能が認められ、血液中放射能とほぼ同等であった。その他の組織における放射能は血液より低く、中枢神経系の組織では最も低い放射能が検出された。各組織に分布した放射能は時間の経過とともに消失し、放射能が残留する組織は認められなかった。雌ラットの全身オートラジオグラムは雄ラットとほぼ同様であり、性差は認められなかった。

正中断面



右断面



左断面

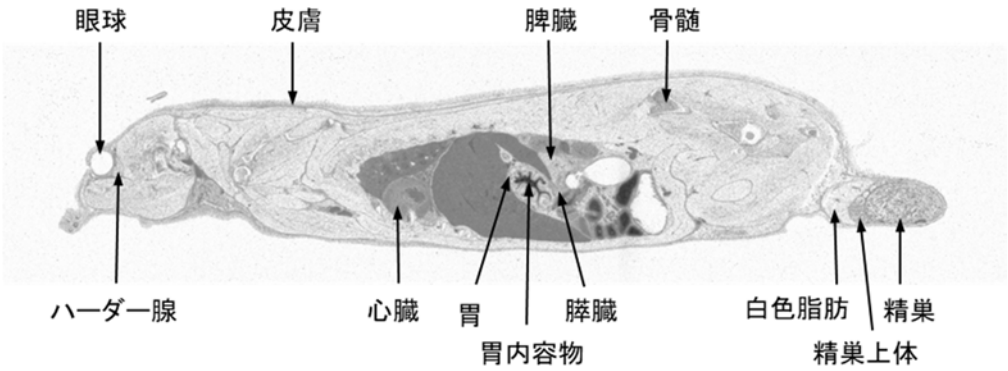
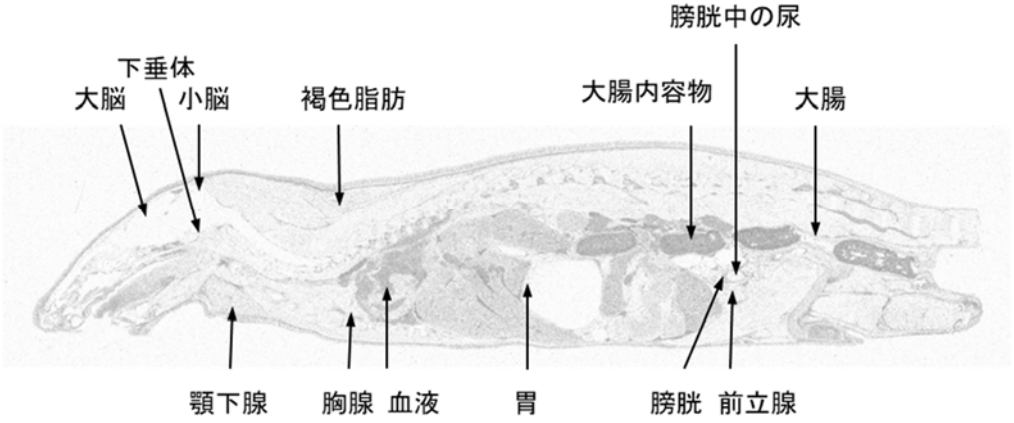
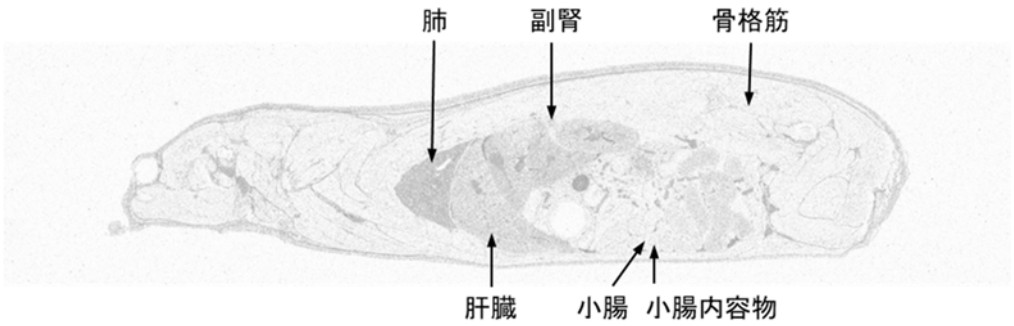


図 2.6.4.4.1.2-1　雄ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したときの投与後 2 時間における全身オートラジオグラム

正中断面



右断面



左断面

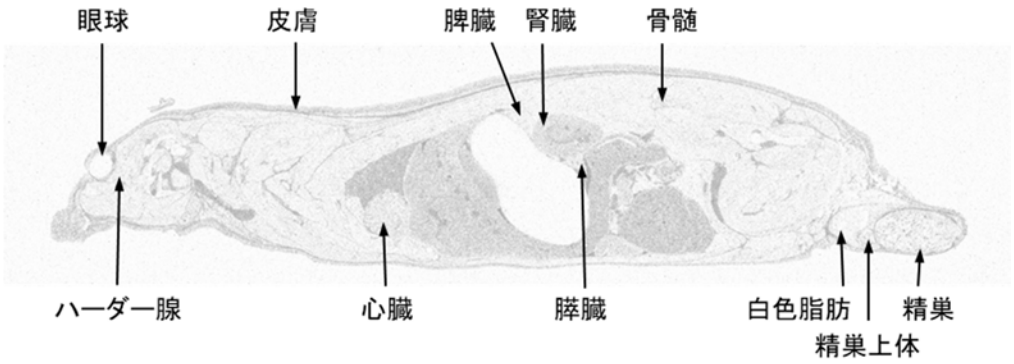
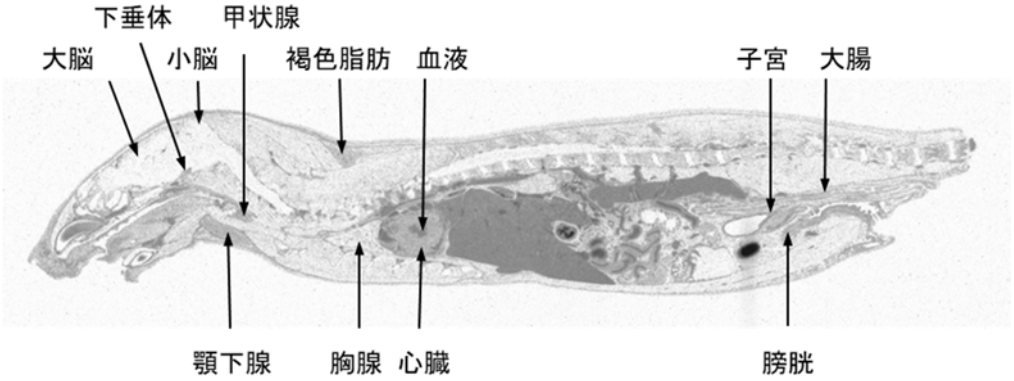
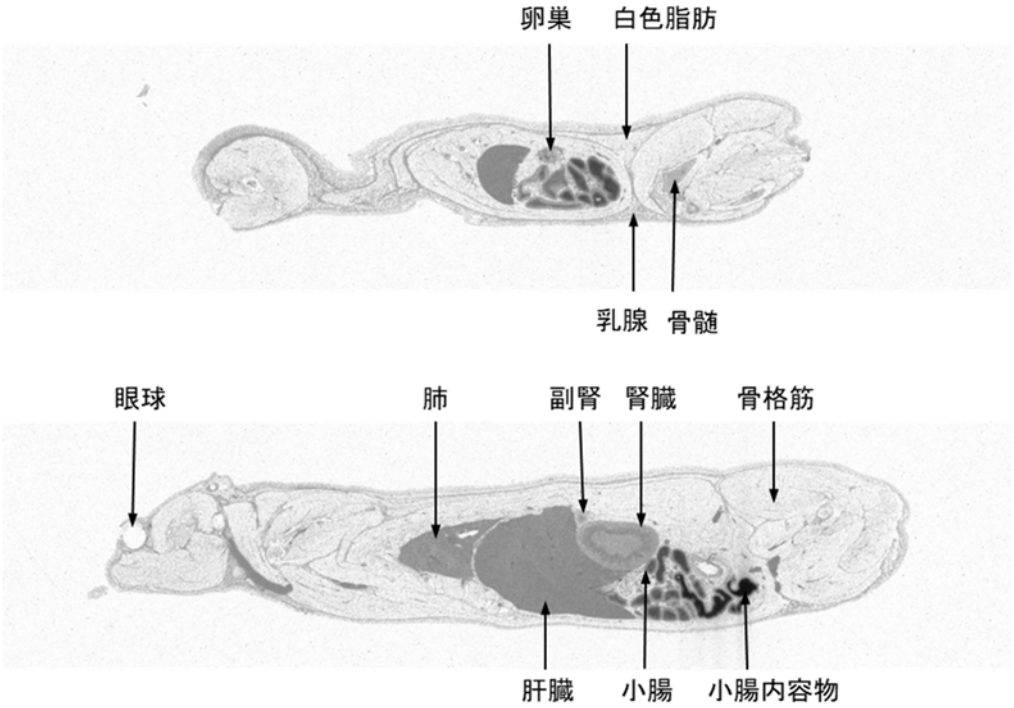


図 2.6.4.4.1.2-2　雄ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したときの投与後 72 時間における全身オートラジオグラム

正中断面



右断面



左断面

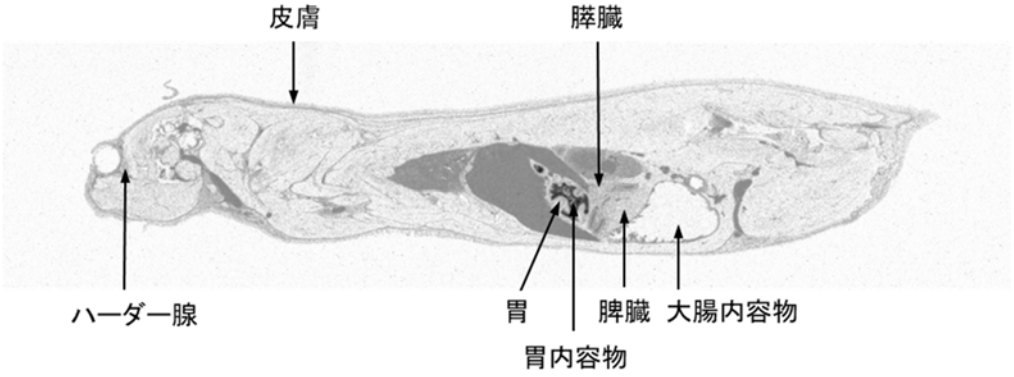
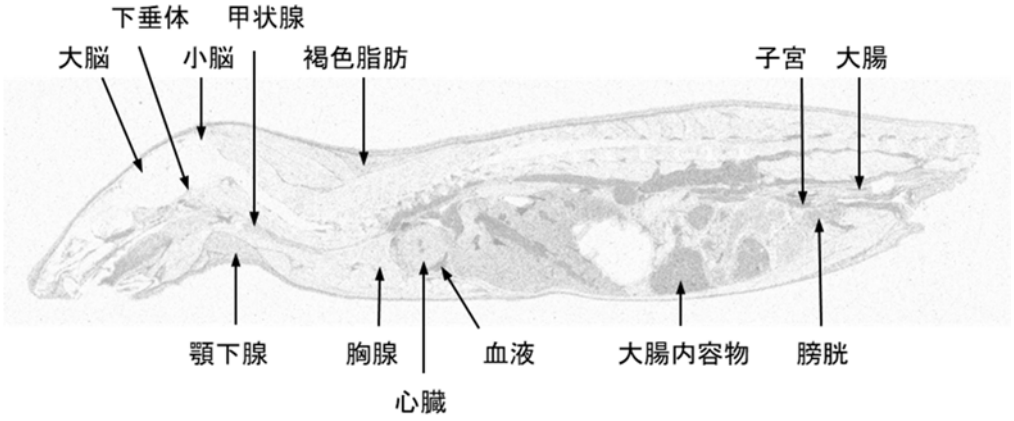
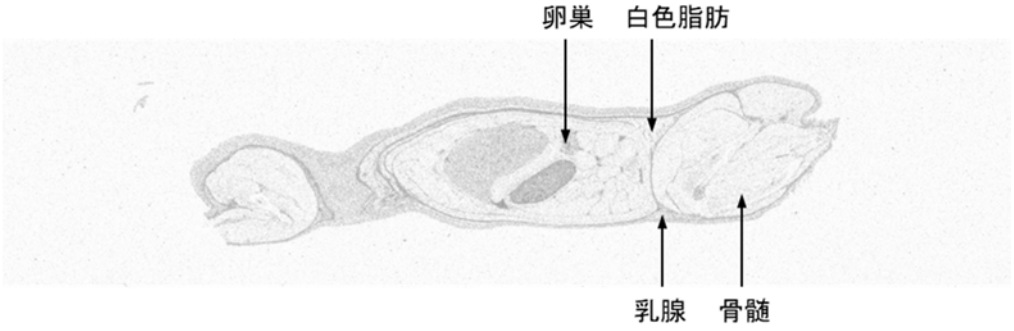


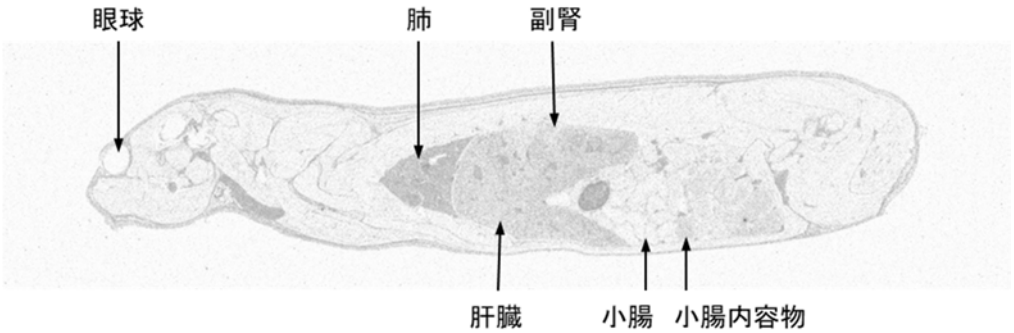
図 2.6.4.4.1.2-3　雌ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したときの投与後 2 時間における全身オートラジオグラム

正中断面



右断面





左断面

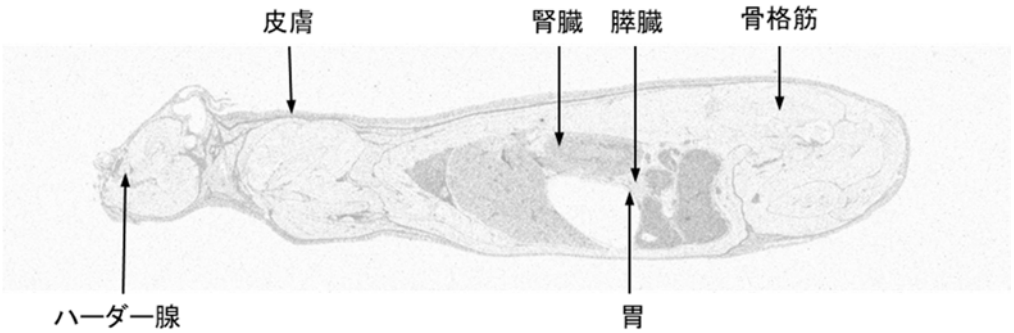


図 2.6.4.4.1.2-4　雌ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与したときの投与後 72 時間における全身オートラジオグラム

2.6.4.4.1.3 有色ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときのメラニン含有組織における放射能分布

添付資料 4.2.2.3.3

絶食した雌有色ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与し、組織摘出法により KLH-2109 の組織分布を評価した。投与後 2、8、24、72、168 及び 336 時間の各組織中放射能濃度を測定した。

投与後 2 時間において、血漿及び血液中の放射能濃度はそれぞれ 21573.6 及び 12629.1 ng eq./mL であり、それぞれ 95.1 時間と 92.8 時間の $t_{1/2}$ で消失した。眼球及び皮膚における放射能濃度は、投与後 8 時間においてそれぞれ 610.9 及び 2185.8 ng eq./g であり、それぞれ 108.1 及び 101.2 時間の $t_{1/2}$ で消失した。各時点における血漿に対する血液及び眼球の放射能濃度比はそれぞれ 0.56～0.59 及び 0.02～0.05 であり、ほぼ一定であった。血漿に対する皮膚の放射能濃度比は投与後 2 時間から 24 時間において上昇したが、投与後 72 時間から 336 時間では 0.27～0.31 であり、ほぼ一定であった。血漿、眼球及び皮膚の $t_{1/2}$ はほぼ同等であり、メラニン含有組織中に放射能の残存は認められなかった。

2.6.4.4.1.4 有色ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの組織中放射能分布

添付資料 4.2.2.3.4

絶食した雌有色ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回投与経口投与し、QWBA により KLH-2109 の組織分布を評価した。投与後 2、8、24、72、168、336 及び 672 時間の各組織中放射能濃度を測定した。

雌有色ラットに単回経口投与したとき、放射能はほぼ全身に分布し、ほとんどの組織で投与後 2 又は 8 時間までに最高濃度に達した。その後、組織中放射能濃度は血液中放射能濃度の消失に伴い低下した。投与部位である消化管を除き、すべての時点で血液の放射能が最も高く、次いで肝臓、肺及び腎臓（特に髄質）では比較的高い放射能が認められた。大脳、小脳、延髄、脊髄及び眼球（眼球内）の放射能は他の組織よりも低かった。メラニン含有組織である眼球（ブドウ膜）及び皮膚（有色部位）の放射能濃度は、それぞれ眼球（眼球内）及び皮膚（非有色部位）に比べてわずかに高かったが、血液中濃度に依存して推移した。投与後 672 時間では、すべての組織中放射能濃度は検出されないか、又は定量限界未満であった。有色ラットのメラニン含有組織に放射能は残留しなかった。

2.6.4.4.2 蛋白結合

2.6.4.4.2.1 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおける[^{14}C]KLH-2109 の血漿蛋白結合（*in vitro*）

添付資料 4.2.2.3.5

[^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* におけるマウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトの血漿蛋白結合率を限外ろ過法により評価した。また、精製ヒト血漿蛋白質を用いて[^{14}C]KLH-2109 が主に結合する血漿蛋白質も評価した。

[^{14}C]KLH-2109（5、20 及び 100 µg/mL）の血漿蛋白結合率は、マウスでは 98.6%～99.3%、ラットでは 99.3%～99.7%、ウサギでは 95.4%～95.9%、サルでは 97.4%～98.0%、並びにヒトでは 99.1%～99.4%であり、濃度に依存した明らかな変化は認められなかった。

[^{14}C]KLH-2109（5、20 及び 100 μg/mL）の精製ヒト血漿蛋白質との結合率は、アルブミンでは 92.4%～94.7%、γ-グロブリンでは 15.0%～16.8%、並びに α_1-酸性糖蛋白質では 3.9%～4.9%であった。α_1-酸性糖蛋白質への結合率は限外ろ過装置への非特異的吸着率とほぼ同等であり、[^{14}C]KLH-2109 は α_1-酸性糖蛋白質に結合しないと考えられた。

以上の結果より、KLH-2109 の血漿蛋白結合率は高く（>95%）、KLH-2109 の主結合蛋白質はアルブミンであると考えられた。

2.6.4.4.2.2 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおける KLH-2109 の血漿蛋白結合（*in vitro*）

添付資料 4.2.2.3.6

KLH-2109 の *in vitro* におけるマウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトの血漿蛋白結合率を限外ろ過法により評価した。

KLH-2109（5、20 及び 100 μg/mL）の血漿蛋白結合率は、マウスでは 97.9%～99.0%、ラットでは 99.3%～99.6%、ウサギでは 94.7%～95.3%、サルでは 95.7%～96.9%、並びにヒトでは 99.0%～99.4%であり、濃度に依存した明らかな変化は認められなかった。

2.6.4.4.2.3 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおける KP017 の血漿蛋白結合（*in vitro*）

添付資料 4.2.2.3.7

KP017 の *in vitro* におけるマウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトの血漿蛋白結合率を限外ろ過法により評価した。

KP017（1、2.5 及び 5.0 μg/mL）の血漿蛋白結合率は、マウスでは 96.6%～96.9%、ラットでは 99.4%～99.5%、ウサギでは 96.7%～96.9%、サルでは 98.0%～98.1%、並びにヒトではいずれも 99.5%であり、濃度に依存した明らかな変化は認められなかった。

2.6.4.4.3 血球への移行

2.6.4.4.3.1 マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトにおける[^{14}C]KLH-2109 の血球移行性（*in vitro*）

添付資料 4.2.2.3.9、4.2.2.3.10

[^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* におけるマウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトの血液/血漿中濃度比（R_b 値）及び血球移行率を評価した。血液に[^{14}C]KLH-2109 を添加し、37°C で 10 分間のインキュベーション後、血液及び血漿中放射能濃度を測定した。また、各血液のヘマトクリット値を測定して、血球移行率を算出した。

[^{14}C]KLH-2109（5、20 及び 100 μg/mL）の R_b 値は、マウスでは 0.56～0.60、ラットでは 0.56～0.59、ウサギでは 0.57～0.61、サルでは 0.63～0.64、並びにヒトでは 0.59～0.60 であり、いずれも濃度に依存した変化は認められなかった。また、[^{14}C]KLH-2109 の血球移行率はいずれも低く、マウスでは 0.0%～5.1%、ラットでは 0.0%～1.1%、ウサギでは 0.2%～6.0%、サルでは 10.1%～11.5%、並びにヒトでは 1.9%～3.7%であった。

2.6.4.4.4 胎盤通過試験

2.6.4.4.4.1 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの胎盤通過性

添付資料 4.2.2.3.2、4.2.2.3.8

妊娠 17 日目及び 13 日目の絶食した妊娠ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与し、それぞれ組織摘出法及び QWBA により胎盤通過性を評価した。妊娠 17 日目の妊娠ラットでは、投与後 2、8、24、48 及び 72 時間、妊娠 13 日目の妊娠ラットでは投与後 2、8、24、72 及び 168 時間の母動物及び胎児組織中の放射能濃度を測定した。さらに、各時点での母動物血液に対する組織中放射能濃度比を算出した。

妊娠 17 日目の妊娠ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したとき、母動物の血漿中放射能濃度は投与後 2 時間において最も高く 23286.0 ng eq./mL であり、投与後 72 時間では 1191.1 ng eq./mL に低下した。多くの母動物組織における放射能濃度は投与後 2 時間に最高濃度を示し、血漿中放射能濃度と同様に低下した。子宮、乳腺及び胎盤では、放射能濃度は投与後 8 時間で最高濃度に達し、その後時間経過に伴って低下した。子宮及び胎盤の組織/血漿中放射能濃度比は投与後 72 時間まで上昇を続け、投与後 72 時間ではそれぞれ 1.55 及び 1.04 であった。乳腺の組織/血漿中放射能比は、すべての時点で 0.20 以下であった。羊水中の放射能濃度は投与後 72 時間まで上昇を続け、投与後 72 時間で最高濃度（羊水/血漿中濃度比：2.26）を示した。

胎児の血液、脳、肝臓、腎臓及び全身の放射能濃度は投与後 2 時間以降に上昇し、投与後 48 時間又は 72 時間で最高濃度を示した。投与後 2～24 時間の胎児の血液、脳、肝臓、腎臓及び全身の放射能濃度は母動物の血漿よりも低かった。投与後 72 時間では、胎児の血液、全身、腎臓、肝臓及び脳の放射能濃度はいずれも最高値であり、組織/母動物血漿中放射能比はそれぞれ 3.45、2.15、1.71、0.72 及び 0.30 であった。胎児 1 匹あたりに分布した放射能は、すべての時点で投与量の 1%未満であった。

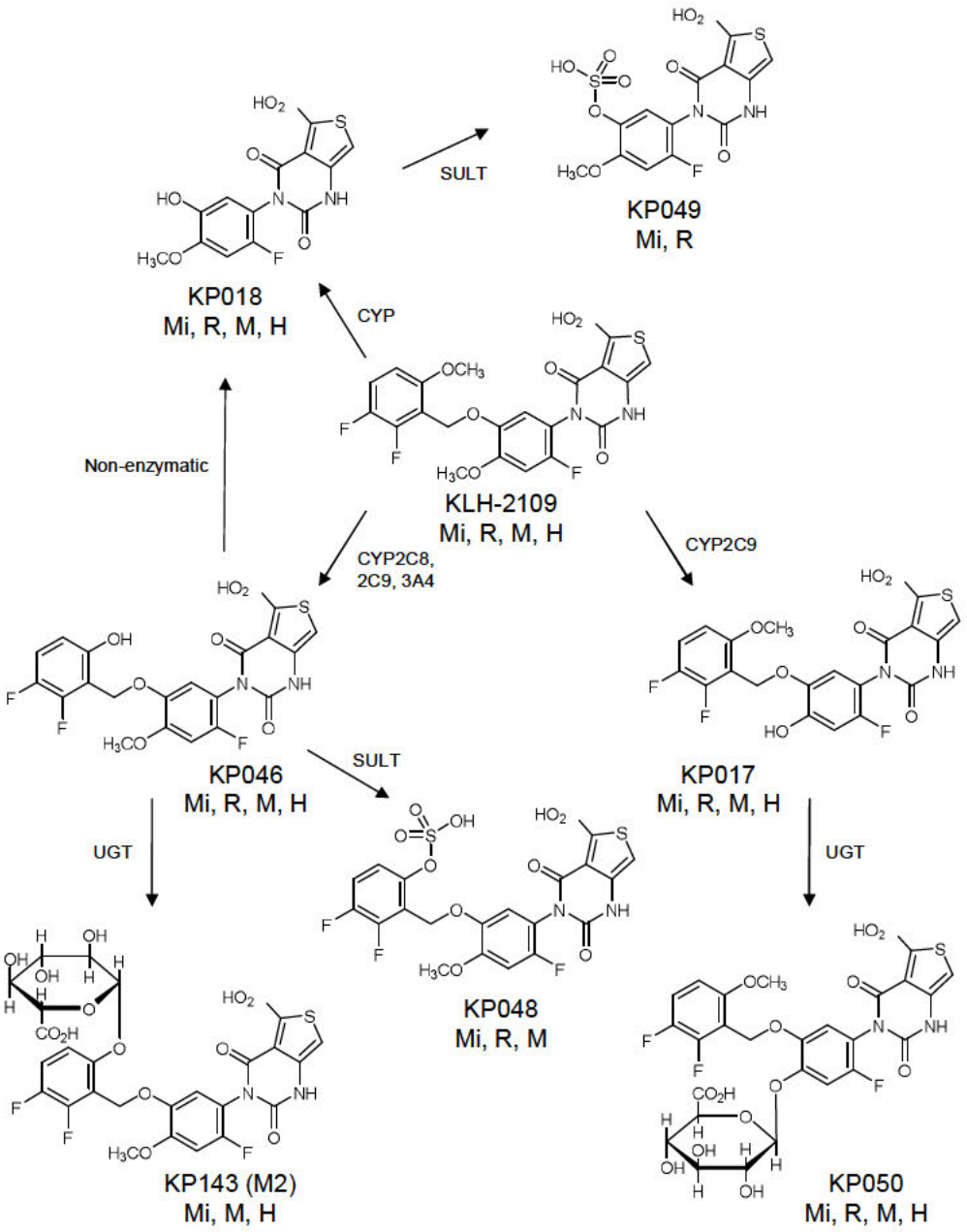
妊娠 13 日目の妊娠ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したとき、母動物の多くの組織中放射能濃度は投与後 2 時間で最高値を示し、血液中放射能濃度の低下に伴い低下した。放射能は胎児に移行し、胎児組織中の放射能は投与後 8 時間以降で検出され、投与後 72 又は 168 時間に最高濃度を示した。投与後 168 時間では、胚膜、胎児、胎盤、羊水、子宮及び胎児組織において放射能が検出された。

妊娠 17 日目及び 13 日目の妊娠ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したとき、放射能は胎盤を通過し、母動物の組織に比べ緩やかに胎児に分布すると考えられた。

2.6.4.5 代謝（動物種間の比較）

2.6.4.5.1 代謝経路

[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を経口投与したマウス、ラット、サル及びヒト生体試料中代謝物検索の結果に基づいた KLH-2109 の代謝経路を図 2.6.4.5.1-1 に示す。



Notes: Mi: mice; R: rats; M: monkeys; H: humans; CYP: cytochrome P450;
SULT: sulfotransferase; UGT: UDP-glucuronosyltransferase.

図 2.6.4.5.1-1　　KLH-2109 の主要な代謝経路

2.6.4.5.2 *In vivo* 代謝試験

2.6.4.5.2.1 マウスにおける代謝物プロファイル

添付資料 4.2.2.4.1

絶食した雌雄マウスに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与し、血漿、肝臓、腎臓、尿、糞及び胆汁中の代謝物プロファイルを確認した。

血漿中では、主に KLH-2109（未変化体）が認められた。また、KP017（*O*-脱メチル体）、KP046（*O*-脱メチル体）、KP018（*O*-脱アルキル体）及び KP050（KP017 のグルクロン酸抱合体）

がわずかに認められた。

肝臓及び腎臓中では主に KLH-2109 が認められた。KP017 は肝臓及び腎臓で検出されたが、KP046 は肝臓でのみ認められた。

尿中では、雄マウスにおいて主に KP017、KP143（KP046 のグルクロン酸抱合体：M2）及び KP018 が認められ、次いで KP046、未知代謝物の M1 及び KP049（KP018 の硫酸抱合体）が認められた。KLH-2109、KP050 及び M6 もわずかに認められた。雌マウスにおいては、主に KP018、KP017、KLH-2109 及び KP050 が認められ、次いで KP046、M1 及び KP049 が認められた。また、KP143（M2）及び M6 もわずかに検出された。

糞中では、主に KLH-2109 が認められ、次いで KP017、M6 及び KP018 が認められた。また、KP046 及び M7 もわずかに検出された。

胆汁中では、主に KLH-2109 が認められ、次いで M9、KP048、KP143（M2）及び KP050 が認められた。M1、KP018、KP046、KP017 及び M6 も検出された。

2.6.4.5.2.2 ラットにおける代謝物プロファイル

添付資料 4.2.2.4.2

絶食した雌雄ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与し、血漿、尿、糞、胆汁、肝臓、腎臓、下垂体、子宮及び卵巣中の代謝物プロファイルを確認した。

血漿中では、主に KLH-2109 が認められ、次いで KP018 及び KP048 が認められた。また、KP049、KP017 及び KP046 がわずかに検出された。

尿中では、雄ラットにおいて主に KP018 及び KP049 が認められ、次いで KP048 が認められた。また、KLH-2109 及び KP046 がわずかに検出された。雌ラットにおいては、主に KP018 及び KLH-2109 が認められ、KP048、KP046、KP017 及び KP049 がわずかに検出された。

糞中では、主に KLH-2109 が認められ、次いで KP018、KP046、KP049 も認められた。また、M6 も認められ、KP017 がわずかに検出された。

胆汁中では、主に KLH-2109 が認められ、次いで KP048、KP018 及び KP046 も認められた。

雄及び雌ラットの肝臓、腎臓及び下垂体、並びに雌ラットの子宮及び卵巣では、主に KLH-2109 が認められ、次いで KP048 及び KP046 も認められた。また、肝臓及び腎臓では KP018 も認められ、雌ラットの腎臓では KP017 も認められた。

2.6.4.5.2.3 サルにおける代謝物プロファイル

添付資料 4.2.2.4.3

絶食した雌サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与し、血漿、尿及び糞中の代謝物プロファイルを確認した。

血漿中では、主に KLH-2109 が認められた。また、KP046、KP018 及び KP017 もわずかに検出された。

尿中では、主に KLH-2109 が認められ、次いで KP018 が認められた。また、投与後 0～8 時間では M12、KP017、KP143（M2）、KP046 及び KP050 が認められ、投与後 8～24 時間では KP017、KP046 及び KP143（M2）が認められた。

糞中では、主に KLH-2109 が認められ、次いで KP018、M11、KP017 及び M6 が認められた。また、KP046 及び M7 も認められた。

2.6.4.5.3 *In vitro* 代謝試験

2.6.4.5.3.1 マウス、ラット、サル及びヒトの凍結肝細胞を用いた[^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* 代謝試験

添付資料 4.2.2.4.4

マウス、ラット、サル及びヒトの凍結肝細胞における[^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* 代謝試験を実施した。肝細胞と[^{14}C]KLH-2109（100 µmol/L）を 37°C で 24 時間インキュベートし、代謝物プロファイルを検討した（表 2.6.4.5.3.1-1）。

表 2.6.4.5.3.1-1　マウス、ラット、サル及びヒトの凍結肝細胞における[^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* 代謝プロファイル

Metabolite	^{14}C-mass $[M-H]^-$ (*m/z*)	Percent of total ^{14}C peak area in chromatogram					Proposed biotransformation
		Mouse	Male rat	Female rat	Monkey	Human	
KP018	353	5.4	0.2	0.5	ND	ND	*O*-dealkylation
KP050	671	4.3[a)]	ND	0.2	1.6[e)]	0.1	Glucuronidation of KP017
M1	683	4.3[a)]	ND	ND	1.6[e)]	ND	Defluorination, mono-oxidation, glucuronidation*
KP143 (M2)	671	ND	ND	ND	0.3	ND	*O*-demethylation, glucuronidation*
M3	587	ND	0.3	ND	0.8[f)]	ND	Defluorination, mono-oxidation, sulfation*
M4	605	1.2	ND	ND	0.8[f)]	ND	Mono-oxidation, sulfation*
M5	605	0.4[b)]	0.7[c)]	1.6[d)]	0.5[g)]	ND	Mono-oxidation, sulfation*
KP048	575	0.4[b)]	0.7[c)]	1.6[d)]	0.5[g)]	ND	Sulfation of KP046**
M6	507	1.4	ND	ND	ND	ND	Defluorination, mono-oxidation*
M7	525	0.5	ND	ND	ND	ND	Mono-oxidation*
M8	525	0.3	ND	0.1	ND	ND	Mono-oxidation*
KP017	495	4.2	0.2	0.6	0.9	0.6	*O*-demethylation
Others		3.6	0.8	0.7	0.9	0.6	
KLH-2109	509	78.8	97.9	96.4	95.0	98.8	Unchanged

試験番号 DMPK[redacted]-0075
[a-g)]：重複ピーク
ND：検出限界未満
*：推定される代謝反応
**：KP046 は KLH-2109 の *O*-脱メチル体

マウス肝細胞において生成した KLH-2109 の代謝物は、KP018、KP050、M1、KP017、M6、M4、M7、KP048、M5 及び M8 であった。雄ラット肝細胞において生成した代謝物は、KP048、M5、M3、KP017 及び KP018 であった。雌ラット肝細胞において生成した代謝物は、KP048、M5、KP017、KP018、KP050 及び M8 であった。サル肝細胞において生成した代謝物は、KP050、M1、KP017、M3、M4、KP048、M5 及び KP143（M2）であった。ヒト肝細胞において生成した代謝物は、KP017 及び KP050 であった。

検討した肝細胞において 5 種類の代謝物（KP017、KP018、KP050、KP048 及び KP143）及び 7 種類の未知代謝物（M1 及び M3～M8）が検出された。ヒト肝細胞においては KP017 が最も多く生成し、この代謝物はすべての動物種の肝細胞で生成された。また、ヒト特異的代謝物は認められなかった。

2.6.4.5.3.2 ヒト肝ミクロソームを用いた[^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* 代謝試験

添付資料 4.2.2.4.5

HLM を用いた *in vitro* 代謝試験を実施し、[^{14}C]KLH-2109 の酸化代謝物生成を確認した。また、酸化代謝物生成への CYP の関与を、分子種非特異的 CYP 阻害薬の ABzT を用いて確認した。

HLM 及び NADPH 存在下で、[^{14}C]KLH-2109（30 µmol/L）を 37°C で 30 分間インキュベーションした。また、HLM 又は NADPH 非存在下においても、同様に反応を行った。

HLM 及び NADPH 存在下では、KP017、KP018、KP046、M6 及び M10 が生成された。HLM 又は NADPH 非存在下では、KP018 が検出された。HLM 及び NADPH 依存的に KP017、KP046、M6 及び M10 は生成し、KP017 が最も多く生成された。KP018 は、[^{14}C]KLH-2109 溶液中にもわずかに認められたため、インキュベーション前から反応溶液中に存在した可能性が高く、HLM 又は NADPH 非存在下でも検出されたと考えられた。その一方で、他の代謝物と同様に HLM 及び NADPH に依存して KP018 の代謝物生成量は増加した。

ABzT 添加又は非添加（コントロール）の条件で反応を行った結果、ABzT 添加により KP017、KP046、M6 及び M10 の生成は減少又は検出不能となり、代謝物生成量はいずれもコントロールに比べ 40%未満であった。また、KP018 の生成も減少した。KP017、KP018 及び KP046 の反応溶液中（pH 7.4）での安定性を確認するため、HLM 非存在下にて KP017、KP018 及び KP046 を 37°C で 0 又は 30 分間インキュベーションした。KP018 及び KP017 には分解は認められず、いずれも安定であった。KP046 は 37°C で 30 分間のインキュベーションにより一部分解され、0 分間のインキュベーションでは認められなかった KP018 が生成された。

以上の結果より、KP017、KP046、M6 及び M10 は CYP により KLH-2109 から生成されると考えられた。また、KP018 は、他の酸化代謝物と同様に CYP により KLH-2109 から生成されるとともに、生理的 pH で KP046 から非酵素的に生成される可能性が示唆された。

2.6.4.5.3.3 KLH-2109 の酸化代謝物生成に関与する CYP 分子種の推定

添付資料 4.2.2.4.6

HLM 及び CYP 分子種に特異的な阻害薬並びに各組換えヒト CYP を用い、KLH-2109 の酸化代謝物である KP018、KP046 及び KP017 生成に関与する CYP 分子種を推定した。[^{14}C]KLH-2109（30 µmol/L）を基質として、酵素反応を 37°C で 30 分間行い、KP018、KP046 及び KP017 の生成を評価した。

HLM を含む反応溶液に各 CYP 阻害薬を添加し、KP018、KP046 及び KP017 生成に及ぼす CYP 阻害薬の影響を評価した。KP018 生成は、モンテルカスト（CYP2C8 阻害薬）、スルファフェナゾール（CYP2C9 阻害薬）及びケトコナゾール（CYP3A4/5 阻害薬）により、それぞれコントロールの 72.8%、84.8%及び 55.0%に低下した。これら以外の CYP 阻害薬では、KP018 生成はコントロールの 92.1%～121.9%であった。KP046 生成は、モンテルカスト、スルファフェナゾール及びケトコナゾールにより、それぞれコントロールの 77.1%、72.7%及び 83.9%に低下した。これら以外の CYP 阻害薬では、KP046 生成はコントロールの 92.4%～116.1%であった。KP017 生成は、スルファフェナゾールによりコントロールの 12.2%に低下した。これ以外の CYP 阻害薬では、KP017 生成はコントロールの 91.1%～107.8%であった。

コントロール（組換えヒト CYP 非検出）、組換えヒト CYP1A2、2A6、2B6、2C8、2C9*1、

2C9*2、2C9*3、2C19、2D6*1、2E1、3A4 又は 3A5 を用いて KP018、KP046 及び KP017 生成を測定した。KP018 生成は、すべての CYP 分子種で認められたが、CYP1A2、2B6 及び 2D6*1 以外ではコントロール未満であった。KP046 生成は、CYP2A6 を除くすべての CYP 分子種で認められ、このうち CYP1A2、2C8、2C9*1、2C9*2、2C9*3、2E1 及び 3A4 では生成活性が高かった。また、CYP2C9*1、2C9*2 及び 2C9*3 では KP046 生成がほぼ同程度であった。KP017 生成は、CYP2A6 及び 2C8 以外の CYP 分子種で確認され、このうち CYP2C9*1、2C9*2 及び 2C9*3 では他の分子種に比して生成活性が高かった。また、CYP2C9*3 の KP017 生成は、CYP2C9*1 及び 2C9*2 における生成活性の約 70%であった。

この組換えヒト CYP を用いた反応では、KP018、KP046 及び KP017 以外に M6 及び M10 も検出された。M6 は CYP1A2、2B6 及び 2D6*1 による生成が顕著であり、M10 は CYP2B6 による生成が顕著であった。

CYP 阻害薬の影響及び組換えヒト CYP における生成活性の結果を考慮し、KP046 は主に CYP2C8、2C9 及び 3A4 により、KP017 は主に CYP2C9 により KLH-2109 から生成されると考えられた。なお、KP018 の生成に関与する主な CYP 分子種については、これらの試験結果から特定することはできなかった。

2.6.4.5.3.4 KLH-2109 の代謝経路への CYP 分子種の寄与

添付資料 4.2.2.4.7、4.2.2.4.8、4.2.2.4.9、4.2.2.4.10

KLH-2109 の代謝経路に関与する CYP2C8、2C9 及び 3A4 の寄与率を明らかとするため、*in vitro* において組換えヒト CYP を用いた固有クリアランスの算出とヒト肝ミクロソームにおける選択的 CYP 阻害薬の阻害作用を詳細に検討した。また、これら *in vitro* 試験結果並びにヒトマスバランス試験における定量的な代謝物プロファイルから、KLH-2109 の代謝経路である KP017 生成経路及び KP046 生成経路における各 CYP 分子種の寄与率を推定した。なお、KP018 生成経路については、関与する主な CYP 分子種を特定できなかったものの CYP2C8、2C9 及び 3A4 は寄与していないことが組換えヒト CYP を用いた *in vitro* 試験結果から示されているため、寄与率の推定に含めなかった。また、KP046 は *in vitro* では非酵素的に分解されることが定性的に示されているが、*in vivo* では分解されず安定して存在することが示唆されたため、分解による KP046 の減少は考慮しなかった。

組換えヒト CYP2C8、2C9 及び 3A4 を用いて、KP017 生成及び KP046 生成への *in vitro* 固有クリアランス（CL_{int}）を算出した。CYP2C8 及び 2C9 の *in vitro* CL_{int} は、それぞれ KP046 及び KP017 生成に対して、顕著に高かった（表 2.6.4.5.3.4-1）。一方、CYP2C8 は KP017 生成には寄与しないと考えられ、CYP2C9 は KP046 生成にわずかに寄与すると考えられた。CYP3A4 は KP017 生成と KP046 生成のいずれもわずかに寄与すると考えられた。

表 2.6.4.5.3.4-1　ヒト組換え CYP2C8、2C9 及び 3A4 における KP017 生成及び KP046 生成の *in vitro* 固有クリアランス

CYP isoform	KP017 formation		KP046 formation	
	in vitro CL_{int} (μL/min/pmol CYP)	*in vitro* CL_{int} ratio[a]	*in vitro* CL_{int} (μL/min/pmol CYP)	*in vitro* CL_{int} ratio[b]
CYP2C8	0.000131	0.00[c]	0.0537	1.00
CYP2C9	0.117	1.00	0.00309	0.06
CYP3A4	0.00341	0.03	0.00106	0.02

試験番号 EDS-DMPK-0043
[a]：CYP2C9 の *in vitro* CL_{int} に対する比率
[b]：CYP2C8 の *in vitro* CL_{int} に対する比率
[c]：数値は 0.002 未満

KP017 生成及び KP046 生成における CYP2C8 及び 2C9 の寄与をさらに明らかにするため、選択的 CYP2C8 阻害薬（モンテルカスト）及び 2C9 阻害薬（スルファフェナゾール）による KP017 生成及び KP046 生成に対する阻害作用を、ヒト肝ミクロソームを用いて確認した。モンテルカスト及びスルファフェナゾールは、それぞれ KP046 生成及び KP017 生成を著しく阻害したが、その一方でそれぞれ KP017 生成及び KP046 生成を顕著には阻害しなかった。これらの結果より、CYP2C8 及び CYP2C9 はほぼ単独でそれぞれ KP046 生成及び KP017 生成に寄与すると考えられた。以上の二つの *in vitro* 試験結果から、CYP2C8 及び CYP2C9 は、*in vivo* においてそれぞれ KP046 生成及び K017 生成にほぼ単独で寄与していると考えられた。

次に、*In vivo* における KLH-2109 の消失経路への CYP2C8、2C9 及び 3A4 の寄与率を推定するため、KP017 生成及び KP046 生成の *in vitro* CL_{int} を *in vivo* 肝固有クリアランス（$CL_{H,\ int}$）及び消化管固有クリアランス（$CL_{G,\ int}$）に換算した（表 2.6.4.5.3.4-2）。ヒトマスバランス試験における KP017 生成量（投与量の 25.35%）及び KP046 の生成量（投与量の 9.66%）と KP017 生成及び KP046 生成における CYP 分子種の $CL_{H,\ int}$ の割合（%$CL_{H,\ int}$）から寄与率を算出した結果、KLH-2109 の代謝経路における CYP2C8、2C9 及び 3A4 の寄与率は、それぞれ 9.0%、24.7% 及び 1.3%と推定された。

表 2.6.4.5.3.4-2　KP017 生成及び KP046 生成への CYP 分子種の寄与率

CYP isoform	KP017 formation				KP046 formation				Contribution *in vivo*[a] (%)
	$CL_{H,\ int}$ (mL/min)	%$CL_{H,\ int}$	$CL_{G,\ int}$ (mL/min)	%$CL_{G,\ int}$	$CL_{H,\ int}$ (mL/min)	%$CL_{H,\ int}$	$CL_{G,\ int}$ (mL/min)	%$CL_{G,\ int}$	
CYP2C8	0.279	0.1	NC[b]	NC[b]	114.4	92.7	NC[b]	NC[b]	9.0
CYP2C9	227	95.8	0.592	88.6	5.97	4.8	0.0156	39.6	24.7
CYP3A4	9.76	4.1	0.0763	11.4	3.04	2.5	0.0238	60.4	1.3
Total	237	100.0	0.668	100.0	123.4	100.0	0.0394	100.0	—

試験番号：EDS-DMPK-0043
$CL_{H,\ int}$：*in vivo* 肝固有クリアランス、$CL_{G,\ int}$：*in vivo* 消化管固有クリアランス、NC：算出せず
[a] *In vivo* における CYP 分子種の寄与は、ヒトマスバランス試験結果から推定される KP017 生成量（25.35%）及び KP046 生成量（9.66%）に、それぞれ KP017 生成及び KP046 生成の CYP 分子種における%$CL_{H,\ int}$ を乗じて合算し、各 CYP 分子種の寄与率を算出した。消化管内代謝は無視できると考え、CYP 分子種寄与率の推定には用いていない。
[b]CYP2C8 は消化管内で発現していないため、$CL_{G,\ int}$ 及び%$CL_{G,\ int}$ は算出しなかった。

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 尿、糞及び胆汁中排泄

2.6.4.6.1.1 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの尿、糞及び胆汁中排泄

添付資料 4.2.2.5.1

ラットにおける KLH-2109 の排泄を検討するため、絶食した雌雄ラット又は胆管カニューレ処置した（BDC）雌ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を単回経口投与し、放射能の排泄を評価した。

絶食した雄ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したとき、投与後 168 時間までの放射能の尿及び糞中累積排泄率はそれぞれ投与放射能の 13.9%及び 73.0%であり、尿及び糞中に排泄された総放射能量は投与放射能の 86.9%であった。投与後 168 時間の屍体に残存した放射能は 10.0%であった。

絶食した雌ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したとき、投与後 168 時間までの放射能の尿及び糞中累積排泄率はそれぞれ投与放射能の 17.7%及び 72.3%であり、尿及び糞中に排泄された総放射能は投与量の 90.0%であった。投与後 168 時間の屍体に残存した放射能は 7.3%であった。

絶食した BDC 雌ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したとき、投与後 48 時間までの放射能の胆汁、尿及び糞中累積排泄率は、それぞれ投与放射能の 58.2%、3.8%及び 9.5%であった。投与後 48 時間における消化管内容物及び屍体中に残存した放射能は、それぞれ 1.8%及び 24.8%であった。尿及び胆汁中排泄率並びに屍体中の残存率から求めた吸収率は、約 87%であった。

以上の結果より、[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を雄及び雌ラットに単回経口投与したとき、投与放射能の約 72%～73%が糞中に、約 14%～18%が尿中に排泄され、放射能の排泄に明らかな性差は認められなかった。BDC 雌ラットでは投与量の約 58%が胆汁中に排泄されたことから、放射能の主な排泄経路は胆汁を介した糞中排泄と考えられた。

2.6.4.6.1.2 サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの尿及び糞中排泄

添付資料 4.2.2.2.3

サルにおける KLH-2109 の排泄を検討するため、[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を絶食した雌サルに単回経口投与し、放射能の排泄を評価した。

雌サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したとき、投与後 168 時間までの放射能の尿中及び糞中累積排泄率は、それぞれ投与放射能の 27.0%及び 72.9%であった。投与後 168 時間までに尿及び糞中へ排泄された総放射能量は投与放射能の 99.9%であった。投与後 168 時間におけるケージ洗浄液中に残存した放射能は 0.4%であった。

以上の結果より、[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を雌サルに単回経口投与したとき、放射能は糞及び尿中にそれぞれ 72.9%及び 27.0%が排泄され、主な排泄経路は糞中と考えられた。また、放射能の BA は高いこと（2.6.4.3.1.3）並びに主な排泄経路が糞中であることを考慮すると、糞中放射能の大部分は胆汁を介して排泄されたと考えられた。

2.6.4.6.1.3 ラットにおける[^{14}C]KLH-2109 コリン塩の腸肝循環

添付資料 4.2.2.5.2

ラットにおける KLH-2109 の腸肝循環を検討するため、[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を絶食した BDC 雌ラットに単回経口投与し投与後 8 時間までに得られた胆汁を、別の BDC 雌ラットの十二指腸内に注入し放射能の排泄を評価した。

注入後 48 時間までの胆汁、尿及び糞中累積排泄率は、それぞれ投与放射能の 61.9%、4.7%及び 16.4%であった。注入後 48 時間の消化管内容物及び屍体中に残存した放射能は、それぞれ投与放射能の 1.9%及び 13.0%であった。

以上の結果より、KLH-2109 は腸肝循環すると考えられ、再吸収率は約 80%と算出された。

2.6.4.6.2 乳汁移行

2.6.4.6.2.1 ラットに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与したときの乳汁移行性

添付資料 4.2.2.5.3

KLH-2109 の乳汁移行性を検討するため、[^{14}C]KLH-2109 コリン塩（3 mg/kg）を哺育ラット（分娩後 8～9 日目）に単回経口投与し、母動物の血漿及び乳汁中放射能濃度を測定した。また、血漿及び乳汁中放射能濃度の PK パラメータを算出した。

血漿中放射能濃度は投与後 2.7 時間に C_{max}（10941.14 ng eq./mL）に達し、25.0 時間の $t_{1/2}$ で低下した。乳汁中放射能濃度は投与後 13.3 時間に C_{max}（1315.66 ng eq./mL）に達し、22.8 時間の $t_{1/2}$ で低下した。乳汁中放射能濃度は、いずれの時点においても血漿中放射能濃度より低く（<0.3 倍）、乳汁中放射能濃度の C_{max}、T_{max} 及び $t_{1/2}$ は、血漿に対しそれぞれ約 0.1 倍、4.9 倍及び 0.9 倍であった。血漿及び乳汁中放射能濃度の $AUC_{0-\infty}$ は、それぞれ 318772 及び 61945 ng eq.•hr/mL であり、血漿に対する乳汁の $AUC_{0-\infty}$ 比は約 0.2 であった。投与した放射能は緩やかに乳汁に移行し、血漿からの消失に伴って乳汁からも消失すると考えられた。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 血漿蛋白結合に対する相互作用

2.6.4.7.1.1 [^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* 血漿蛋白結合に及ぼす薬物の影響

添付資料 4.2.2.6.1

ヒト血漿における[^{14}C]KLH-2109 の蛋白結合に及ぼす各種薬物の影響を、限外ろ過法を用いて評価した（表 2.6.4.7.1.1-1）。評価した薬物は、ヒト血清アルブミンに結合することが知られているワルファリン、ジアゼパム、ジゴキシン、並びに臨床で併用される可能性のある NSAID のイブプロフェン、メフェナム酸、ロキソプロフェン、ジクロフェナク及びインドメタシンとした。

薬物非存在下（コントロール）における[^{14}C]KLH-2109（20 µg/mL）の血漿蛋白結合率は 98.9%であった。ワルファリン、ジアゼパム又はジゴキシン存在下では、[^{14}C]KLH-2109 の血漿蛋白結合率は 98.8%～99.0%であり、[^{14}C]KLH-2109 の血漿蛋白結合に及ぼすこれら薬物の影響は認められなかった。NSAID 存在下では、50 µg/mL のメフェナム酸を添加したときの[^{14}C]KLH-2109 の血漿蛋白結合率は 98.6%であり、非結合形分率がわずかに上昇した（コントロール比：1.3 倍）。10 µg/mL のメフェナム酸又はその他 NSAID の存在下では、血漿蛋白結合

率は 98.8%～98.9%であり、[^{14}C]KLH-2109 の血漿蛋白結合に及ぼす影響は認められなかった。

表 2.6.4.7.1.1-1　[^{14}C]KLH-2109 の *in vitro* 血漿蛋白結合に及ぼす薬物の影響

Drug	Concentration (μg/mL)	Bound (%)	Unbound (%)	Control ratio
Control	(1% DMSO)	98.9	1.1	1.0
Warfarin	3	98.9	1.1	1.0
	15	99.0	1.0	1.0
Diazepam	15	98.9	1.1	1.0
	75	98.8	1.2	1.1
Digoxin	0.005	98.9	1.1	1.0
	0.025	98.9	1.1	1.0
Ibuprofen	50	98.9	1.1	1.0
	250	98.9	1.1	1.1
Mefenamic Acid	10	98.8	1.2	1.1
	50	98.6	1.4	1.3
Loxoprofen	5	98.9	1.1	1.0
	25	98.9	1.1	1.0
Diclofenac	0.5	98.9	1.1	1.0
	2.5	98.9	1.1	1.0
Indomethacin	3	98.9	1.1	1.1
	15	98.8	1.2	1.1

試験番号 DMPK[redacted]-0055
各数値は 3 例の平均値を示す。
[^{14}C]KLH-2109 濃度：20 μg/mL
DMSO：ジメチルスルホキシド

以上の結果より、各種薬物との併用により KLH-2109 の血漿蛋白結合率に起因した薬物相互作用が惹起される可能性は低いと考えられた。

2.6.4.7.1.2 薬物の *in vitro* 血漿蛋白結合に及ぼす KLH-2109 の影響

添付資料 4.2.2.6.2、4.2.2.6.3

各種薬物の血漿蛋白結合に及ぼす KLH-2109 の影響を、限外ろ過法を用いて評価した（表 2.6.4.7.1.2-1）。評価した薬物は、ヒト血清アルブミンに結合することが知られているワルファリン、ジアゼパム及びジゴキシン、並びに臨床で KLH-2109 と併用される可能性のある NSAID のイブプロフェン、ジクロフェナク及びロキソプロフェンとした。

KLH-2109 存在下（20 及び 100 μg/mL）の各薬物の血漿蛋白結合率は、KLH-2109 非存在下（コントロール）とほぼ同等であり、顕著な変動は認められなかった。

表 2.6.4.7.1.2-1　薬物の *in vitro* 血漿蛋白結合に及ぼす KLH-2109 の影響

Drug	KLH-2109 Concentration (μg/mL)	Plasma protein binding		Control ratio
		Bound (%)	Unbound (%)	
[^{14}C]Warfarin (3 μg/mL)	0	99.1	0.9	1.0
	20	99.0	1.0	1.1
	100	98.9	1.1	1.2
[^{14}C]Diazepam (15 μg/mL)	0	96.5	3.5	1.0
	20	96.5	3.5	1.0
	100	96.8	3.2	0.9
[^{3}H]Digoxin (0.005 μg/mL)	0	39.3	60.7	1.0
	20	38.3	61.7	1.0
	100	38.4	61.6	1.0
[^{14}C]Ibuprofen (20 μg/mL)	0	99.2	0.8	1.0
	20	99.2	0.8	1.0
	100	99.2	0.8	1.0
[^{14}C]Diclofenac (0.5 μg/mL)	0	99.4	0.6	1.0
	20	99.3	0.7	1.1
	100	99.3	0.7	1.1
Loxoprofen (5 μg/mL)	0	95.7	4.3	1.0
	20	95.4	4.6	1.1
	100	95.4	4.6	1.1

試験番号 DMPK[redacted]-0061 及び DMPK[redacted]-0049
各数値は 3 例の平均値を示す。

以上の結果より、KLH-2109 との併用により各種薬物の血漿蛋白結合に起因した薬物相互作用が惹起される可能性は低いと考えられた。

2.6.4.7.2 CYP に対する相互作用

2.6.4.7.3 凍結ヒト肝細胞を用いた KLH-2109 の酵素誘導

添付資料 4.2.2.6.4

KLH-2109 の CYP1A2、2B6 及び 3A4/5 誘導能を明らかにするため、3 個体（男性ドナー1 名、女性ドナー2 名）のヒト肝細胞をサンドイッチ培養し、KLH-2109（6、30 及び 150 μmol/L）を 48 時間曝露した。このとき陰性対照として 0.4%アセトニトリルを、陽性対照として 50 μmol/L オメプラゾール（CYP1A2 活性）、1000 μmol/L フェノバルビタール（CYP2B6 活性）及び 10 μmol/L リファンピシン（CYP3A4/5 活性）をヒト肝細胞に曝露した。曝露後の CYP1A2、2B6 及び 3A4/5 活性を測定し、CYP 活性の誘導倍率及び陽性対照に対する割合を算出した。

CYP1A2 活性はオメプラゾールにより陰性対照に比べ 26.2～43.7 倍上昇し、CYP1A2 活性の誘導が認められた。一方、KLH-2109 では 6、30 及び 150 μmol/L のいずれの濃度においても CYP1A2 活性の誘導は認められなかった（陰性対照の 0.7～1.0 倍）。このとき、陽性対照に対する割合は−1.0%～0.1%であった。

CYP2B6 活性は、フェノバルビタールにより陰性対照に比べ 7.6～14.9 倍上昇し、CYP2B6 活性の誘導が認められた。一方、KLH-2109 では、6、30 及び 150 μmol/L のいずれの濃度においても CYP2B6 活性の誘導は認められなかった（陰性対照の 0.6～1.6 倍）。このとき、陽性対照に対する割合は−3.7%～4.7%であった。

CYP3A4/5 活性は、リファンピシンにより陰性対照に比べ 8.4～100.7 倍上昇し、CYP3A4/5 活性の誘導が認められた。6 及び 30 μmol/L の KLH-2109 により CYP3A4/5 活性は陰性対照の 0.9

～4.9 倍を示したが、陽性対照に対する割合は−0.1%～11.2%であった。一方、150 μmol/L の KLH-2109 により CYP3A4/5 活性は陰性対照の 3.2～28.0 倍を示した。また、陽性対照に対する割合は 23.0%～50.3%であり、3 例中 1 例のヒト肝細胞で陽性対照に対する割合が 40%を超える CYP3A4/5 活性の誘導が認められた。

以上の結果より、KLH-2109 はヒト肝細胞において CYP1A2 及び 2B6 を誘導しないこと、並びに 150 μmol/L では CYP3A4/5 に対する誘導能を有することが示唆された。

2.6.4.7.4 ヒト CYP 活性に及ぼす KLH-2109 の影響

添付資料 4.2.2.6.5

ヒト CYP 活性に及ぼす KLH-2109 の可逆的阻害作用及び時間依存的阻害作用を明らかにするため、KLH-2109 存在及び非存在下での HLM における CYP1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1 及び CYP3A4/5 活性（ミダゾラム 1'-水酸化及びテストステロン 6β-水酸化）を測定した。

KLH-2109（30 及び 100 μmol/L）の CYP 活性に対する可逆的阻害作用を検討した。KLH-2109 は CYP2C8 活性を阻害し、いずれの KLH-2109 濃度においても活性残存率は 50%未満であった。よって、別途実施した 0.3～100 μmol/L における活性残存率より CYP2C8 活性に対する KLH-2109 の IC_{50} 値を算出した結果、2.89 μmol/L であった。その他の CYP 活性は、30 μmol/L の KLH-2109 により阻害されず、いずれの活性残存率も 80%超であった。100 μmol/L の KLH-2109 では、CYP2B6、2C9 及び 2D6 活性がそれぞれ約 27%、43%及び 23%低下し阻害される傾向が認められたが、いずれも活性残存率は 50%超であった。また、CYP2B6、2C9 及び 2D6 以外の CYP 活性は 100 μmol/L の KLH-2109 により阻害されず、いずれも活性残存率は 80%超であった。CYP2C8 活性を除き、各 CYP 活性に対する KLH-2109 の IC_{50} 値はいずれも 100 μmol/L 超と考えられた。

KLH-2109（30 及び 100 μmol/L）の CYP 活性に対する時間依存的阻害作用を検討した。NADPH 存在下においては、CYP2C8 活性は 30 μmol/L の KLH-2109 とのプレインキュベーション処理（30 分間）により 21.3%低下し、時間依存的に阻害された。100 μmol/L の KLH-2109 とのプレインキュベーション処理では、CYP2C8 活性に 20%超の低下は認められなかった。一方、その他の CYP 活性はいずれの KLH-2109 濃度においても時間依存的に阻害されなかった。NADPH 非存在下においては、KLH-2109 とのプレインキュベーション処理による CYP 活性の低下は認められなかった。

以上の結果から、KLH-2109 は CYP2C8 活性に対する可逆的阻害作用及び NADPH に依存した時間依存的阻害作用を示した。その他の CYP 活性に対しては、KLH-2109 は可逆的阻害作用及び時間依存的阻害作用を示さなかった。

2.6.4.7.5 CYP2C8 活性に対する KLH-2109 の K_I 及び k_{inact} の算出

添付資料 4.2.2.6.6

KLH-2109 の CYP2C8 活性に対する時間依存的阻害作用について阻害定数（K_I）及び最大不活性化速度定数（k_{inact}）を算出した。

NADPH 存在下 HLM 中で KLH-2109（5～40 μmol/L）を 0、10、20 及び 35 分間プレインキュベーション処理し、CYP2C8 活性を測定した。KLH-2109 は、プレインキュベーション時間依存的に CYP2C8 活性を阻害した。また、この阻害作用は濃度依存的であり、各 KLH-2109 濃度における不活性化速度定数（k_{obs}）を算出した。

KLH-2109 濃度と k_{obs} から算出した CYP2C8 活性に対する K_I 及び k_{inact} は、それぞれ 3.34 μmol/L 及び 0.00639 min^{-1} であった。

2.6.4.7.6 薬物トランスポーターに対する相互作用

2.6.4.7.6.1 P-gp を介したジゴキシン輸送に及ぼす KLH-2109 の影響

添付資料 4.2.2.6.7

KLH-2109 の P-gp を介したジゴキシン輸送に及ぼす影響を検討するため、KLH-2109 存在（30～300 μmol/L）及び非存在下での Caco-2 細胞単層膜における[^{3}H]ジゴキシンの頂側膜側から側底膜側及び側底膜側から頂側膜側の膜透過係数（それぞれ $P_{A/B}$ 及び $P_{B/A}$）を算出し、[^{3}H]ジゴキシン輸送に対する KLH-2109 の阻害率を算出した。

KLH-2109 は、[^{3}H]ジゴキシンの $P_{A/B}$ 及び $P_{B/A}$ に影響を及ぼさなかった。KLH-2109 非存在下での[^{3}H]ジゴキシンの排出比は 15.6 であり、KLH-2109 を 30、100 及び 300 μmol/L 添加したときの排出比はそれぞれ 17.1、18.8 及び 15.6 であった。また、[^{3}H]ジゴキシン輸送に対する阻害率はそれぞれ−8.7%、−20.1%及び−10.5%であり、IC_{50} 値は 300 μmol/L 超と考えられた。

2.6.4.7.6.2 BCRP を介したエストロン 3-サルフェート輸送に及ぼす KLH-2109 の影響

添付資料 4.2.2.6.10

KLH-2109 の BCRP を介したエストロン 3-サルフェート輸送に及ぼす影響を検討するため、KLH-2109 存在（3～300 μmol/L）及び非存在下での Caco-2 細胞単層膜における[^{3}H]エストロン 3-サルフェートの頂側膜側から側底膜側及び側底膜側から頂側膜側の膜透過係数（それぞれ $P_{A/B}$ 及び $P_{B/A}$）を算出し、[^{3}H]エストロン 3-サルフェート輸送に対する KLH-2109 の阻害率を算出した。

KLH-2109 は、[^{3}H]エストロン 3-サルフェートの $P_{A/B}$ 及び $P_{B/A}$ に明らかな影響を及ぼさなかった。KLH-2109 非存在下での[^{3}H]エストロン 3-サルフェートの排出比は 11.6 であり、KLH-2109 を 3、10、30、100 及び 300 μmol/L 添加したときの排出比は、それぞれ 8.68、7.37、7.23、11.7 及び 14.8 であった。また、[^{3}H]エストロン 3-サルフェート輸送に対する阻害率は、それぞれ 27.5%、39.9%、41.2%、−0.9%及び−30.2%であり、IC_{50} 値は 300 μmol/L 超と考えられた。

2.6.4.7.6.3 KLH-2109 の BSEP 輸送活性に及ぼす影響

添付資料 4.2.2.6.8

ヒト BSEP 発現膜ベシクルを用いて、BSEP を介した[^{3}H]タウロコール酸輸送に及ぼす

KLH-2109 の影響について評価した。

KLH-2109 の存在下と非存在下での BSEP を介した[^{3}H]タウロコール酸の取込みを評価した。KLH-2109（0.34、1.03、3.09、9.26、27.78、83.33 及び 250.00 µmol/L）存在下において、残存活性はそれぞれ 106.59%、101.55%、93.29%、94.77%、90.63%、76.70%及び 41.05%であった。BSEP を介した[^{3}H]タウロコール酸の取込みに対する KLH-2109 の IC_{50} 値は 195.1 µmol/L と算出され、KLH-2109 は強い阻害作用を示さなかった。

2.6.4.7.6.4 KLH-2109 の OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K 輸送活性に及ぼす影響

添付資料 4.2.2.6.9、4.2.2.6.10

ヒト SLC トランスポーター（OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K）発現細胞及びコントロール細胞を用いて、KLH-2109 が各 SLC トランスポーターの基質輸送に及ぼす影響について評価した。

KLH-2109 の存在下及び非存在下において、OATP1B1 を介した[^{3}H]エストラジオール 17β-D-グルクロニドの取込みを評価した。KLH-2109（1、3、10、30 及び 100 µmol/L）存在下では、残存活性はそれぞれ 87.4%、72.8%、51.5%、29.8%及び 8.6%であった。OATP1B1 を介した[^{3}H]エストラジオール 17β-D-グルクロニドの取込みに対する KLH-2109 の IC_{50} 値は、11.2 µmol/L と算出された。

KLH-2109 の存在下及び非存在下において、OATP1B3 を介した[^{3}H]エストラジオール 17β-D-グルクロニドの取込みを評価した。KLH-2109（1、3、10、30 及び 100 µmol/L）存在下では、残存活性はそれぞれ 87.5%、75.4%、63.9%、50.8%及び 26.6%であった。OATP1B3 を介した[^{3}H]エストラジオール 17β-D-グルクロニドの取込みに対する KLH-2109 の IC_{50} 値は、32.7 µmol/L と算出された。

KLH-2109 の存在下及び非存在下において OAT1 を介した[^{3}H]p-アミノ馬尿酸の取込みを評価した。KLH-2109（1、3、10、30 及び 100 µmol/L）存在下では、残存活性はそれぞれ 92.5%、99.7%、95.7%、79.3%及び 47.0%であった。OAT1 を介した[^{3}H]p-アミノ馬尿酸の取込みに対する KLH-2109 の IC_{50} 値は 99.9 µmol/L と算出された。

KLH-2109 の存在下及び非存在下における OAT3 を介した[^{3}H]エストロン 3-サルフェートの取込みを評価した。KLH-2109（0.1、0.3、1、3 及び 10 µmol/L）存在下では、残存活性はそれぞれ 69.6%、61.1%、47.4%、26.2%及び 11.2%であった。OAT3 を介した[^{3}H]エストロン 3-サルフェートの取込みに対する KLH-2109 の IC_{50} 値は 0.964 µmol/L と算出された。

KLH-2109 の存在下及び非存在下における OCT2 を介した[^{14}C]メトホルミンの取込みを評価した。KLH-2109（1、3、10、30 及び 100 µmol/L）存在下では、残存活性はそれぞれ 103.1%、106.7%、113.8%、104.9%及び 112.1%であった。すべての濃度において残存活性は 50%を超えていたため、OCT2 を介した[^{14}C]メトホルミンの取込みに対する KLH-2109 の IC_{50} 値は算出されなかった（IC_{50} 値 >100 µmol/L）。

KLH-2109 の存在下及び非存在下における MATE1 を介した[^{14}C]メトホルミンの取込みを評価した。KLH-2109（1、3、10、30 及び 100 µmol/L）存在下では、残存活性はそれぞれ 94.8%、101.4%、97.2%、85.9%及び 79.3%であった。すべての濃度において残存活性は 50%を超えていたため、MATE1 を介した[^{14}C]メトホルミンの取込みに対する KLH-2109 の IC_{50} 値は算出されな

かった（IC_{50} 値 >100 μmol/L）。

KLH-2109 の存在下及び非存在下における MATE2-K を介した[^{14}C]メトホルミンの取込みを評価した。KLH-2109（1、3、10、30 及び 100 μmol/L）存在下では、残存活性はそれぞれ 128.6%、127.5%、130.7%、122.1%及び 119.6%であった。すべての濃度において残存活性は 50%を超えていたため、MATE2-K を介した[^{14}C]メトホルミンの取込みに対する KLH-2109 の IC_{50} 値は算出されなかった（IC_{50} 値 >100 μmol/L）。

KLH-2109 は OATP1B1、OATP1B3、OAT1 及び OAT3 を介した典型基質の取込みを濃度依存的に阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 11.2、32.7、99.9 及び 0.964 μmol/L であった。一方、KLH-2109 は OCT2、MATE1 及び MATE2-K を介した典型基質の取込みに影響を及ぼさなかった（IC_{50} 値 >100 μmol/L）。

2.6.4.7.6.5 KLH-2109 が薬物トランスポーターの基質となる可能性の評価

添付資料 4.2.2.6.10

KLH-2109 がヒトの薬物トランスポーター（P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K）の基質となる可能性を、薬物トランスポーター発現細胞及びコントロール細胞を用いて評価した。

P-gp に対する KLH-2109 の基質評価の結果、[^{14}C]KLH-2109（10、30、100 及び 300 μmol/L）の NFR は、それぞれ 1.92、1.53、2.13 及び 1.82 であった。コントロール細胞における $P_{A/B}$ のバラツキに起因して 100 μmol/L における NFR が 2.13 と算出されたが、その他濃度の NFR は 2 未満であった。また、10 μmol/L における NFR は P-gp 阻害薬であるベラパミル存在下では顕著に低下せず、阻害率は 43.5%であった。以上の結果より、KLH-2109 は P-gp の基質ではないと考えられた。

BCRP に対する KLH-2109 の基質評価の結果、[^{14}C]KLH-2109（10、30 及び 100 μmol/L）の NFR は、それぞれ 2.30、1.45 及び 1.61 であった。10 μmol/L における NFR はコントロール細胞の $P_{A/B}$ 及び $P_{B/A}$ に起因して 2.30 と算出されたが、その他濃度の NFR は 2 未満であった。BCRP 阻害薬である Ko143 の存在下では 10 μmol/L の[^{14}C]KLH-2109 の NFR は減少し、阻害率は 60.0%であった。しかしながら、BCRP を介した[^{3}H]プラゾシン輸送とは異なり、Ko143 存在下での[^{14}C]KLH-2109 の $P_{A/B}$ 値は低下せず、Ko143 非存在下の値とほぼ同等であった。これらの結果より、KLH-2109 が 100 μmol/L までは BCRP の基質ではないと考えられた。300 μmol/L における NFR は 4.08 であり、300 μmol/L においては KLH-2109 が BCRP の基質となる可能性があることが示唆された。

OATP1B1 に対する KLH-2109 の基質評価の結果、OATP1B1 発現細胞における[^{14}C]KLH-2109（10 及び 30 μmol/L）の取込みは、いずれの濃度においてもコントロール細胞よりも高く、UR は 2 以上（4.60～8.04）であった。また、[^{14}C]KLH-2109 の取込みに対し OATP1B1/1B3 阻害薬であるリファンピシンの阻害作用が認められた（阻害率：91.3%～97.6%）。以上の結果より、KLH-2109 は OATP1B1 の基質であると考えられた。

OATP1B3 に対する KLH-2109 の基質評価の結果、OATP1B3 発現細胞における[^{14}C]KLH-2109（10 及び 30 μmol/L）の取込みは、いずれの濃度においてもコントロール細胞よりも高く、UR は 2 以上（11.5～18.3）であった。また、[^{14}C]KLH-2109 の取込みに対しリファンピシンの阻害作用が認められた（阻害率：89.0%～90.4%）。以上の結果より、KLH-2109 は OATP1B3 の基質

であると考えられた。

OAT1 に対する KLH-2109 の基質評価の結果、OAT1 発現細胞における[^{14}C]KLH-2109（10 及び 30 μmol/L）の取込みは、いずれの濃度においてもコントロール細胞における取込みとほぼ同等であり、UR は 2 未満（0.855～1.16）であった。[^{14}C]KLH-2109 の取込みに対する OAT1/3 阻害薬であるプロベネシドの及ぼす影響を評価し阻害率が算出されたが、UR は 2 未満であるため、この阻害率から OAT1 に対する KLH-2109 の基質性は判断できないと考えられた。以上の結果より、KLH-2109 は OAT1 の基質ではないと考えられた。

OAT3 に対する KLH-2109 の基質評価の結果、OAT3 発現細胞における[^{14}C]KLH-2109（10 及び 30 μmol/L）の取込みはいずれの濃度においてもコントロール細胞よりも高く、UR は 1.11～2.75 であり、KLH-2109 が OAT3 によって輸送されることが示唆された。また、[^{14}C]KLH-2109 の取込みに対しプロベネシドの阻害作用が認められた（阻害率：60.0%～80.2%）。以上の結果より、KLH-2109 は OAT3 の基質であると考えられた。

OCT2 に対する KLH-2109 の基質評価の結果、OCT2 発現細胞における[^{14}C]KLH-2109（10 及び 30 μmol/L）の取込みは、いずれの濃度においてもコントロール細胞における取込みとほぼ同等であり、UR は 2 未満（0.695～1.16）であった。[^{14}C]KLH-2109 の取込みに対する OCT2 阻害薬であるキニジンの及ぼす影響を評価し阻害率が算出されたが、UR は 2 未満であるため、この阻害率から OCT2 に対する KLH-2109 の基質性は判断できないと考えられた。以上の結果より、KLH-2109 は OCT2 の基質ではないと考えられた。

MATE1 に対する KLH-2109 の基質評価の結果、MATE1 発現細胞における[^{14}C]KLH-2109（10 及び 30 μmol/L）の取込みは、いずれの濃度においてもコントロール細胞における取込みと大きく変わらず、UR は 2 未満（1.22～1.60）であった。[^{14}C]KLH-2109 の取込みに対する MATE1/2-K 阻害薬であるピリメタミンの及ぼす影響を評価し阻害率が算出されたが、UR は 2 未満であるため、この阻害率から MATE1 に対する KLH-2109 の基質性は判断できないと考えられた。以上の結果より、KLH-2109 は MATE1 の基質ではないと考えられた。

MATE2-K に対する KLH-2109 の基質評価の結果、MATE2-K 発現細胞における[^{14}C]KLH-2109（10 及び 30 μmol/L）の取込みは、いずれの濃度においてもコントロール細胞における取込みと大きく変わらず、UR は 2 未満（1.44～1.97）であった。[^{14}C]KLH-2109 の取込みに対するピリメタミンの及ぼす影響を評価し阻害率が算出されたが、UR は 2 未満であるため、この阻害率から MATE2-K に対する KLH-2109 の基質性は判断できないと考えられた。以上の結果より、KLH-2109 は MATE2-K の基質ではないと考えられた。

KLH-2109 は OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3 の基質であるが、P-gp、OAT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質ではなかった。BCRP に関しては、KLH-2109 は 300 μmol/L において基質となる可能性が認められたものの、低濃度（10～100 μmol/L）では BCRP の基質ではなかった。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

その他の非臨床薬物動態試験は実施されていない。

2.6.4.9 考察及び結論

KLH-2109 の吸収、分布、代謝、排泄及び薬物動態学的薬物相互作用を明らかにするために *in vivo* 及び *in vitro* 試験を実施し、得られた結果は KLH-2109 の薬物動態を十分に考察できるも

のと考えられた。

ラットに KLH-2109 コリン塩を単回経口投与（1～30 mg/kg）したとき、KLH-2109 は速やかに吸収され投与後 0.4～1.1 時間に C_{max}（3680.79～102635.94 ng/mL）に達し、9.9～14.3 時間の $t_{1/2}$ で消失した。また、C_{max} 及び AUC の曝露量は、ほぼ用量に比例して増加した。ラットにおける KLH-2109 の血中動態は食餌による影響が認められたが、明らかな性差は認められなかった。ラットに単回静脈内投与したとき、Vd_{ss} は小さく（約 0.3 L/kg）、CL_{tot} は低かった（0.03 L/hr/kg 未満）。雄及び雌ラットにおける KLH-2109 の BA は、それぞれ 111%及び 120%であった。ラットにおける KP017 の曝露量は KLH-2109 の 0.4%未満であり、極めて低かった。KLH-2109 はラット消化管のすべての部位から吸収され、主に十二指腸及び空腸から吸収されると考えられた。

サルに[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与（3 mg/kg）したとき、KLH-2109 は速やかに吸収され投与後 2.0 時間に C_{max}（14249.07 ng/mL）に達し、7.4 時間の $t_{1/2}$ で消失した。サルに単回静脈内投与したとき、ラットと同様に Vd_{ss} は小さく（0.2 L/kg 未満）、CL_{tot} は低かった（0.02 L/hr/kg 未満）。サルにおける BA は 86%であった。KLH-2109 と放射能の AUC 比から、KLH-2109 は循環血中の薬物関連物質の 96%を占めることが示された。KP017 の曝露量は少なく、放射能の 1%以下であった。

KLH-2109 コリン塩を、マウスに 13 週間（40～1500 mg/kg/日）、ラットに 4 週間（20～2000 mg/kg/日）、13 週間（50～1500 mg/kg/日）及び 26 週間（50～1000 mg/kg/日）、イヌに 2 及び 4 週間（10～1000 mg/kg/日）、並びにサルに 4、13 及び 39 週間（10～1000 mg/kg/日）反復経口投与したとき、血漿中 KLH-2109 濃度の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は投与量の増加に伴い増加し、反復投与による明らかな影響は認められなかった。また、顕著な性差は認められなかった。

マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトのいずれの動物種においても、KLH-2109 の血漿蛋白結合率は高く（94%以上）、濃度に依存した明らかな変化は認められなかった。ヒトの血漿蛋白質のうち、KLH-2109 の主要な結合蛋白種はアルブミンであった。KP017 についても、KLH-2109 と同様に血漿蛋白結合率は高かった（96%以上）。また、KLH-2109 はいずれの動物種においても、ほぼ血球に移行しなかった。

[^{14}C]KLH-2109 コリン塩を単回経口投与し、非有色及び有色ラット並びに妊娠ラットにおいて組織分布を評価した。ラット組織への異常な分布や残留性は認められず、ほとんどの組織中放射能濃度は血漿又は血液よりも低く、特に中枢神経系への分布は低かった。有色ラットにおいても、組織中放射能濃度は血漿中放射能濃度とともに低下し、メラニン含有組織に放射能は残留しなかったため、KLH-2109 及び/又は代謝物にはメラニン親和性はないと考えられた。妊娠ラットにおいて胎児組織に放射能が検出されたことから、KLH-2109 及び/又は代謝物は胎盤を通過し、胎児へ移行すると考えられた。

マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞を用いた代謝試験では、すべての肝細胞において KP017（*O*-脱メチル体）及び KP050（KP017 のグルクロン酸抱合体）が認められた。ヒト肝細胞では、KP017 及び KP050 のみが検出された。ヒト肝ミクロソームを用いたときは、KP017、KP018（*O*-脱アルキル体）及び KP046（*O*-脱メチル体）の生成が主に認められた。KP017、KP018 及び KP046 を生成する CYP 分子種を推定した結果、KP017 は主に CYP2C9 により生成され、KP046 は主に CYP2C8、2C9 及び 3A4 により生成された。KP018 は CYP により生成す

るとともに、生理的 pH において KP046 から非酵素的に生成される可能性が示唆された。KLH-2109 は CYP により代謝され、主に CYP2C8、2C9 及び 3A4 が関与し、寄与率はそれぞれ 9.0%、24.7%及び 1.3%と推定された。

マウスにおける代謝試験において、血漿、肝臓及び腎臓では主に KLH-2109 が認められた。また、血漿中には KP017、KP046、KP018 及び KP050 がわずかに認められた。肝臓においては KP017 及び KP046 が認められ、腎臓では KP017 が認められた。尿中では KP017 及び KP018 が多く存在し、KLH-2109、KP046、KP049（KP018 の硫酸抱合体）、KP050、KP143（KP046 のグルクロン酸抱合体：M2）、未知代謝物の M1 及び M6 も認められた。糞中では、KLH-2109 が主に認められ、次いで KP017、M6 及び KP018 が認められた。また、KP046 及び M7 もわずかに検出された。胆汁中では、主に KLH-2109 が認められ、次いで M9、KP048（KP046 の硫酸抱合体）、KP143（M2）及び KP050 が認められた。M1、KP018、KP046、KP017 及び M6 も検出された。マウスにおける KLH-2109 の代謝には明らかな性差は認められなかった。

ラットにおける代謝試験において、血漿中では主に KLH-2109、KP018 及び KP048 が認められ、KP017、KP046 及び KP049 もわずかに認められた。作用部位である下垂体には KLH-2109 が主に認められ、KP048 及び KP046 も認められた。

また、肝臓及び腎臓中では KP018 も認められた。雄ラットの尿中には、KP018、KP049 及び KP048 が主に認められ、KLH-2109 及び KP046 はわずかに認められた。一方、雌ラットの尿中には、KLH-2109 及び KP018 が主に認められ、KP017、KP046、KP048 及び KP049 はわずかに認められた。糞中には、KLH-2109 が主に認められ、次いで KP018、KP046、KP049 も認められた。また、M6 も認められ、KP017 がわずかに検出された。胆汁中においても主に KLH-2109 が認められ、KP018、KP046 及び KP048 も認められた。

サルにおける代謝試験において、血漿及び尿中では主に KLH-2109 が認められ、KP017、KP018 及び KP046 もわずかに認められた。その他、尿中では KP050、KP143（M2）及び M12 もわずかに認められた。糞中においても KLH-2109 が主に認められ、KP018、KP017、KP046、M6、M7 及び M11 も認められた。

ラットにおいて、投与された放射能は糞中に約 70%が排泄され、尿中には約 14～18%が排泄されたことから、主な排泄経路は糞中と考えられた。また、胆管カニューレ処置したラットでは、投与放射能の約 87%が吸収され、約 58%が胆汁中に排泄されたことから、KLH-2109 の主な排泄経路は、胆汁を介した糞中排泄と考えられた。胆汁中には主に KLH-2109 として存在し、かつ胆汁に排泄された放射能は約 80%が再吸収されることから、KLH-2109 は腸肝循環すると考えられた。サルにおいても、糞中及び尿中への排泄はそれぞれ投与放射能の約 73%及び約 27%であり、主な排泄経路は糞中と考えられた。哺育ラットにおいて投与した放射能が乳汁中に検出されたことから、KLH-2109 及び/又は代謝物は乳汁移行性を有すると考えられた。

血漿蛋白結合に起因して薬物相互作用が生じる可能性について、*in vitro* 試験において評価した。ヒト血清アルブミンと結合することが知られている薬物及び臨床で併用の可能性がある NSAID は、KLH-2109 の血漿蛋白結合に影響を及ぼさなかった。また、KLH-2109 はそれら薬物の血漿蛋白結合に影響を及ぼさなかった。

In vitro において、KLH-2109 は高濃度（150 μmol/L）では CYP3A4/5 活性を誘導し、CYP2C8 活性に対して可逆的阻害作用（IC_{50} 値：2.89 μmol/L）及び時間依存的阻害作用（K_I：

3.34 μmol/L、k_{inact}：0.00639 min^{-1}）を示した。また、主要な薬物トランスポーターに関して、KLH-2109 は OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3 の基質であり、OATP1B1 及び OAT3 を介した基質輸送を阻害し IC_{50} 値はそれぞれ 11.2 及び 0.964 μmol/L であった。

2.6.4.10 図表

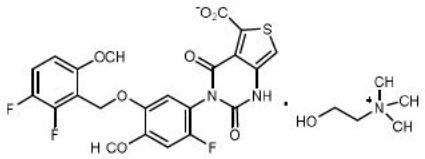
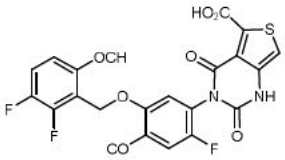
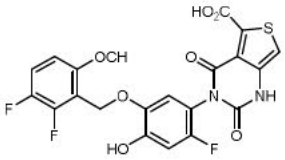
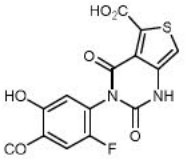
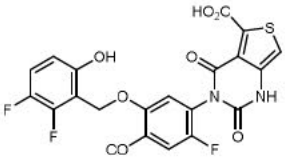
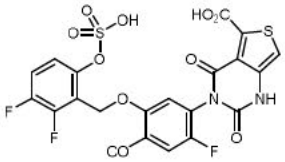
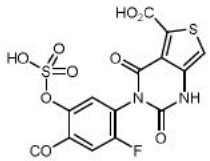
図表は、本文中の適切な箇所に記載した。

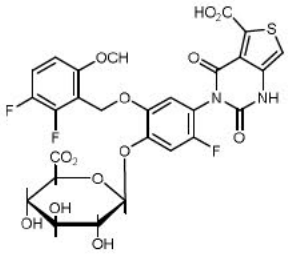
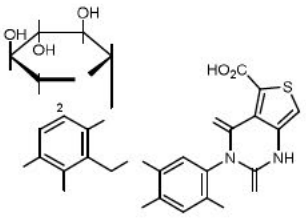
目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 6
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 6
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 9
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 10
2.6.5.3.1 ラット：標識体投与 10
2.6.5.3.2 ラット：非標識体投与 11
2.6.5.3.3 サル：標識体投与 13
2.6.5.3.4 ラット：標識体投与：消化管吸収部位 15
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 16
2.6.5.4.1 マウス、ラット、イヌ及びサル：非標識体投与（TK） 16
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 17
2.6.5.5.1 ラット: 標識体単回投与：組織摘出法 17
2.6.5.5.2 ラット（有色）：標識体単回投与：組織摘出法 20
2.6.5.5.3 ラット（有色）：標識体単回投与：QWBA 21
2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合 23
2.6.5.6.1 血漿蛋白結合及び結合蛋白種（*In Vitro*）：標識体 23
2.6.5.6.2 血漿蛋白結合（*In Vitro*）：非標識体 24
2.6.5.6.3 KP017 の血漿蛋白結合（*In Vitro*）：非標識体 25
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 26
2.6.5.7.1 妊娠ラット：標識体単回投与：胎盤通過性（妊娠 17 日目） 26
2.6.5.7.2 妊娠ラット：標識体単回投与：胎盤通過性（妊娠 13 日目） 28
2.6.5.7.3 ラット：標識体単回経口投与：乳汁移行性 30
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 31
2.6.5.8.1 血球移行性（*In Vitro*） 31
2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 32
2.6.5.9.1 マウス：標識体単回投与：生体試料中代謝物 32
2.6.5.9.2 ラット：標識体単回投与：生体試料中代謝物 34
2.6.5.9.3 サル：標識体単回投与：生体試料中代謝物 36
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 38
2.6.5.10.1 凍結肝細胞を用いた代謝 38
2.6.5.10.2 ヒト肝ミクロソームを用いた代謝 39
2.6.5.10.3 ヒト CYP 分子種の推定 40
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 41
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 42

2.6.5.12.1 凍結ヒト肝細胞を用いた酵素誘導 42
2.6.5.12.2 ヒト CYP 活性に及ぼす影響 43
2.6.5.12.3 CYP2C8 活性の時間依存的阻害 44
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 45
2.6.5.13.1 ラット：標識体単回投与：尿及び糞中排泄 45
2.6.5.13.2 サル：標識体単回投与：尿及び糞中排泄 46
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 47
2.6.5.14.1 ラット：標識体単回投与：胆汁中排泄 47
2.6.5.14.2 ラット：標識体単回投与：腸肝循環 48
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 49
2.6.5.15.1 血漿蛋白結合に及ぼす薬物の影響 49
2.6.5.15.2 薬物の血漿蛋白結合に及ぼす影響 50
2.6.5.15.3 P-gp を介したジゴキシン輸送に及ぼす影響 51
2.6.5.15.4 BSEP 輸送活性に及ぼす影響 52
2.6.5.15.5 SLC トランスポーター（OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2）輸送活性に及ぼす影響 53
2.6.5.15.6 P-gp、BCRP 及び SLC トランスポーター基質性評価並びに BCRP、MATE1 及び MATE2-K 輸送活性に及ぼす影響 54
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 55

化合物一覧

略号・一般名	化学名	構造式	由来
KLH-2109 コリン塩 (KLH-2109 Choline) リンザゴリクスコリン (Linzagolix Choline)	2-Hydroxy-*N*,*N*,*N*-trimethylethanaminium 3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylate		原薬
KLH-2109	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		原薬のフリー体 (未変化体)
KP017	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-hydroxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP018	3-(2-fluoro-5-hydroxy-4-methoxyphenyl)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP046	3-{5-[(2,3-difluoro-6-hydroxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP048	3-(5-{[2,3-difluoro-6-(sulfooxy)phenyl]methoxy}-2-fluoro-4-methoxyphenyl)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP049	3-[2-fluoro-4-methoxy-5-(sulfooxy)phenyl]-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物

略号・一般名	化学名	構造式	由来
KP050	4-(5-carboxy-2,4-dioxo-1,2-dihydrothieno[3,4-*d*]pyrimidin-3(4*H*)-yl)-2-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-5-fluorophenyl β-D-glucopyranosiduronic acid		代謝物
KP143	2-{[5-(5-carboxy-2,4-dioxo-1,2-dihydrothieno[3,4-*d*]pyrimidin-3(4*H*)-yl)-4-fluoro-2-methoxyphenoxy]methyl}-3,4-difluorophenyl β-D-glucopyranosiduronic acid		代謝物

略号一覧

略号	略していない表現	内容
[^{14}C]	Carbon 14 labeled	炭素 14 標識
[^{3}H]	Tritium labeled	トリチウム標識
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度–時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24}$	Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours	0～24 時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	Area under the concentration-time curve from time 0 to infinity	0～無限大時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	Area under the concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration	投与後 0 時間から最終定量可能時間までの濃度–時間曲線下面積
BA	Bioavailability	バイオアベイラビリティ
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳がん耐性蛋白質
BSEP	Bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
Caco-2	human colon adenocarcinoma cell lines	ヒト結腸がん由来の細胞株
CL_{tot}	Total body clearance	全身クリアランス
C_{max}	Maximum concentration	最高濃度
CYP	Cytochrome P450	シトクロム P450
Da	Dalton	ダルトン
eq.	equivalent	当量
F	Female	雌
HLM	Human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
HPLC	High performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフ法
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
K_I	Inhibition constant	阻害定数（k_{inact} が 50%となる濃度）
k_{inact}	Maximum inactivation rate constant	最大不活性化速度定数
k_{obs}	Inactivation rate constant	不活性化速度定数
LC-MS/MS	Liquid chromatography/tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析法
LE	Long Evans	—
LSC	Liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数法
M	Male	雄
m/z	Mass to charge ratio	質量電荷比
MATE	Multidrug and toxin extrusion	多剤及び毒素排出
MBq	Megabecquerel	メガベクレル
MRT	Mean residence time	平均滞留時間

略号	略していない表現	内容
NADPH	β-Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-Phosphate reduced	還元型 β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド 2'-リン酸
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
$P_{A/B}$	Apparent permeability of apical side to basolateral side	頂端膜側から側底膜側への見かけの透過係数
P_{app}	Apparent permeability coefficient	見かけの透過係数
$P_{B/A}$	Apparent permeability of basolateral side to apical side	側底膜側から頂端膜側への見かけの透過係数
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PK	Pharmacokinetic (s)	薬物動態学（的）
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
SD	Sprague-Dawley	—
$t_{1/2}$	half-life	半減期
T_{max}	Time of maximum concentration	最大濃度到達時間
Vd_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態の分布容積
V_z/F	Apparent volume of distribution during terminal phase after oral administration	経口投与時の終末相における見かけの分布容積

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Absorption					
Plasma concentration of radioactivity after single oral and intravenous administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats.	Rat	Oral/Intravenous	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0024	4.2.2.2.1
Plasma concentration of KLH-2109 and KP017 after single oral and intravenous administration of KLH-2109 choline to rats.	Rat	Oral/Intravenous	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0036	4.2.2.2.2
Absorption and excretion after single oral and intravenous administration of KLH-2109 choline in monkeys.	Monkey	Oral/Intravenous	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.3
Absorption site of [^{14}C]KLH-2109 choline in rat gastrointestinal tracts.	Rat	Injection in the gastrointestinal loop	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0024	4.2.2.2.4
Distribution					
Tissue distribution of radioactivity after a single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats.	Rat	Oral	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0045	4.2.2.3.1
Autoradiography after single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats.	Rat	Oral	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.2
Distribution of radioactivity in the melaniferous tissues after a single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 to choline female pigmented rats.	Rat (pigmented rat)	Oral	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0043	4.2.2.3.3
Autoradiography after a single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to female pigmented rats.	Rat (pigmented rat)	Oral	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.4
In vitro plasma protein binding of [^{14}C]KLH-2109 choline in mouse, rat, rabbit, monkey, and human.	Mouse, rat, rabbit, monkey, and human plasma Purified human plasma protein	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0070	4.2.2.3.5
In vitro plasma protein binding of KLH-2109 in mouse, rat, rabbit, monkey, and human.	Mouse, rat, rabbit, monkey, and human	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0065	4.2.2.3.6
In vitro plasma protein binding of KP017 in mice, rats, rabbits, monkeys, and humans.	Mouse, rat, rabbit, monkey, and human plasma	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0011	4.2.2.3.7
Placental transfer after a single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats.	Rat (pregnant rat Day 17 of gestation)	Oral	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0078	4.2.2.3.8
Placental transfer after a single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats.	Rat (pregnant rat Day 13 of gestation)	Oral	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.2
In vitro blood cell association of [^{14}C]KLH-2109 in mouse, rat, rabbit, and monkey.	Mouse, rat, rabbit, and monkey blood	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0041	4.2.2.3.9

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
In vitro blood cell association of [^{14}C]KLH-2109 in human.	Human blood	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0007	4.2.2.3.10
Metabolism					
Metabolite profiling of [^{14}C]KLH-2109 choline in mice after a single oral administration.	Mouse	Oral	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0042	4.2.2.4.1
Metabolite profiling of [^{14}C]KLH-2109 choline in rats after a single oral administration.	Rat	Oral	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0077	4.2.2.4.2
Metabolite profiling of [^{14}C]KLH-2109 choline in monkeys after a single oral administration.	Monkey	Oral	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0034	4.2.2.4.3
In vitro metabolism study of [^{14}C]KLH-2109 in cryopreserved hepatocytes of mice, rats, monkeys, and humans.	Hepatocytes of mouse, rat, monkey and human.	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0075	4.2.2.4.4
In vitro metabolism study of [^{14}C]KLH-2109 with human liver microsomes.	Human liver microsomes	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0003	4.2.2.4.5
Reaction-phenotyping of CYP isoforms responsible for metabolism of KLH-2109	Human liver microsomes Recombinant human CYPs	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0027	4.2.2.4.6
Excretion					
Excretion of radioactivity in urine and feces after administration of [^{14}C]KLH-2109 choline in rats.	Rat	Oral	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.1
Absorption and excretion after single administration of [^{14}C]KLH-2109 choline in monkeys.	Monkey	Oral	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.3
Excretion of radioactivity in bile after administration of [^{14}C]KLH-2109 choline in rats.	Rat (bile duct cannulated)	Oral	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.1
Enterohepatic circulation of [^{14}C]KLH-2109 choline in rats.	Rat (bile duct cannulated)	Oral/ Intraduodenal injection	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.2
Lacteal transfer after a single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats.	Rat (lactating rat)	Oral	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0081	4.2.2.5.3
Pharmacokinetic Drug Interactions					
Effects of drugs (warfarin, diazepam, digoxin, ibuprofen, mefenamic acid, loxoprofen, diclofenac, and indomethacin) on *in vitro* plasma protein binding of [^{14}C]KLH-2109.	Human plasma	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0055	4.2.2.6.1
Effects of KLH-2109 on *in vitro* plasma protein binding of the drugs ([^{14}C]warfarin, [^{14}C]diazepam, [^{3}H]digoxin, [^{14}C]ibuprofen, [^{14}C]diclofenac).	Human plasma	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0061	4.2.2.6.2

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Effects of KLH-2109 on *in vitro* plasma protein binding of loxoprofen.	Human plasma	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0049	4.2.2.6.3
Enzyme induction with KLH-2109 using cryopreserved human hepatocytes.	Human hepatocytes	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0052	4.2.2.6.4
Effects of KLH-2109 on cytochrome P450 activities.	Human liver microsomes	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0064	4.2.2.6.5
Estimation of K_I and k_{inact} of KLH-2109 for CYP2C8 activity.	Human liver microsomes	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0055	4.2.2.6.6
Effects of KLH-2109 on P-glycoprotein-mediated transport of digoxin using Caco-2 cell monolayers.	Caco-2 cell monolayers	*In vitro*	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	DMPK[redacted]-0015	4.2.2.6.7
In vitro interaction studies of KLH-2109 with the human BSEP efflux (ABC) transporter.	Human BSEP expressed cell membrane vesicles	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.8
Inhibitory effects of KLH-2109 on the transport activity of OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, and OCT2 using transporter expressing cells.	Human solute carrier transporter expressing cells	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.9
Assessment of KLH-2109 as substrate (P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, MATE1, and MATE2-K) and inhibitor (BCRP, MATE1, and MATE2-K) of drug transporters.	Human solute carrier transporter expressing cells Caco-2 cell monolayers	*In vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.10

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

分析方法及びバリデーション試験は、2.6.4.2 に記載した。

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3.1 ラット：標識体投与

Study Title: Plasma concentration of radioactivity after single oral and intravenous administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.2.1
Study Number: DMPK[redacted]-0024

Species:	Rat/ Crl:CD (SD)
Gender (M/F)/Number of animals:	M/6 and F/18 (3 animals per group)
Feeding condition:	Fed and fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution (Oral); saline (Intravenous)
Method of Administration:	Oral (gavage); Intravenous
Dose (mg/kg):	1, 3, 10, and 30 (Oral); 3 (Intravenous)
Sample:	Plasma
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Specific activity:	3.34 MBq/mg
Assay:	LSC

	F fasted	F fasted	F fed	M fasted	F fasted	F fasted	F fasted	M fasted
Route of administration	Oral						Intravenous	
Dose (mg/kg)	1	3	3	3	10	30	3	3
PK parameters								
C_{max} (µg eq./mL)	8.03	19.41	14.39	17.02	59.25	160.84	NA	NA
T_{max} (hr)	2.3	1.7	3.3	1.7	1.1	1.0	NA	NA
$t_{1/2}$ (hr)	41.4	39.7	42.1	55.0	40.1	36.3	40.7	59.5
AUC_{0-t} (µg eq.•hr /mL)	210	436	582	423	1146	3888	469	664
$AUC_{0-\infty}$ (µg eq.•hr /mL)	256	527	738	572	1361	4532	567	940
CL_{tot} (mL/hr/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.51	3.32
MRT_{0-t} (hr)	28.0	25.9	33.4	30.2	25.5	26.9	27.6	32.6
$MRT_{0-\infty}$ (hr)	51.0	45.8	59.3	67.9	45.3	44.1	49.0	76.1
Vd_{ss} (mL/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	262	251
BA (%)	—	93	—	61	—	—	NA	NA

Notes: Each value represents the mean of 3 animals; — not determined; NA: not applicable.

2.6.5.3.2 ラット：非標識体投与

Study Title: Plasma concentration of KLH-2109 and KP017 after single oral and intravenous administration of KLH-2109 choline to rats

Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.2.2
Study Number: DMPK[redacted]-0036

Species:	Rat/ Crl:CD (SD)
Gender (M/F)/Number of animals:	M/8 and F/24 (4 animals per group)
Feeding condition:	Fed and fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution (Oral); saline (Intravenous)
Method of Administration:	Oral (gavage); Intravenous
Dose (mg/kg) :	1, 3, 10, and 30 (Oral); 3 (Intravenous)
Sample:	Plasma
Analytes:	KLH-2109 and KP017
Assay:	LC-MS/MS

	F fasted	F fasted	F fed	M fasted	F fasted	F fasted	F fasted	M fasted
Route of administration	Oral						Intravenous	
Dose (mg/kg)	1	3	3	3	10	30	3	3
PK parameters								
KLH-2109								
C_{max} (ng/mL)	3680.79	12501.31	5860.79	11951.53	52817.46	102635.94	NA	NA
T_{max} (hr)	0.9	0.6	1.5	1.0	0.4	1.1	NA	NA
$t_{1/2}$ (hr)	9.9	14.3	10.8	12.8	11.1	14.0	11.6	9.8
AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	37731	155517	106255	123515	410474	1596252	129986	112027
$AUC_{0-\infty}$ (ng•hr/mL)	38083	156832	106758	124832	411181	1608325	130571	112350
CL_{tot} (mL/hr/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	23.6	27.5
MRT_{0-t} (hr)	10.9	14.9	14.8	12.1	10.9	14.2	12.9	10.0
$MRT_{0-\infty}$ (hr)	11.5	15.7	15.2	12.9	11.0	14.9	13.4	10.2
Vd_{ss} (mL/kg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	305	272
BA (%)	—	120	—	111	—	—	NA	NA
KP017								
C_{max} (ng/mL)	11.32	24.04	14.59	39.93	118.36	269.28	23.87	58.02
T_{max} (hr)	2.5	2.0	3.5	5.0	1.8	3.0	1.8	1.0
$t_{1/2}$ (hr)	5.8 [a]	7.3	16.1	16.3 [a]	10.2	17.3	4.4	8.6

	F fasted	F fasted	F fed	M fasted	F fasted	F fasted	F fasted	M fasted
Route of administration	Oral						Intravenous	
Dose (mg/kg)	1	3	3	3	10	30	3	3
PK parameters								
AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	52	181	246	509	1288	3441	130	627
$AUC_{0-\infty}$ (ng•hr/mL)	139 [a]	275	382	965 [a]	1463	3704	191	728
MRT_{0-t} (hr)	3.0	4.9	9.7	7.3	8.4	12.6	3.4	7.3
$MRT_{0-\infty}$ (hr)	8.9 [a]	10.8	23.7	22.7 [a]	12.7	17.4	6.8	11.4

Notes: Each value represents the mean of 4 animals; — not determined ; NA: not applicable; [a] These values are mean of two animals.

2.6.5.3.3 サル：標識体投与

Study Title: Absorption and excretion after single administration of [^{14}C]KLH-2109 choline in monkeys

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.2.3
Study Number: [redacted]

Species:	Cynomolgus monkey
Gender (M/F)/Number of animals:	F/3
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution (Oral); saline (Intravenous)
Method of Administration:	Oral (gavage); Intravenous
Dose (mg/kg):	3
Sample:	Plasma
Analytes:	KLH-2109, KP017, and [^{14}C]KLH-2109
Assay:	LC-MS/MS and LSC
Specific activity:	3.34 MBq/mg

PK parameters	[^{14}C]KLH-2109		KLH-2109	
	Oral	Intravenous	Oral	Intravenous
C_{max} (ng eq. or ng/mL)	14331.62	NA	14249.07	NA
C_0 (ng eq. or ng/mL)	NA	49224.13	NA	51323.38
T_{max} (hr)	2.0	NA	2.0	NA
$t_{1/2}$ (hr)	21.0	33.4	7.4	8.6
AUC_{0-t} (ng eq.•hr/mL or ng•hr/mL)	147996	177387	141811	163430
$AUC_{0-\infty}$ (ng eq.•hr/mL or ng•hr/mL)	149011	180761	142486	163800
CL/F (mL/hr/kg)	22.4	NA	23.9	NA
CL_{tot} (mL/hr/kg)	NA	17.2	NA	19.0
V_z/F (mL/kg)	677	NA	256	NA
Vd_{ss} (mL/kg)	NA	185	NA	109
BA (%)	81.4	—	86.0	—

Notes: Data are expressed as the mean values of three animals; —: not determined; NA: not applicable.

PK parameters	KP017	
	Oral	Intravenous
C_{max} (ng/mL)	46.67	85.88
T_{max} (hr)	2.7	0.8
$t_{1/2}$ (hr)	3.4[a]	4.3
AUC_{0-t} (ng•hr/mL)	215	365
$AUC_{0-\infty}$ (ng•hr/mL)	358[a]	560

Notes: Data are expressed as the mean values of three animals; [a] Mean value of two animals.

Additional Information: The KLH-2109 vs radioactivity plasma AUC ratio in oral administration indicated that KLH-2109 corresponded to 96% of circulating drug related material.

2.6.5.3.4 ラット：標識体投与：消化管吸収部位

Study Title: Absorption site of [^{14}C]KLH-2109 choline in rat gastrointestinal tracts

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.2.4
Study Number: DMPK[redacted]-0024

Species:	Rat/ Crl:CD (SD)
Gender (M/F)/Number of animals:	F/15 (3 animals per group)
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Injection in the gastrointestinal loop
Dose (mg/kg):	3
Sample:	Plasma, lavage fluid, and homogenate of the gastrointestinal tract
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Specific activity:	3.34 MBq/mg
Assay:	LSC

Time (min)	Plasma concentration of radioactivity after injection of [^{14}C]KLH-2109 choline into the gastrointestinal tracts of female rats (ng eq. /mL)				
	Stomach	Duodenum	Jejunum	Ileum	Colon
5	21.4	1014.0	1753.4	2268.5	203.5
15	110.1	2609.3	4267.6	4294.6	433.6
30	429.2	4141.3	6746.4	5817.5	848.3
60	884.2	7940.1	10382.2	6423.2	1967.7
120	1821.5	11315.8	13749.1	7408.0	5492.2

Notes: Each value represents the mean of three animals.

	Dose recovery of [^{14}C]KLH-2109 choline from the gastrointestinal tract segments and residuals in lumens at 120 minutes post-injection (% of dose)				
	Stomach	Duodenum	Jejunum	Ileum	Colon
Lumen (Washings)	54.0	25.4	35.4	55.5	64.9
Segment	9.9	1.9	1.3	2.2	4.4
Total	63.9	27.3	36.7	57.6	69.3

Notes: Each value represents the mean of three animals.

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

2.6.5.4.1 マウス、ラット、イヌ及びサル：非標識体投与（TK）

マウス、ラット、イヌ及びサルに KLH-2109 コリン塩を反復経口投与したときの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、それぞれ、表 2.6.4.3.2.1-1、表 2.6.4.3.2.2-1、表 2.6.4.3.2.3-1 及び表 2.6.4.3.2.4-1 に記載した。

上記データの詳細は、毒性試験の概要表（2.6.7.3）に記載した。

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1 ラット: 標識体単回投与：組織摘出法

Study title: Tissue distribution of radioactivity after a single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: Section 4.2.2.3.1
Study Number: DMPK[redacted]-0045

Species:	Rat / Crl:CD (SD)
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/9 and F/18 (3 animals per time-point)
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	3
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Assay:	LSC
Specific Activity:	3.34 MBq/mg

Tissue (Male rat)	Radioactivity concentration (ng eq./g or mL)					
	0.25 hr	2 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr
Plasma	—	12696.8 (1.00)	8183.9 (1.00)	—	2331.7 (1.00)	—
Blood	—	7167.5 (0.56)	4585.8 (0.56)	—	1327.9 (0.57)	—
Cerebrum	—	128.7 (0.01)	64.8 (0.01)	—	22.1 (0.01)	—
Cerebellum	—	147.5 (0.01)	118.1 (0.01)	—	32.3 (0.01)	—
Pituitary	—	1856.6 (0.15)	1493.7 (0.18)	—	413.6 (0.18)	—
Harderian gland	—	857.9 (0.07)	1029.4 (0.13)	—	326.6 (0.14)	—
Eye ball	—	304.7 (0.02)	351.9 (0.04)	—	125.7 (0.05)	—
Lymph nodes (cervical)	—	966.6 (0.08)	1335.0 (0.16)	—	326.7 (0.14)	—
Submaxillary glands	—	1354.7 (0.11)	1047.0 (0.13)	—	331.3 (0.14)	—
Thyroid	—	1261.4 (0.10)	1158.4 (0.14)	—	381.3 (0.16)	—
Thymus	—	298.5 (0.02)	462.2 (0.06)	—	213.2 (0.09)	—
Trachea	—	2162.7 (0.17)	1923.4 (0.24)	—	570.5 (0.24)	—
Lung	—	1408.1 (0.11)	1612.1 (0.20)	—	490.7 (0.21)	—
Heart	—	1535.1 (0.12)	1267.8 (0.15)	—	311.2 (0.13)	—
Liver	—	5773.6 (0.45)	2380.9 (0.29)	—	267.8 (0.11)	—
Pancreas	—	943.8 (0.07)	813.0 (0.10)	—	254.0 (0.11)	—
Spleen	—	861.4 (0.07)	584.4 (0.07)	—	172.1 (0.07)	—
Kidney	—	2793.2 (0.22)	1629.6 (0.20)	—	371.5 (0.16)	—
Adrenal gland	—	1047.9 (0.08)	736.8 (0.09)	—	244.8 (0.10)	—
Stomach	—	12343.6 (0.97)	1604.5 (0.20)	—	183.8 (0.08)	—

Tissue (Male rat)	Radioactivity concentration (ng eq./g or mL)					
	0.25 hr	2 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr
Small intestine	—	4849.6 (0.38)	2581.1 (0.32)	—	76.5 (0.03)	—
Large intestine	—	917.5 (0.07)	3764.6 (0.46)	—	179.9 (0.08)	—
Epididymis	—	1067.3 (0.08)	1362.8 (0.17)	—	387.9 (0.17)	—
Testis	—	931.2 (0.07)	1027.7 (0.13)	—	324.3 (0.14)	—
Prostate gland	—	578.0 (0.05)	713.9 (0.09)	—	192.3 (0.08)	—
Urinary bladder	—	1080.3 (0.09)	1507.7 (0.18)	—	477.6 (0.20)	—
Fat (abdominal)	—	298.8 (0.02)	314.9 (0.04)	—	89.3 (0.04)	—
Brown fat	—	768.4 (0.06)	874.0 (0.11)	—	266.9 (0.11)	—
Muscle	—	232.1 (0.02)	326.7 (0.04)	—	126.6 (0.05)	—
Bone	—	316.2 (0.02)	256.0 (0.03)	—	69.9 (0.03)	—
Bone marrow	—	1310.9 (0.10)	982.9 (0.12)	—	226.9 (0.10)	—
Skin	—	625.7 (0.05)	1249.0 (0.15)	—	593.7 (0.25	—

Notes: Values in parentheses are expressed as the ratio of concentration in tissue relative to plasma. Each value represents mean of 3 animals; —: Not tested.

Tissue (Female rat)	Radioactivity concentration (ng eq./g or mL)					
	0.25 hr	2 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr
Plasma	13590.4 (1.00)	18125.1 (1.00)	10716.6 (1.00)	4886.5 (1.00)	2082.9 (1.00)	1191.0 (1.00)
Blood	5379.4 (0.40)	10850.2 (0.60)	6198.1 (0.58)	3022.9 (0.62)	1286.3 (0.62)	675.4 (0.57)
Cerebrum	125.2 (0.01)	160.2 (0.01)	100.2 (0.01)	50.2 (0.01)	22.6 (0.01)	12.7 (0.01)
Cerebellum	171.7 (0.01)	180.7 (0.01)	132.8 (0.01)	61.8 (0.01)	27.1 (0.01)	17.3 (0.01)
Pituitary	2359.7 (0.17)	3029.5 (0.17)	1986.3 (0.19)	882.2 (0.18)	453.3 (0.22)	150.6 (0.13)
Harderian gland	522.2 (0.04)	1913.1 (0.11)	1401.9 (0.13)	818.6 (0.17)	333.4 (0.16)	179.2 (0.15)
Eye ball	132.6 (0.01)	436.4 (0.02)	440.6 (0.04)	275.2 (0.06)	105.8 (0.05)	50.9 (0.04)
Lymph nodes (cervical)	478.3 (0.04)	1282.9 (0.07)	1443.3 (0.13)	728.5 (0.15)	279.7 (0.13)	169.1 (0.14)
Submaxillary glands	1162.2 (0.09)	2031.1 (0.11)	1202.2 (0.11)	671.3 (0.14)	309.9 (0.15)	143.3 (0.12)
Thyroid	1367.5 (0.10)	1960.6 (0.11)	1367.2 (0.13)	683.7 (0.14)	225.5 (0.11)	177.1 (0.15)
Thymus	261.7 (0.02)	547.1 (0.03)	547.6 (0.05)	429.9 (0.09)	151.9 (0.07)	76.4 (0.06)
Trachea	2448.0 (0.18)	4148.3 (0.23)	2788.1 (0.26)	1468.1 (0.30)	510.9 (0.25)	332.6 (0.28)
Lung	1684.6 (0.12)	2645.9 (0.15)	1985.4 (0.19)	1049.6 (0.21)	453.0 (0.22)	287.9 (0.24)
Heart	1535.2 (0.11)	2398.3 (0.13)	1662.3 (0.16)	746.0 (0.15)	311.5 (0.15)	166.1 (0.14)
Liver	13127.6 (0.97)	5735.6 (0.32)	2680.2 (0.25)	814.0 (0.17)	215.1 (0.10)	101.6 (0.09)
Pancreas	1057.3 (0.08)	1511.1 (0.08)	1021.2 (0.10)	492.9 (0.10)	187.8 (0.09)	107.5 (0.09)
Spleen	1021.7 (0.08)	1234.0 (0.07)	774.1 (0.07)	367.6 (0.08)	153.1 (0.07)	79.1 (0.07)
Kidney	4134.5 (0.30)	3842.5 (0.21)	2383.3 (0.22)	926.1 (0.19)	382.2 (0.18)	195.8 (0.16)
Adrenal gland	1313.5 (0.10)	1635.9 (0.09)	1032.6 (0.10)	397.0 (0.08)	174.1 (0.08)	107.7 (0.09)
Stomach	16142.8 (1.19)	11686.6 (0.64)	1389.1 (0.13)	440.5 (0.09)	142.7 (0.07)	77.8 (0.07)
Small intestine	4242.1 (0.31)	5050.1 (0.28)	1270.5 (0.12)	243.5 (0.05)	83.1 (0.04)	39.2 (0.03)
Large intestine	386.5 (0.03)	1125.2 (0.06)	3466.7 (0.32)	506.6 (0.10)	171.3 (0.08)	83.9 (0.07)
Ovary	1151.9 (0.08)	3426.6 (0.19)	2574.4 (0.24)	1276.0 (0.26)	448.4 (0.22)	248.8 (0.21)

Tissue (Female rat)	Radioactivity concentration (ng eq./g or mL)					
	0.25 hr	2 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr
Uterus	462.0 (0.03)	1261.4 (0.07)	2739.2 (0.26)	1749.8 (0.36)	699.6 (0.34)	374.3 (0.31)
Urinary bladder	301.8 (0.02)	1124.2 (0.06)	1588.5 (0.15)	1249.0 (0.26)	521.9 (0.25)	260.5 (0.22)
Fat (abdominal)	364.0 (0.03)	760.1 (0.04)	783.4 (0.07)	391.4 (0.08)	149.2 (0.07)	70.6 (0.06)
Brown fat	886.2 (0.07)	1648.9 (0.09)	1348.0 (0.13)	744.2 (0.15)	281.1 (0.13)	155.7 (0.13)
Muscle	174.2 (0.01)	475.3 (0.03)	473.4 (0.04)	272.0 (0.06)	127.5 (0.06)	69.0 (0.06)
Bone	486.6 (0.04)	674.7 (0.04)	369.0 (0.03)	198.1 (0.04)	80.9 (0.04)	35.0 (0.03)
Bone marrow	1915.2 (0.14)	2434.6 (0.13)	1231.2 (0.11)	576.7 (0.12)	150.1 (0.07)	113.7 (0.10)
Skin	244.6 (0.02)	876.9 (0.05)	1420.1 (0.13)	1143.1 (0.23)	548.9 (0.26)	312.9 (0.26)

Notes: Values in parentheses are expressed as the ratio of concentration in tissue relative to plasma. Each value represents mean of 3 animals.

2.6.5.5.2 ラット（有色）：標識体単回投与：組織摘出法

Study title: Distribution of radioactivity in the melaniferous tissues after a single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to female pigmented rats

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: Section 4.2.2.3.3
Study Number: DMPK[redacted]-0043

Species:	Rat / Iar: LE
Gender (M/F)/Number of Animals:	F/18 (3 animals per time-point)
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	3
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Assay:	LSC
Specific Activity:	3.34 MBq/mg

Tissue concentration of radioactivity (ng eq./g)								
	Plasma		Blood		Eye		Skin	
Sampling Time (hr)	Mean	T/P	Mean	T/P	Mean	T/P	Mean	T/P
2	21573.6	1.00	12629.1	0.59	515.2	0.02	922.6	0.04
8	13848.5	1.00	7943.1	0.57	610.9	0.04	2185.8	0.16
24	6768.1	1.00	3839.6	0.57	302.0	0.04	1303.1	0.19
72	2855.1	1.00	1678.0	0.59	107.2	0.04	789.8	0.28
168	1423.5	1.00	837.2	0.59	64.6	0.05	386.3	0.27
336	417.1	1.00	234.6	0.56	20.1	0.05	128.2	0.31

Notes: Each value represents the mean of 3 animals; T/P: Tissue to plasma concentration ratio.

Half-life of the mean radioactivity concentration in tissues	
Tissue	Half-life (hr)
Plasma	95.1
Blood	92.8
Eye	108.1
Skin	101.2

2.6.5.5.3 ラット（有色）：標識体単回投与：QWBA

Study title: Quantitative whole-body autoradiography in pigmented rats after a single oral dose of [^{14}C]KLH-2109 choline

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: Section 4.2.2.3.4
Study Number: [redacted]

Species:	Rat/ Iar: LE
Gender (M/F) / Number of Animals:	F/7 (1 animal per time-point)
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	3
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Assay:	Bio-imaging analysis (QWBA)
Specific Activity:	3.30 MBq/mg

Tissue	Radioactivity concentration (ng eq./g)						
	2 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	336 hr	672 hr
Blood	9064.5 (1.00)	9299.8 (1.00)	2810.4 (1.00)	1828.7 (1.00)	716.2 (1.00)	200.2 (1.00)	BLQ (NC)
Cerebrum	117.0 (0.01)	106.5 (0.01)	54.7 (0.02)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	ND (NC)
Cerebellum	132.2 (0.01)	135.5 (0.01)	78.5 (0.03)	56.3 (0.03)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	ND (NC)
Pituitary	3137.3 (0.35)	1874.5 (0.20)	711.8 (0.25)	275.2 (0.15)	157.2 (0.22)	74.5 (0.37)	ND (NC)
Medulla oblongata	102.6 (0.01)	105.9 (0.01)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	ND (NC)
Spinal cord	125.0 (0.01)	119.0 (0.01)	63.2 (0.02)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	ND (NC)
Eyeball (uvea)	1687.9 (0.19)	1040.5 (0.11)	746.0 (0.27)	308.9 (0.17)	216.3 (0.30)	BLQ (NC)	ND (NC)
Eyeball (intraocular)	110.1 (0.01)	163.0 (0.02)	BLQ (NC)	73.5 (0.04)	59.4 (0.08)	BLQ (NC)	ND (NC)
Harderian gland	1481.1 (0.16)	950.2 (0.10)	341.4 (0.12)	220.3 (0.12)	166.8 (0.23)	80.3 (0.40)	ND (NC)
Submaxillary gland	1705.2 (0.19)	1473.5 (0.16)	331.3 (0.12)	340.0 (0.19)	151.3 (0.21)	68.2 (0.34)	ND (NC)
Thyroid	2317.3 (0.26)	1948.6 (0.21)	940.1 (0.33)	513.5 (0.28)	172.2 (0.24)	73.1 (0.37)	ND (NC)
Thymus	554.0 (0.06)	671.1 (0.07)	479.1 (0.17)	209.2 (0.11)	101.4 (0.14)	54.9 (0.27)	ND (NC)
Heart	2416.7 (0.27)	2272.0 (0.24)	657.0 (0.23)	434.2 (0.24)	175.5 (0.25)	68.9 (0.34)	BLQ (NC)
Lung	5860.4 (0.65)	5255.1 (0.57)	1949.9 (0.69)	1221.0 (0.67)	448.7 (0.63)	154.1 (0.77)	BLQ (NC)
Liver	7844.8 (0.87)	5392.3 (0.58)	1213.1 (0.43)	650.7 (0.36)	322.7 (0.45)	121.2 (0.61)	BLQ (NC)
Kidney (medulla)	4872.5 (0.54)	4141.9 (0.45)	2226.1 (0.79)	908.7 (0.50)	408.8 (0.57)	73.2 (0.37)	ND (NC)
Kidney (cortex)	4130.6 (0.46)	2452.3 (0.26)	1298.8 (0.46)	602.5 (0.33)	233.4 (0.33)	68.2 (0.34)	ND (NC)
Adrenal	2484.2 (0.27)	3228.3 (0.35)	1389.3 (0.49)	773.4 (0.42)	237.1 (0.33)	83.2 (0.42)	ND (NC)
Spleen	931.1 (0.10)	789.8 (0.08)	261.2 (0.09)	141.7 (0.08)	75.7 (0.11)	BLQ (NC)	ND (NC)
Pancreas	1445.2 (0.16)	1086.0 (0.12)	405.0 (0.14)	264.3 (0.14)	116.7 (0.16)	BLQ (NC)	ND (NC)
Aorta	3052.1 (0.34)	1373.1 (0.15)	747.8 (0.27)	442.9 (0.24)	153.7 (0.21)	81.8 (0.41)	ND (NC)
Skin (pigmented)	1166.0 (0.13)	2840.8 (0.31)	1708.1 (0.61)	939.0 (0.51)	337.6 (0.47)	154.3 (0.77)	BLQ (NC)
Skin (non-pigmented)	531.8 (0.06)	1590.9 (0.17)	1173.0 (0.42)	800.1 (0.44)	255.6 (0.36)	77.1 (0.39)	BLQ (NC)

Tissue	Radioactivity concentration (ng eq./g)						
	2 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr	336 hr	672 hr
Skeletal muscle	327.7 (0.04)	533.0 (0.06)	240.1 (0.09)	145.4 (0.08)	77.3 (0.11)	BLQ (NC)	ND (NC)
Bone (femur)	174.6 (0.02)	347.8 (0.04)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	ND (NC)
Bone marrow (femur)	1623.4 (0.18)	1491.6 (0.16)	363.9 (0.13)	323.7 (0.18)	131.5 (0.18)	BLQ (NC)	ND (NC)
Brown adipose tissue	964.3 (0.11)	1331.8 (0.14)	260.5 (0.09)	242.6 (0.13)	110.8 (0.15)	BLQ (NC)	ND (NC)
White adipose tissue	87.5 (0.01)	219.7 (0.02)	63.7 (0.02)	75.5 (0.04)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	ND (NC)
Bladder	1211.1 (0.13)	2924.5 (0.31)	1561.4 (0.56)	945.6 (0.52)	397.4 (0.55)	129.2 (0.65)	ND (NC)
Urine in bladder	1554.0 (0.17)	3274.6 (0.35)	1286.0 (0.46)	106.5 (0.06)	BLQ (NC)	BLQ (NC)	ND (NC)
Ovary	4196.3 (0.46)	3205.2 (0.34)	1349.8 (0.48)	488.1 (0.27)	212.6 (0.30)	83.0 (0.41)	ND (NC)
Uterus	859.2 (0.09)	2124.9 (0.23)	1817.7 (0.65)	811.4 (0.44)	473.4 (0.66)	88.2 (0.44)	ND (NC)
Mammary gland	714.2 (0.08)	1298.1 (0.14)	389.7 (0.14)	523.1 (0.29)	89.3 (0.12)	BLQ (NC)	ND (NC)
Stomach	1099.4 (0.12)	1183.6 (0.13)	494.4 (0.18)	204.4 (0.11)	134.2 (0.19)	68.5 (0.34)	ND (NC)
Small intestine	3836.5 (0.42)	1788.4 (0.19)	892.4 (0.32)	440.6 (0.24)	140.8 (0.20)	BLQ (NC)	ND (NC)
Cecum	3370.4 (0.37)	4546.7 (0.49)	753.6 (0.27)	406.5 (0.22)	146.3 (0.20)	BLQ (NC)	ND (NC)
Large intestine	924.6 (0.10)	2299.7 (0.25)	762.4 (0.27)	368.4 (0.20)	184.7 (0.26)	77.3 (0.39)	ND (NC)

Notes: Values in parentheses are expressed as the ratio of concentration in tissue relative to blood. Each value represents one animal. BLQ: Below the lower limit of quantification (< 54.0 ng eq./g).; ND = not detected; NC = not calculated.

2.6.5.6 薬物動態試験：蛋白結合

2.6.5.6.1 血漿蛋白結合及び結合蛋白種（*In Vitro*）：標識体

Study title: *In vitro* plasma protein binding of [^{14}C]KLH-2109 in mouse, rat, rabbit, monkey, and human　　Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline

Method: *In vitro* plasma protein binding of mouse, rat, rabbit, monkey, and human by ultrafiltration; *In vitro* identification of binding to major plasma proteins using purified human plasma proteins; radioactivity analysis using LSC.

Species/ Purified proteins	Concentration Tested (μg/mL)	% Bound	Study Number	Location in CTD
Mouse	5	99.3	DMPK[redacted]-0070	4.2.2.3.5
	20	99.3		
	100	98.6		
Rat	5	99.7		
	20	99.7		
	100	99.3		
Rabbit	5	95.9		
	20	95.8		
	100	95.4		
Monkey	5	98.0		
	20	97.9		
	100	97.4		
Human	5	99.4		
	20	99.4		
	100	99.1		
Albumin	5	94.7		
	20	94.2		
	100	92.4		
γ-Globulin	5	16.8		
	20	15.0		
	100	15.3		
α_1–Acid glycoprotein	5	4.9		
	20	4.7		
	100	3.9		

Notes: Each value represents the mean of three replications.

Additional Information: The protein binding for α_1-acid glycoprotein was nearly comparable to the non-specific binding to an ultrafiltration unit, suggesting that KLH-2109 does not bind to α_1-acid glycoprotein.

2.6.5.6.2 血漿蛋白結合（*In Vitro*）：非標識体

Study title: *In vitro* plasma protein binding of KLH-2109 in mouse, rat, rabbit, monkey, and human　　Test Article: KLH-2109 Choline

Method: *In vitro* plasma protein binding of mouse, rat, rabbit, monkey, and human by ultrafiltration; KLH-2109 analysis by LC-MS/MS.

Species	Concentration Tested (µg/mL)	% Bound	Study Number	Location in CTD
Mouse	5	99.0	DMPK[redacted]-0065	4.2.2.3.6
	20	98.9		
	100	97.9		
Rat	5	99.5		
	20	99.6		
	100	99.3		
Rabbit	5	95.3		
	20	95.1		
	100	94.7		
Monkey	5	96.9		
	20	96.2		
	100	95.7		
Human	5	99.4		
	20	99.3		
	100	99.0		

Notes: Each value represents the mean of three replications.

2.6.5.6.3 KP017 の血漿蛋白結合（*In Vitro*）：非標識体

Study title: *In vitro* plasma protein binding of KP017 in mice, rats, rabbits, monkeys, and humans　　Test Article: KP017

Method: *In vitro* plasma protein binding of mouse, rat, rabbit, monkey, and human by ultrafiltration; KP017 analysis by LC-MS/MS.

Species	Concentration Tested (µg/mL)	% Bound	Study Number	Location in CTD
Mouse	1.0	96.6	DMPK[redacted]-0011	4.2.2.3.7
	2.5	96.8		
	5.0	96.9		
Rat	1.0	99.4		
	2.5	99.5		
	5.0	99.5		
Rabbit	1.0	96.9		
	2.5	96.9		
	5.0	96.7		
Monkey	1.0	98.0		
	2.5	98.0		
	5.0	98.1		
Human	1.0	99.5		
	2.5	99.5		
	5.0	99.5		

Notes: Each value represents the mean of three replications.

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.7.1 妊娠ラット：標識体単回投与：胎盤通過性（妊娠 17 日目）

Study title: Placental transfer after a single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: Section 4.2.2.3.8
Study Number: DMPK[redacted]-0078

Species:	Rat/ Crl:CD (SD)
Gestation Day/ Gender (M/F)/Number of Animals:	Day 17 of gestation/ F/15 (3 animals per time-point)
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage), fasted
Dose (mg/kg):	3
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Specific activity:	3.34 MBq/mg
Assay:	LSC

Tissue		Tissue concentration of radioactivity (ng eq./g or mL)									
		2 hr		8 hr		24 hr		48 hr		72 hr	
		Mean	T/P	Mean	T/P	Mean	T/P	Mean	T/P	Mean	T/P
Dam	Plasma	23286.0	1.00	15945.2	1.00	2683.1	1.00	1504.5	1.00	1191.1	1.00
	Blood	14197.3	0.61	9147.5	0.57	1643.2	0.61	924.0	0.61	869.2	0.73
	Cerebrum	239.8	0.01	171.5	0.01	29.7	0.01	18.8	0.01	16.2	0.01
	Cerebellum	309.0	0.01	242.2	0.02	35.7	0.01	23.5	0.02	16.9	0.01
	Pituitary	3618.3	0.16	2487.1	0.16	503.4	0.19	248.7	0.17	198.8	0.17
	Lung	3372.3	0.14	3201.5	0.20	586.8	0.22	381.2	0.25	362.6	0.30
	Heart	3170.2	0.14	2331.3	0.15	329.8	0.12	201.5	0.13	203.6	0.17
	Liver	9045.1	0.39	3669.9	0.23	672.2	0.25	346.7	0.23	252.4	0.21
	Kidney	4950.0	0.21	3278.6	0.21	797.3	0.30	459.4	0.31	359.7	0.30
	Ovary	4120.6	0.18	3511.9	0.22	587.5	0.22	341.7	0.23	281.2	0.24
	Uterus	6370.8	0.27	8913.2	0.56	3124.4	1.16	1853.4	1.23	1850.9	1.55
	Mammary gland	1603.1	0.07	1815.7	0.11	366.5	0.14	295.5	0.20	213.0	0.18
	Placenta	3681.1	0.16	4120.0	0.26	1405.3	0.52	1129.3	0.75	1235.3	1.04
	Amniotic fluid	3.6	0.00	66.3	0.00	468.1	0.17	648.0	0.43	2691.0	2.26

Notes: Each value represents the mean of 3 animals; T/P: Tissue to maternal plasma concentration ratio.

Tissue		Tissue concentration of radioactivity (ng eq./g or mL)									
		2 hr		8 hr		24 hr		48 hr		72 hr	
		Mean	T/P	Mean	T/P	Mean	T/P	Mean	T/P	Mean	T/P
Fetus	Blood	413.7	0.02	2311.7	0.14	2505.4	0.93	3632.1	2.41	4111.2	3.45
	Brain	23.8	0.00	187.8	0.01	234.6	0.09	356.7	0.24	358.4	0.30
	Liver	130.3	0.01	681.8	0.04	631.0	0.24	812.3	0.54	857.1	0.72
	Kidney	254.1	0.01	1373.8	0.09	1440.0	0.54	2102.0	1.40	2035.7	1.71
	Whole body	152.9	0.01	1067.5	0.07	1529.0	0.57	2605.4	1.73	2557.7	2.15
	Whole body (% of dose/fetus)	0.01	—	0.09	—	0.23	—	0.64	—	0.98	—

Notes: Each value represents the mean of 3 animals; T/P: Tissue to maternal plasma concentration ratio.

2.6.5.7.2 妊娠ラット：標識体単回投与：胎盤通過性（妊娠 13 日目）

Study Title: Autoradiography after single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats (placental transfer)

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: Section 4.2.2.3.2
Study Number: [redacted]

Species:	Rat/Crl:CD (SD)
Gestation Day/ Gender (M/F)/Number of Animals:	Day 13 of gestation/ F/5 (1 animal per time-point)
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage), fasted
Dose (mg/kg):	3
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Assay:	Bio-imaging analysis (QWBA)
Specific activity:	3.34 MBq/mg

Tissue	Radioactivity concentration (ng eq./g tissue)				
	2 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr
Blood	12732.0 (1.00)	8112.1 (1.00)	4688.8 (1.00)	2471.4 (1.00)	NS
Cerebrum	205.6 (0.02)	118.5 (0.01)	79.3 (0.02)	BLQ	NS
Cerebellum	201.4 (0.02)	131.6 (0.02)	87.6 (0.02)	66.8 (0.03)	NS
Pituitary gland	2927.1 (0.23)	1803.2 (0.22)	955.3 0.20)	463.4 (0.19)	NS
Heart	3268.3 (0.26)	1873.4 (0.23)	1251.5 (0.27)	693.0 (0.28)	NS
Lung	7643.0 (0.60)	5182.1 (0.64)	3676.4 (0.78)	1923.1 (0.78)	NS
Liver	14095.9 (1.11)	5059.9 (0.62)	2015.8 (0.43)	954.9 (0.39)	NS
Kidney	8041.1 (0.63)	4292.4 (0.53)	2338.0 (0.50)	994.9 (0.40)	NS
Ovary	2852.4 (0.22)	1496.9 (0.18)	805.5 (0.17)	501.9 (0.20)	NS
Uterus	9994.0 (0.78)	9669.6 (1.19)	4747.2 (1.01)	1636.5 (0.66)	147.0
Mammary gland	3408.0 (0.27)	1383.0 (0.17)	1507.7 (0.32)	808.3 (0.33)	NS
Placenta	7284.2 (0.57)	2745.0 (0.34)	2127.4 (0.45)	1319.1 (0.53)	319.8

Notes: Values in parentheses are expressed as the ratio of concentration in tissue relative to blood; Lower limit of quantification: 38.6 ng eq./g tissue; BLQ: Below Limit of Quantification; NS: Not specified.

Tissue	Radioactivity concentration (ng eq./g tissue)				
	2 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr
Fetus	BLQ	149.2 (0.02)	148.7 (0.03)	1030.4 (0.42)	855.6
Amniotic fluid	39.4 (0.00)	50.6 (0.01)	57.8 (0.01)	62.6 (0.03)	285.2
Fetal membrane	6129.6 (0.48)	7383.8 (0.91)	6299.5 (1.34)	29722.1 (12.03)	3936.8
Fetal blood	NS	NS	NS	950.5 (0.38)	842.7
Fetal eyeball	NS	NS	NS	NS	816.7

Tissue	Radioactivity concentration (ng eq./g tissue)				
	2 hr	8 hr	24 hr	72 hr	168 hr
Fetal heart	NS	NS	NS	NS	371.6
Fetal lung	NS	NS	NS	NS	544.5
Fetal liver	NS	NS	NS	475.2 (0.19)	626.6
Fetal kidney	NS	NS	NS	NS	1045.8
Fetal skin	NS	NS	NS	NS	1534.1

Notes: Values in parentheses are expressed as the ratio of concentration in tissue relative to blood; Data are calculated from the whole-body autoradiograms;
Lower limit of quantification: 38.6 ng eq./g tissue; BLQ: Below Limit of Quantification; NS: Not specified.

2.6.5.7.3 ラット：標識体単回経口投与：乳汁移行性

Study title: Lacteal transfer after a single oral administration of [^{14}C]KLH-2109 choline to rats

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in the CTD: 4.2.2.5.3
Study Number: DMPK[redacted]-0081

Species:	Rat/ Crl:CD(SD)
Gender (M/F)/Number of animals:	F (Lactating rats)/ 3
Feeding condition:	Fed
Dosing period:	Day 8 or 9 of lactation
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	3
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Specific activity:	3.34 MBq/mg
Assay:	LSC

Time (hr)	Concentration of radioactivity (ng eq./mL)	
	Plasma (mean)	Milk (mean)
0.25	5720.75	19.88
2	10116.60	343.55
4	10182.55	699.89
8	8386.05	1079.46
24	4331.91	1222.81
48	1923.51	528.26
72	931.68	240.82
96	508.72	121.35
	PK parameters	
	Plasma (mean)	Milk (mean)
C_{max} (ng eq./mL)	10941.14	1315.66
T_{max} (hr)	2.7	13.3
$t_{1/2}$ (hr)	25.0	22.8
AUC_{0-t} (ng eq.•hr/mL)	300365	57929
$AUC_{0-\infty}$(ng eq.•hr/mL)	318772	61945

Notes: Each value represents the mean of 3 animals.

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8.1 血球移行性（*In Vitro*）

Study titles:
In vitro blood cell association of [^{14}C]KLH-2109 in mouse, rat, rabbit, and monkey (DMPK[redacted]-0041)
In vitro blood cell association of [^{14}C]KLH-2109 in human (DMPK[redacted]-0007)

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline

Method: *In vitro* KLH-2109 blood cell association of mouse, rat, rabbit, monkey, and human blood separating plasma from blood cells by centrifugation; radioactivity analysis by LSC.

Species	Concentration Tested (μg/mL)	R_b	Blood cell association (% of associated with blood cells)	Study Number	Location in CTD
Mouse	5	0.56	0.0	DMPK[redacted]-0041	4.2.2.3.9
	20	0.56	0.0		
	100	0.60	5.1		
Rat	5	0.57	0.0		
	20	0.56	0.0		
	100	0.59	1.1		
Rabbit	5	0.61	6.0		
	20	0.60	4.3		
	100	0.57	0.2		
Monkey	5	0.64	11.5		
	20	0.63	10.1		
	100	0.63	10.2		
Human[a]	5	0.60	3.7	DMPK[redacted]-0007	4.2.2.3.10
	20	0.59	1.9		
	100	0.60	3.6		

Notes: Each value represents the mean of three replications; R_b: Blood to plasma concentration ratio; [a] Blood from 3 healthy adult women.

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

2.6.5.9.1 マウス：標識体単回投与：生体試料中代謝物

Study Title: Metabolite profiling of [^{14}C]KLH-2109 choline in mice after a single oral administration

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD 4.2.2.4.1
Study Number DMPK[redacted]-0042

Species:	Mouse/ Crj:CD-1 (ICR)
Gender(M/F)/Number of animals:	M/5 and F/5 for urine and feces; M/10 and F/10 for plasma, liver, kidney, and bile
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	3
Radionuclide:	[^{14}C]KLH-2109
Specific activity:	3.34 MBq/mg
Assay:	HPLC with radioactivity detector and LC-MS/MS

Sample	Gender	Sampling Time or Period (hr)	Composition (%)												
			Parent	Metabolites of KLH-2109											
			KLH-2109	KP049	KP018	M1	KP050	KP143[a]	M9	KP048	M6	M7	KP046	KP017	Others
Plasma	M	2	91.6	N.D.	2.4	N.D.	1.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.7	3.5	0.0
		8	85.5	N.D.	6.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.1	6.4	0.0
	F	2	91.0	N.D.	1.8	N.D.	1.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.8	3.9	0.0
		8	88.5	N.D.	3.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.3	5.8	0.0
Liver	M	2	87.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4.8	7.5	0.0
		8	83.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	6.8	9.8	0.0
	F	2	90.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	9.1	0.0
		8	88.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	6.3	5.0	0.0
Kidney	M	2	83.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	16.8	0.0
		8	68.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	31.1	0.0
	F	2	87.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	12.7	0.0
		8	83.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	16.3	0.0
Urine	M	0-24	4.5	7.3	10.5	7.5	3.4	19.6	N.D.	N.D.	3.4	N.D.	9.1	31.6	3.0
	F	0-24	14.7	5.6	22.2	6.8	11.6	4.6	N.D.	N.D.	2.2	N.D.	9.2	18.9	4.3
Feces	M	0-24	57.2	N.D.	7.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	13.3	4.3	2.7	10.8	3.8
	F	0-24	53.2	N.D.	8.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	10.9	3.2	4.1	15.9	4.1

Sample	Gender	Sampling Time or Period (hr)	Composition (%)												
			Parent	Metabolites of KLH-2109											
			KLH-2109	KP049	KP018	M1	KP050	KP143[a]	M9	KP048	M6	M7	KP046	KP017	Others
Bile	M	2	37.2	N.D.	2.0	8.5	5.4	8.7	18.5	9.1	2.6	N.D.	4.6	3.5	0.0
		8	32.7	N.D.	5.5	7.6	5.2	9.5	15.2	11.5	3.5	N.D.	5.3	4.0	0.0
	F	2	23.5	N.D.	3.1	4.7	13.2	13.2	19.7	14.6	3.8	N.D.	2.4	2.1	0.0
		8	31.8	N.D.	2.9	6.3	10.9	7.6	16.1	17.2	N.D.	N.D.	5.2	2.0	0.0

Notes: Each sample was pooled from five animals; N.D.: Not detected; [a]: KP143 corresponds to M2; M1-M9: Unknown metabolites.

Metabolite	RT (min)	^{14}C-mass $[M-H]^-$ (*m/z*)	Mass shift	Proposed biotransformation of KLH-2109
KP049	6	433	−76	*O*-demethylation, sulfation
KP018	10	353	−156	*O*-dealkylation
M1	17	683	174	Defluorination, mono-oxidation, glucuronidation
KP050	18	671	162	*O*-demethylation, glucuronidation
KP143[a]	20	671	162	*O*-demethylation, glucuronidation
KP048	24	575	66	*O*-demethylation, sulfation
M6	27	507	−2	Defluorination, mono-oxidation
M7	28	525	16	Mono-oxidation
KP046	29	495	−14	*O*-demethylation
KP017	30	495	−14	*O*-demethylation
KLH-2109	34	509	0	Unchanged

Notes: The *m/z* value of M9 could not be specified; [a]: KP143 corresponds to M2; M1-M7: Unknown metabolites.

Additional Information: The metabolic pathway of KLH-2109 in mice was considered to be an oxidative metabolism (demethylation, dealkylation, replacement of fluorine with hydroxyl group and mono-oxygenation) followed by a conjugative metabolism (glucuronidation and sulfate conjugation).

2.6.5.9.2 ラット：標識体単回投与：生体試料中代謝物

Study title: Metabolite profiling of [^{14}C]KLH-2109 choline in rats after a single oral administration

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD 4.2.2.4.2
Study Number DMPK[redacted]-0077

Species:	Rat: Crl:CD (SD)
Gender(M/F)/Number of animals:	M/3 and F/3 for urine, feces and bile; M/12 and F/12 for plasma, liver, kidney, pituitary, uterus, and ovary
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	3
Radionuclide:	[^{14}C]KLH-2109
Specific activity:	3.34 MBq/mg
Assay:	HPLC with radioactivity detector and LC-MS/MS

Sample	Gender	Sampling Time or Period (hr)	Composition (%)							
			Parent	Metabolites of KLH-2109						
			KLH-2109	KP049	KP018	KP048	M6	KP046	KP017	Others
Plasma	M	2	78.5	1.5	8.4	8.8	N.D.	0.8	0.3	1.7
		8	53.1	4.0	16.3	19.9	N.D.	2.0	N.D.	4.7
	F	2	87.7	0.2	6.3	3.7	N.D.	1.2	N.D.	1.0
		8	60.7	1.3	16.5	15.3	N.D.	3.2	0.9	2.0
Urine	M	0-24	N.D.	15.8	67.4	9.0	N.D.	0.8	N.D.	7.0
		24-48	0.9	29.4	57.7	9.4	N.D.	N.D.	N.D.	2.7
	F	0-24	34.0	1.4	54.4	3.7	N.D.	2.2	1.5	3.0
		24-48	16.7	6.7	71.5	3.5	N.D.	0.9	N.D.	0.7
Feces	M	0-24	44.8	1.8	20.6	N.D.	7.6	16.2	5.5	3.4
		24-48	22.1	18.9	25.0	N.D.	11.3	13.0	5.4	4.4
	F	0-24	75.1	0.7	11.1	N.D.	2.6	6.8	3.1	0.6
		24-48	44.1	13.5	21.2	N.D.	7.0	9.2	3.6	1.4
Bile	M	0-8	65.4	N.D.	4.7	11.7	N.D.	0.7	N.D.	17.6
	F	0-8	88.0	N.D.	1.5	4.9	N.D.	0.4	N.D.	5.1
Liver	M	2	82.8	N.D.	0.9	9.5	N.D.	3.8	N.D.	3.0
		8	67.6	N.D.	1.5	15.9	N.D.	10.5	N.D.	4.5
	F	2	94.3	N.D.	1.6	2.6	N.D.	1.4	N.D.	0.0
		8	82.8	N.D.	2.2	10.3	N.D.	4.8	N.D.	0.0

Sample	Gender	Sampling Time or Period (hr)	Composition (%)							
			Parent	Metabolites of KLH-2109						
			KLH-2109	KP049	KP018	KP048	M6	KP046	KP017	Others
Kidney	M	2	78.3	N.D.	7.6	7.6	N.D.	4.3	N.D.	2.4
		8	56.5	3.7	2.8	24.1	N.D.	10.2	N.D.	2.8
	F	2	83.8	N.D.	5.5	6.7	N.D.	3.2	0.9	0.0
		8	71.9	N.D.	7.1	13.0	N.D.	5.1	2.8	0.0
Pituitary	M	2	89.6	N.D.	N.D.	10.4	N.D.	N.D.	N.D.	0.0
		8	63.2	N.D.	N.D.	24.6	N.D.	12.3	N.D.	0.0
	F	2	100.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.0
		8	74.2	N.D.	N.D.	9.1	N.D.	16.7	N.D.	0.0
Uterus	F	2	100.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.0
		8	85.7	N.D.	N.D.	7.9	N.D.	6.5	N.D.	0.0
Ovary	F	2	92.8	N.D.	N.D.	3.5	N.D.	3.7	N.D.	0.0
		8	62.5	N.D.	N.D.	23.7	N.D.	11.2	2.6	0.0

Notes: N.D.: not detected; M6: Unknown metabolite.

Summary of proposed metabolites				
Metabolite	RT (min)	^{14}C-mass $[M-H]^-$ (*m/z*)	Mass shift	Proposed biotransformation of KLH-2109
KP049	6	433	−76	*O*-demethylation, sulfation
KP018	10	353	−156	*O*-dealkylation
KP048	24	575	66	*O*-demethylation, sulfation
M6	26	507	−2	Defluorination, mono-oxidation
KP046	29	495	−14	*O*-demethylation
KP017	30	495	−14	*O*-demethylation
KLH-2109	33	509	0	Unchanged

Notes: RT: Retention Time; M6: Unknown metabolite.

Additional Information: Main metabolic pathways of KLH-2109 in rats were considered to be demethylation or dealkylation followed by sulfate conjugation. KP046 formation was considered to be the main pathway for the demethylation.

2.6.5.9.3 サル：標識体単回投与：生体試料中代謝物

Study title: Metabolite profiling of [^{14}C]KLH-2109 choline in monkeys after a single oral administration

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD 4.2.2.4.3
Study Number DMPK[redacted]-0034

Species:	Cynomolgous monkey
Gender(M/F)/Number of animals:	F/3
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	3
Radionuclide:	[^{14}C]KLH-2109
Specific activity:	3.34 MBq/mg
Assay:	HPLC with radioactivity detector and LC-MS/MS

Sample	Gender	Sampling Time or Period (hr)	Composition (%)										
			Parent	Metabolites of KLH-2109									
			KLH-2109	M11	KP018	KP050	KP143	M12	M6	M7	KP046	KP017	Others
Plasma	F	2	98.4	N.D.	0.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.2	0.4	0.4
		8	97.3	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.1	0.4	0.4
Urine	F	0-8	80.7	N.D.	8.3	1.0	2.5	2.9	N.D.	N.D.	1.8	2.8	N.D.
		8-24	93.5	N.D.	2.6	N.D.	0.7	N.D.	N.D.	N.D.	1.5	1.6	N.D.
Feces	F	0-24	63.6	4.6	15.6	N.D.	N.D.	N.D.	6.6	1.4	2.1	6.2	N.D.
		24-48	59.2	11.0	10.2	N.D.	N.D.	N.D.	7.3	1.7	2.4	8.3	N.D.

Notes: N.D.: Not detected; M6-M12: Unknown metabolite.

Metabolites	RT (min)	Non-labeled mass $[M-H]^-$ (*m/z*)		Mass shift (Da)	Proposed formula	Proposed biotransformation of KLH-2109
		Calculated	Found			
M11	3.7	336.9931	336.9922, 336.9929	−170	$C_{13}H_6FN_2O_6S$	*O*-demethylation of KP018
KP018	5.7	351.0087	351.0053 – 351.0090	−156	$C_{14}H_8FN_2O_6S$	*O*-dealkylation [a]
KP050	12.1	669.0638	669.0610	+162	$C_{27}H_{20}F_3N_2O_{13}S$	Glucuronidation of KP017 [a]
KP143	15.1	669.0638	669.0618, 669.0654	+162	$C_{27}H_{20}F_3N_2O_{13}S$	Glucuronidation of KP046 [a]
M12	18.6	683.0795	683.0786	+176	$C_{28}H_{22}F_3N_2O_{13}S$	Glucuronidation
M6	22.7	505.0517	505.0510, 505.0533	−2	$C_{22}H_{15}F_2N_2O_8S$	Defluorination, mono-oxidation
M7	24.6	523.0423	523.0447, 523.0450	+16	$C_{22}H_{14}F_3N_2O_8S$	Mono-oxidation
KP046	27.4	493.0317	493.0308 – 493.0360	−14	$C_{21}H_{12}F_3N_2O_7S$	*O*-demethylation [a]
KP017	28.3	493.0317	493.0311 – 493.0326	−14	$C_{21}H_{12}F_3N_2O_7S$	*O*-demethylation [a]
KLH-2109	33.2	507.0474	507.0469 – 507.0476	0	$C_{22}H_{14}F_3N_2O_7S$	Unchanged

Notes: [a] These metabolites were identified by use of the synthetized metabolites. RT: Retention Time; M6-M12: Unknown metabolite.

Additional Information: The major metabolic pathway of KLH-2109 in monkeys was considered an oxidative metabolism (demethylation, dealkylation, hydroxyl group replacement of fluorine, and mono-oxygenation).

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

2.6.5.10.1 凍結肝細胞を用いた代謝

Study Title: *In vitro* metabolism study of [^{14}C]KLH-2109 in cryopreserved hepatocytes of mice, rats, monkeys, and humans

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.4.4
Study Number: DMPK[redacted]-0075

Method: An *in vitro* metabolism study of [^{14}C]KLH-2109 (100 µmol/L) in cryopreserved hepatocytes of mice, rats, monkeys, and humans was performed to confirm the metabolic profile using an HPLC system equipped with radioactivity detector. In addition, mass spectrometry of metabolites was performed to estimate the structure.

Metabolite	RT (min)	^{14}C-mass $[M-H]^-$ (*m/z*)	Percent of Total ^{14}C Peak Area in Chromatogram					Mass shift	Proposed biotransformation of KLH-2109
			Mouse	Male rat	Female rat	Monkey	Human		
KP018	11	353	5.4	0.2	0.5	ND	ND	−156	*O*-dealkylation
KP050	18	671	4.3[a]	ND	0.2	1.6[e]	0.1	+162	Glucuronidation of KP017
M1	18	683	4.3[a]	ND	ND	1.6[e]	ND	+174	Defluorination, mono-oxidation, glucuronidation*
KP143	20	671	ND	ND	ND	0.3	ND	+162	*O*-demethylation, glucuronidation*, ***
M3	22	587	ND	0.3	ND	0.8[f]	ND	+78	Defluorination, mono-oxidation, sulfation*
M4	22	605	1.2	ND	ND	0.8[f]	ND	+96	Mono-oxidation, sulfation*
M5	25	605	0.4[b]	0.7[c]	1.6[d]	0.5[g]	ND	+96	Mono-oxidation, sulfation*
KP048	25	575	0.4[b]	0.7[c]	1.6[d]	0.5[g]	ND	+66	Sulfation of KP046**
M6	26	507	1.4	ND	ND	ND	ND	−2	Defluorination, mono-oxidation*
M7	28	525	0.5	ND	ND	ND	ND	+16	Mono-oxidation*
M8	29	525	0.3	ND	0.1	ND	ND	+16	Mono-oxidation*
KP017	30	495	4.2	0.2	0.6	0.9	0.6	−14	*O*-demethylation
Others			3.6	0.8	0.7	0.9	0.6		
KLH-2109	34	509	78.8	97.9	96.4	95.0	98.8	±0	Unchanged

Notes: [a-g] These peaks were overlapped; ND: Not detected; *Postulated biotransformation; **KP046 is *O*-demethylated KLH-2109; ***KP143 corresponds to M2; RT: Retention time.

2.6.5.10.2 ヒト肝ミクロソームを用いた代謝

Study Title: *In vitro* metabolism study of [^{14}C]KLH-2109 with human liver microsomes

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.4.5
Study Number: DMPK[redacted]-0003

Method: Using HLM, this study was performed to confirm oxidative metabolites of [^{14}C]KLH-2109 (30 µmol/L). In addition, involvement of CYP in the formation of oxidative metabolites was confirmed using 1-aminobenzotriazole (ABzT), a broad CYP inhibitor.

Metabolite	RT (min)	^{14}C-mass[M-H]$^-$ (*m/z*)	Percent of Total ^{14}C Peak Area in Chromatogram		
			HLM (+) NADPH (+)	HLM (−) NADPH (+)	HLM (+) NADPH (−)
KP018	9	353	1.7	0.7	0.7
M6	26	507	0.3	ND	ND
KP046	28	495	1.7	ND	ND
KP017	29	495	5.7	ND	ND
KLH-2109	33	509	89.8	97.8	98.5
M10	37	481	0.3	ND	ND

Notes: RT: Retention time; ND: Not detectable; KP018 (*O*-dealkylation); KP017 (*O*-demethylation); KP046 (*O*-demethylation); M6 and M10: unknown metabolite.

Metabolite	RT (min)	^{14}C-mass[M-H]$^-$ (*m/z*)	Percent of Total ^{14}C Peak Area in Chromatogram	
			Control	+ 1 mmol/L ABzT
KP018	9	353	1.0	0.7 (70.0)
M6	26	507	0.2	ND (NC)
KP046	28	495	1.5	0.2 (13.3)
KP017	29	495	3.8	1.5 (39.5)
KLH-2109	33	509	92.8	96.9
M10	37	481	0.2	ND (NC)

Notes: The percentages of control are given in parentheses; RT: Retention Time; ABzT: 1-aminobenzotriazole; ND: Not detectable; NC: Not calculated; KP018 (*O*-dealkylation); KP017 (*O*-demethylation); KP046 (*O*-demethylation); M6 and M10: unknown metabolite.

Additional Information: KP017, KP046, M6, and M10 were formed from KLH-2109 by CYP. KP018 may be not only formed from KLH-2109 by CYP, similar to other oxidative metabolites, but also formed from KP046 in a non-enzymatic manner at physiological pH.

2.6.5.10.3 ヒト CYP 分子種の推定

Study Title: Reaction-phenotyping of CYP isoforms responsible for metabolism of KLH-2109

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.4.6
Study Number: DMPK[redacted]-0027

Method: Using HLM and CYP isoform-specific inhibitors, and recombinant human CYP isoforms, the CYP responsible for metabolism of [^{14}C]KLH-2109 (30 µmol/L) were identified in *in vitro*.

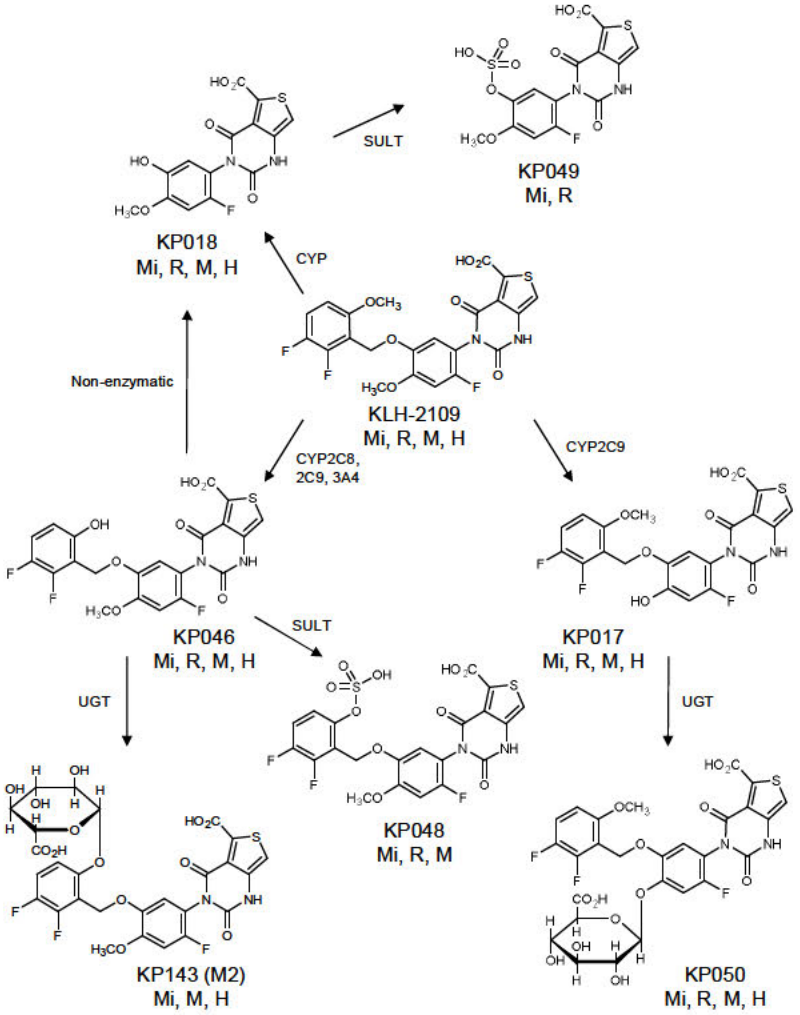
CYP	Chemical inhibitor	Residual activity (% of control)		
		KP018 Formation	KP046 Formation	KP017 Formation
CYP1A2	α-Naphthoflavone (1 µmol/L)	92.1	94.8	98.5
CYP2A6	Tranylcypromine (0.5 µmol/L)	121.9	94.8	104.6
CYP2B6	Thio-TEPA (50 µmol/L)	99.3	92.4	97.3
CYP2C8	Montelukast (3 µmol/L)	72.8	77.1	97.7
CYP2C9	Sulfaphenazole (10 µmol/L)	84.8	72.7	12.2
CYP2C19	Benzylnirvanol (1 µmol/L)	113.9	105.6	91.1
CYP2D6	Quinidine (0.5 µmol/L)	110.6	116.1	98.4
CYP2E1	4-Methylpyrazole (20 µmol/L)	93.4	104.4	104.5
CYP3A4/5	Ketoconazole (1 µmol/L)	55.0	83.9	107.8

Notes: Each value represents the mean of duplicate; Final concentrations of chemical inhibitors are given in parentheses; KP018 (*O*-dealkylation); KP017 (*O*-demethylation); KP046 (*O*-demethylation).

Recombinant human CYP	Formation rate (fmol/min/mg protein)		
	KP018 Formation	KP046 Formation	KP017 Formation
CYP1A2	1998.0	814.0	1011.3
CYP2A6	BC	ND	ND
CYP2B6	926.3	210.0	317.3
CYP2C8	BC	747.3	ND
CYP2C9*1	BC	2360.0	15420.0
CYP2C9*2	BC	2160.0	15940.0
CYP2C9*3	BC	2500.0	11120.0
CYP2C19	BC	57.0	150.0
CYP2D6*1	525.0	154.0	147.0
CYP2E1	BC	555.3	686.0
CYP3A4	BC	1469.3	1140.0
CYP3A5	BC	17.7	22.3

Notes: Each value represents the mean of duplicate; ND: Not detectable; BC: Below control; KP018 (*O*-dealkylation); KP017 (*O*-demethylation); KP046 (*O*-demethylation).

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路



Notes: Mi: mice; R: rats; M: monkeys; H: humans; CYP: cytochrome P450;
SULT: sulfotransferase; UGT: UDP-glucuronosyltransferase.

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12.1 凍結ヒト肝細胞を用いた酵素誘導

Study Title: Enzyme induction with KLH-2109 using cryopreserved human hepatocytes

Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.6.4
Study Number: DMPK[redacted]-0052

Method: To investigate the potential of KLH-2109 to induce CYP1A2, 2B6, and 3A4/5, cryopreserved human hepatocytes individually prepared from 3 donors (2 female/1 male) were thawed and offered to sandwich culture, and exposed to 6, 30, and 150 µmol/L of KLH-2109 for 48 hr. CYP1A2, 2B6, and 3A4/5 activities after exposure were measured, and then the induction ratio for each CYP activity and the ratio to the positive control were calculated.

CYP	Treatment	Activity (pmol/min/10^6 cells)	Induction ratio	Percent of positive control (%)
CYP1A2	0.4% Acetonitrile[a]	8.1 (7.6 to 8.7)	1.0	0.0
	50 µmol/L Omeprazole[b]	267.2 (207.0 to 380.8)	32.7 (26.2 to 43.7)	100.0
	6 µmol/L KLH-2109	7.9 (7.7 to 8.2)	1.0 (0.9 to 1.0)	−0.1 (−0.3 to 0.1)
	30 µmol/L KLH-2109	6.6 (6.2 to 6.9)	0.8 (0.7 to 0.9)	−0.6 (−0.7 to −0.5)
	150 µmol/L KLH-2109	6.3 (6.0 to 7.1)	0.8 (0.7 to 0.9)	−0.7 (−1.0 to −0.3)
CYP2B6	0.4% Acetonitrile[a]	2.8 (2.5 to 3.2)	1.0	0.0
	1000 µmol/L Phenobarbital[b]	31.8 (24.4 to 37.8)	11.4 (7.6 to 14.9)	100.0
	6 µmol/L KLH-2109	2.3 (1.7 to 2.9)	0.8 (0.6 to 0.9)	−2.1 (−3.7 to −1.1)
	30 µmol/L KLH-2109	2.3 (1.7 to 2.8)	0.8 (0.6 to 1.0)	−1.9 (−3.6 to −0.3)
	150 µmol/L KLH-2109	3.3 (1.9 to 4.2)	1.2 (0.7 to 1.6)	1.5 (−2.9 to 4.7)
CYP3A4/5	0.4% Acetonitrile[a]	44.3 (4.4 to 72.9)	1.0	0.0
	10 µmol/L Rifampicin[b]	544.9 (438.3 to 611.8)	39.9 (8.4 to 100.7)	100.0
	6 µmol/L KLH-2109	46.5 (4.1 to 73.5)	1.0 (0.9 to 1.1)	0.4 (−0.1 to 1.2)
	30 µmol/L KLH-2109	76.5 (21.2 to 133.0)	2.7 (1.4 to 4.9)	6.3 (3.7 to 11.2)
	150 µmol/L KLH-2109	214.5 (122.1 to 344.1)	12.0 (3.2 to 28.0)	33.5 (23.0 to 50.3)

Notes: Each value represents the mean of 3 donors; Values in parentheses are expressed as the range from minimum to maximum values; [a] Negative control; [b] Positive control.

2.6.5.12.2 ヒト CYP 活性に及ぼす影響

Study Title: Effects of KLH-2109 on cytochrome P450 activities

Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.6.5
Study Number: DMPK[redacted]-0064

Method: Reversible inhibitory effects and time-dependent inhibitory effects of KLH-2109 on human CYP activities were investigated with HLM in *in vitro*. Reversible and time-dependent inhibitory effects of KLH-2109 on the CYP activities at concentrations of 30 and 100 µmol/L were investigated. In addition, the CYP2C8 activity was less than 50% of control at both concentrations in reversible inhibition assessments, thus reversible inhibitory effects of KLH-2109 on the CYP2C8 activity was investigated at additional 6 concentrations (0.3, 1, 3, 10, 30, and 100 µmol/L) to calculate the IC_{50} value.

CYP	Enzyme activity	Reversible inhibition IC_{50} (µmol/L)	Time dependent inhibition[a]			
			NADPH (−)		NADPH (+)	
			30 µmol/L[b]	100 µmol/L[b]	30 µmol/L[b]	100 µmol/L[b]
CYP1A2	Phenacetin *O*-deethylation	>100	< 20%	< 20%	< 20%	< 20%
CYP2A6	Coumarin 7-hydroxylation	>100	< 20%	< 20%	< 20%	< 20%
CYP2B6	Bupropion hydroxylation	>100	< 20%	< 20%	< 20%	< 20%
CYP2C8	Paclitaxel 6α-hydroxylation	2.89	< 20%	< 20%	21.3%	< 20%
CYP2C9	Tolbutamide hydroxylation	>100	< 20%	< 20%	< 20%	< 20%
CYP2C19	S-Mephenytoin 4'-hydroxylation	>100	< 20%	< 20%	< 20%	< 20%
CYP2D6	Dextromethorphan *O*-demethylation	>100	< 20%	< 20%	< 20%	< 20%
CYP2E1	Chlorzoxazone 6-hydroxylation	>100	< 20%	< 20%	< 20%	< 20%
CYP3A4/5	Midazolam 1'-hydroxylation	>100	< 20%	< 20%	< 20%	< 20%
	Testosterone 6β-hydroxylation	>100	< 20%	< 20%	< 20%	< 20%

Notes: [a] Time-dependent inhibition was evaluated by the decrease in residual CYP activity with pre-incubation for 30 minutes from that with pre-incubation for 0 minute. [b]: Concentration of KLH-2109 at pre-incubation.

2.6.5.12.3 CYP2C8 活性の時間依存的阻害

Study title: Estimation of K_I and k_{inact} of KLH-2109 for CYP2C8 activity

Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.6.6
Study Number: DMPK[redacted]-055

Method(s)**:** Time-dependent inhibition of CYP2C8 activity (paclitaxel 6α-hydroxylation) by KLH-2109 were investigated with HLM, and the K_I and k_{inact} were estimated from k_{obs} and KLH-2109 concentrations.

Inactivation kinetic parameters of KLH-2109 for time-dependent inhibition of CYP2C8 activity			
KLH-2109 (μmol/L)	k_{obs}[a] (min^{-1})	k_{inact} (min^{-1})	K_I (μmol/L)
5	0.00349	0.00639	3.34
10	0.00613		
20	0.00613		
30	0.00538		
40	0.00545		
Inactivation kinetic parameters of phenelzine for time-dependent inhibition of CYP2C8 activity			
Phenelzine (μmol/L)	k_{obs}[a] (min^{-1})	k_{inact} (min^{-1})	K_I (μmol/L)
25	0.00282	0.0558	353
50	0.00574		
100	0.0134		
150	0.0176		
200	0.0193		

Notes: [a] Values are calculated from the mean of two replicates.

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1 ラット：標識体単回投与：尿及び糞中排泄

Study title: Excretion of radioactivity in urine, feces, and bile after administration of [^{14}C]KLH-2109 choline in rats

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in the CTD: 4.2.2.5.1
Study Number: [redacted]

Species:	Rat/Crl:CD(SD)
Gender (M/F)/Number of animals:	M/3 and F/3
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	3
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Assay:	LSC
Specific activity:	3.34 MBq/mg

Time	Cumulative excretion of radioactivity (expressed as mean of % dose administered)					
	M			F		
	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total
0-4 hr	0.9	—	—	2.2	—	—
0-8 hr	3.0	—	—	4.8	—	—
0-24 hr	6.8	53.6	60.4	10.0	36.7	46.8
0-48 hr	9.4	64.1	73.5	13.1	57.2	70.3
0-72 hr	10.9	67.3	78.2	14.8	65.3	80.2
0-96 hr	11.9	69.4	81.4	16.0	68.4	84.3
0-120 hr	12.8	70.9	83.8	16.7	70.2	86.9
0-144 hr	13.5	72.1	85.5	17.3	71.4	88.7
0-168 hr	13.9	73.0	86.9	17.7	72.3	90.0
Carcass (168 hr)	10.0			7.3		
Total	96.9			97.3		

Notes: Data are expressed as the mean values of three animals. — Not determined.

2.6.5.13.2 サル：標識体単回投与：尿及び糞中排泄

Study title: Absorption and excretion after single administration of [^{14}C]KLH-2109 choline in monkeys

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in the CTD: 4.2.2.2.3
Study Number: [redacted]

Species:	Cynomolgous monkey
Gender (M/F)/Number of animals:	F/3
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	3
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Assay:	LSC
Specific activity:	3.34 MBq/mg

Time	Cumulative excretion of radioactivity (expressed as mean % of dose administered)		
	Urine	Feces	Total
0-8 hr	11.9	—	—
0-24 hr	23.0	33.6	56.6
0-48 hr	26.0	65.8	91.8
0-72 hr	26.6	71.2	97.8
0-96 hr	26.8	72.1	98.9
0-120 hr	26.9	72.6	99.5
0-144 hr	27.0	72.8	99.7
0-168 hr	27.0	72.9	99.9
Cage washing (168 hr)	0.4		
Total	100.3		

Notes: Data are expressed as the mean values of three animals. — Not determined.

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

2.6.5.14.1 ラット：標識体単回投与：胆汁中排泄

Study title: Excretion of radioactivity in urine, feces, and bile after administration of [^{14}C]KLH-2109 choline in rats

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in the CTD: 4.2.2.5.1
Study Number: [redacted]

Species:	Rat/Crl:CD(SD); Bile duct cannulated
Gender (M/F)/Number of animals:	F/3
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose (mg/kg):	3
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Assay:	LSC
Specific activity:	3.34 MBq/mg

Cumulative excretion of radioactivity (expressed as % of dose administered)			
Time	Bile	Urine	Feces
0-2 hr	24.7	—	—
0-4 hr	35.3	0.2	—
0-8 hr	44.9	1.1	—
0-24 hr	54.0	2.4	2.0
0-48 hr	58.2	3.8	9.5
Gastrointestinal contents (48 hr)	1.8		
Carcass (48 hr)	24.8		
Total	98.1		

Notes: Data are expressed as the mean values of three animals; — Not determined.

2.6.5.14.2 ラット：標識体単回投与：腸肝循環

Study title: Entero-hepatic circulation of [^{14}C]KLH-2109 choline in rats

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in the CTD: 4.2.2.5.2
Study Number: [redacted]

Species:	Rat/ Crl:CD(SD); Bile duct cannulated
Gender (M/F)/Number of animals:	F/3 dosed orally and F/3 intraduodenally
Feeding condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution
Method of Administration:	Oral / Intraduodenal injection
Dose (mg/kg):	3
Injected dose of bile sample:	28 µg eq./kg[a]
Analyte:	[^{14}C]KLH-2109
Assay:	LSC
Specific activity:	3.34 MBq/mg

Notes: [a] Obtained from fasted female rats (0-8 hr) after a single oral dose of [^{14}C]KLH-2109 choline (3 mg/kg).

Time	Cumulative excretion of radioactivity (expressed as mean % of radioactivity injected)		
	Bile	Urine	Feces
0-2 hr	28.9	—	—
0-4 hr	43.0	1.1[a]	—
0-8 hr	50.5	1.3	—
0-24 hr	59.1	3.8	14.2
0-48 hr	61.9	4.7	16.4
Gastrointestinal contents (48 hr)	1.9		
Carcass (48 hr)	13.0		
Total	97.9		

Notes: Data are expressed as the mean values of three animals; [a] n = 1; —: Not determined.

Additional Information: The reabsorption rate was calculated at approximately 80%.

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1 血漿蛋白結合に及ぼす薬物の影響

Study title: Effects of drugs on *in vitro* plasma protein binding of [^{14}C]KLH-2109

Test Article: [^{14}C]KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.6.1
Study Number: DMPK[redacted]-0055

Method: Effects of drugs on the protein binding of [^{14}C]KLH-2109 in human plasma were evaluated using ultrafiltration. Various drugs were added to human plasma containing [^{14}C]KLH-2109 and the protein binding and unbound fractions of [^{14}C]KLH-2109 were calculated.

Drug	Concentration (μg/mL)	Bound (%)	Unbound (%)	Control ratio
Control	(1% DMSO)	98.9	1.1	1.0
Warfarin	3	98.9	1.1	1.0
	15	99.0	1.0	1.0
Diazepam	15	98.9	1.1	1.0
	75	98.8	1.2	1.1
Digoxin	0.005	98.9	1.1	1.0
	0.025	98.9	1.1	1.0
Ibuprofen	50	98.9	1.1	1.0
	250	98.9	1.1	1.1
Mefenamic Acid	10	98.8	1.2	1.1
	50	98.6	1.4	1.3
Loxoprofen	5	98.9	1.1	1.0
	25	98.9	1.1	1.0
Diclofenac	0.5	98.9	1.1	1.0
	2.5	98.9	1.1	1.0
Indomethacin	3	98.9	1.1	1.1
	15	98.8	1.2	1.1

Notes: Each value represents the mean of three replications. Nominal concentration of [^{14}C]KLH-2109: 20 μg/mL.

2.6.5.15.2 薬物の血漿蛋白結合に及ぼす影響

Study title:
Effects of KLH-2109 on *in vitro* plasma protein binding of the drugs (DMPK[redacted]-0061)
Effects of KLH-2109 on *in vitro* plasma protein binding of loxoprofen (DMPK[redacted]-0049)

Test Article: KLH-2109 Choline

Method: Effects of KLH-2109 on protein binding of the drugs in human plasma were evaluated by ultrafiltration. KLH-2109 was added to human plasma containing various drugs, and the protein binding and unbound fractions of each drug were calculated.

Drug	KLH-2109 Concentration (μg/mL)	Plasma protein binding		Control ratio	Study Number	Location in CTD
		Bound (%)	Unbound (%)			
[^{14}C]Warfarin (3 μg/mL)	0	99.1	0.9	1.0	DMPK[redacted]-0061	4.2.2.6.2
	20	99.0	1.0	1.1		
	100	98.9	1.1	1.2		
[^{14}C]Diazepam (15 μg/mL)	0	96.5	3.5	1.0		
	20	96.5	3.5	1.0		
	100	96.8	3.2	0.9		
[^{3}H]Digoxin (0.005 μg/mL)	0	39.3	60.7	1.0		
	20	38.3	61.7	1.0		
	100	38.4	61.6	1.0		
[^{14}C]Ibuprofen (20 μg/mL)	0	99.2	0.8	1.0		
	20	99.2	0.8	1.0		
	100	99.2	0.8	1.0		
[^{14}C]Diclofenac (0.5 μg/mL)	0	99.4	0.6	1.0		
	20	99.3	0.7	1.1		
	100	99.3	0.7	1.1		
Loxoprofen (5 μg/mL)	0	95.7	4.3	1.0	DMPK[redacted]-0049	4.2.2.6.3
	20	95.4	4.6	1.1		
	100	95.4	4.6	1.1		

Notes: Each value represents the mean of three replications. Nominal concentration of the drugs are given in parentheses.

2.6.5.15.3 P-gp を介したジゴキシン輸送に及ぼす影響

Study title: Effects of KLH-2109 on P-glycoprotein-mediated transport of digoxin using Caco-2 cell monolayers

Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.6.7
Study Number: DMPK[redacted]-0015

Method: To investigate the effects of KLH-2109 on P-gp-mediated digoxin transport, the apparent permeability from the apical membrane side to the basolateral membrane side and from the basolateral membrane side to the apical membrane side ($P_{A/B}$ and $P_{B/A}$, respectively) of [^{3}H]digoxin (1 μmol/L) across Caco-2 cell monolayers in the presence and absence of KLH-2109 were calculated, and the inhibition ratio of [^{3}H]digoxin transport by KLH-2109 was also calculated.

Group	P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/s)		R_E	$P_{B/A}-P_{A/B}$ ($\times 10^{-6}$ cm/s)	IR (%)
	$P_{A/B}$	$P_{B/A}$			
[^{3}H]Digoxin	1.23	19.18	15.6	18.0	0.0
+ 30 μmol/L KLH-2109	1.21	20.73	17.1	19.5	−8.7
+ 100 μmol/L KLH-2109	1.21	22.76	18.8	21.6	−20.1
+ 300 μmol/L KLH-2109	1.35	21.18	15.6	19.8	−10.5
+ 100 μmol/L Verapamil	4.87	5.16	1.1	0.3	98.4
+ 100 μmol/L Ketoconazole	5.96	5.82	1.0	−0.1	100.7

Notes: P_{app} values are expressed as the mean of three replicates; R_E: efflux ratio; IR: inhibition ratio.

2.6.5.15.4 BSEP 輸送活性に及ぼす影響

Study Title: *In vitro* interaction studies of KLH-2109 with the human BSEP efflux (ABC) transporter

Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.6.8
Study Number: [redacted]

Method: To evaluate the inhibitory effect of KLH-2109 on typical BSEP substrate transport, uptake of [^{3}H]taurocholic acid (0.2 µmol/L) using inside-out membrane vesicles overexpressing human BSEP transporters were assayed in the absence and presence of KLH-2109, and the IC_{50} value was estimated.

The IC_{50} of KLH-2109 for BSEP-mediated uptake amount of the typical substrates		
Transporter isoform	Typical substrates	IC_{50} (µmol/L)
BSEP	[^{3}H]Taurocholic acid	195.1

Notes: Concentrations tested: 0.34, 1.03, 3.09, 9.26, 27.78, 83.33, and 250.00 µmol/L of KLH-2109.

2.6.5.15.5 SLC トランスポーター（OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 及び OCT2）輸送活性に及ぼす影響

Study Title: Inhibitory effects of KLH-2109 on the transport activity of OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, and OCT2 using transporter expressing cells

Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.6.9
Study Number: [redacted]

Method: To evaluate the inhibitory effect of KLH-2109 on each typical substrate transport, uptake of the typical substrates using human solute carrier (SLC) transporter (OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, and OCT2) expressing cells were assayed, and the IC_{50} values were estimated.

The IC_{50} of KLH-2109 for SLC transporter-mediated uptake amount of the typical substrates		
Transporter isoform	Typical substrates	IC_{50} (μmol/L)
OATP1B1	[^{3}H]Estradiol 17β-D-glucuronide (0.05 μmol/L)	11.2
OATP1B3	[^{3}H]Estradiol 17β-D-glucuronide (0.05 μmol/L)	32.7
OAT1	[^{3}H]p-Aminohippuric acid (1 μmol/L)	99.9
OAT3	[^{3}H]Estrone 3-sulfate (0.01 μmol/L)	0.964
OCT2	[^{14}C]Metformin (5 μmol/L)	>100

Notes: Concentrations tested: 1, 3, 10, 30, and 100 μmol/L of KLH-2109 for OATP1B1/1B3, OAT1, and OCT2; 0.1, 0.3, 1, 3, and 10 μmol/L of KLH-2109 for OAT3.

2.6.5.15.6 P-gp、BCRP 及び SLC トランスポーター基質性評価並びに BCRP、MATE1 及び MATE2-K 輸送活性に及ぼす影響

Study Title: Assessment of KLH-2109 as substrate and inhibitor of drug transporters

Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.2.6.10
Study Number: [redacted]

Method: To assess the potential of KLH-2109 to be a substrate for human P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, MATE1, and MATE2-K, the *in vitro* transport activities using their expressing cells and mock cells were evaluated. In addition, the inhibitory effects of KLH-2109 on human BCRP, MATE1, and MATE2-K were assessed using Caco-2 cell monolayer, MATE1-, and MATE2-K expressing cells, respectively.

Transporter isoform	Substrate	Inhibitor	Inhibition (%)	Net flux ratio
P-gp	[^{14}C]KLH-2109 (10-300 μmol/L)	—	—	1.53 to 2.13
	[^{14}C]KLH-2109 (10 μmol/L)	Verapamil (30 μmol/L)	43.5	1.52
BCRP	[^{14}C]KLH-2109 (10-300 μmol/L)	—	—	1.45 to 4.08
	[^{14}C]KLH-2109 (10 μmol/L)	Ko143 (0.1 μmol/L)	60.0	1.52
Transporter isoform	Substrate	Inhibitor	Inhibition (%)	Uptake ratio
OATP1B1	[^{14}C]KLH-2109 (10 and 30 μmol/L)	—	—	4.60 to 8.04
	[^{14}C]KLH-2109 (10 μmol/L)	Rifampicin (10 μmol/L)	91.3 to 97.6	—
OATP1B3	[^{14}C]KLH-2109 (10 and 30 μmol/L)	—	—	11.5 to 18.3
	[^{14}C]KLH-2109 (10 μmol/L)	Rifampicin (10 μmol/L)	89.0 to 90.4	—
OAT1	[^{14}C]KLH-2109 (10 and 30 μmol/L)	—	—	0.855 to 1.16
	[^{14}C]KLH-2109 (10 μmol/L)	Probenecid (100 μmol/L)	−1800.0, 100.0	—
OAT3	[^{14}C]KLH-2109 (10 and 30 μmol/L)	—	—	1.11 to 2.75
	[^{14}C]KLH-2109 (10 μmol/L)	Probenecid (100 μmol/L)	60.0 to 80.2	—
OCT2	[^{14}C]KLH-2109 (10 and 30 μmol/L)	—	—	0.695 to 1.16
	[^{14}C]KLH-2109 (10 μmol/L)	Quinidine (300 μmol/L)	−107.9	—
MATE1	[^{14}C]KLH-2109 (10 and 30 μmol/L)	—	—	1.22 to 1.60
	[^{14}C]KLH-2109 (10 μmol/L)	Pyrimethamine (1 μmol/L)	84.4 to 100.0	—
MATE2-K	[^{14}C]KLH-2109 (10 and 30 μmol/L)	—	—	1.44 to 1.97
	[^{14}C]KLH-2109 (10 μmol/L)	Pyrimethamine (1 μmol/L)	27.3 to 38.6	—
Transporter isoform	Substrate	Inhibitor	Observation *in vitro*	
BCRP	[^{3}H]E3-S (0.1 μmol/L)	KLH-2109 (3-300 μmol/L)	No interaction up to 300 μmol/L with remaining activities of 58.8% to 130.2% (Inhibition: −30.2% to 41.2%; IC_{50} >300 μmol/L)	
MATE1	[^{14}C]Metformin (20 μmol/L)	KLH-2109 (1-100 μmol/L)	No interaction up to 100 μmol/L with remaining activities of 79.3% – 101.4% (Inhibition: −1.4% to 20.7%; IC_{50} >100 μmol/L)	
MATE2-K	[^{14}C]Metformin (5 μmol/L)	KLH-2109 (1-100 μmol/L)	No interaction up to 100 μmol/L with remaining activities of 119.6% – 130.7% (Inhibition: −19.6% to −30.7%; IC_{50} >100 μmol/L)	

Notes: Each value represents the mean of three replications; E3-S: Estrone 3-Sulfate; It was determined to be a transporter substrate in the case of following results: net flux ratio or uptake ratio was >2 and inhibition was >50%.

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

該当する試験なし