2.6.4 薬物動態試験の概要文

KalVista Pharmaceuticals

目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 7
2.6.4.1 まとめ 7
2.6.4.2 分析方法 9
2.6.4.2.1 投与用調製薬液の分析法バリデーション 9
2.6.4.2.2 血漿中のセベトラルスタット定量のための整体試料中薬物濃度分析法のバリデーション 10
2.6.4.3 吸収 12
2.6.4.3.1 *In vitro* 試験 12
2.6.4.3.2 *In vivo* 試験 12
2.6.4.3.3 トキシコキネティクス 20
2.6.4.4 分布 21
2.6.4.4.1 血液細胞におけるタンパク結合と分布 22
2.6.4.4.2 *In vitro* におけるメラニン結合 23
2.6.4.4.3 組織分布試験 23
2.6.4.5 代謝（動物種間比較） 26
2.6.4.5.1 *In vitro* でのクリアランスと代謝 27
2.6.4.5.2 *In vivo* 代謝試験 29
2.6.4.5.3 想定される代謝経路 36
2.6.4.5.4 CYP 酵素に関する試験 38
2.6.4.6 排泄 40
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 43
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 49
2.6.4.9 考察及び結論 49

表一覧

表 1: 動物種ごとのバリデートされた生体試料中薬物濃度分析法の概要 11
表 2: マウスにおけるセベトラルスタットの単回投与血漿中薬物動態 13
表 3: ラットにおけるセベトラルスタットの単回投与後の血漿中薬物動態 14
表 4: [^{14}C]セベトラルスタット単回投与後のラットにおける総放射能の血漿中及び血中の薬物動態 15
表 5: ウサギにおけるセベトラルスタットの単回投与後の血漿中薬物動態 16
表 6: イヌにおけるセベトラルスタットの単回投与後の血漿中薬物動態 16
表 7: NHP におけるセベトラルスタットの単回投与後の血漿中薬物動態 18
表 8: NHP におけるセベトラルスタットの単回投与後の血漿中薬物動態（3 種類の異なる調製薬液） 19
表 9: [^{14}C]セベトラルスタット単回投与後の NHP における総放射能の血漿及び血中薬物動態 19
表 10: 試験期間が最も長いピボタル試験のトキシコキネティクスデータ 20
表 11: セベトラルスタットの血漿タンパク結合性（表は非結合型分率を示す） 22
表 12: セベトラルスタットの血液対血漿比 23
表 13: 雄アルビノラットに 30 mg/kg の[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与後の各組織における放射能濃度 24
表 14: 雄有色ラットに 30 mg/kg の[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与後の各組織における放射能濃度 24

表 15: 交配済の雌アルビノラットに 30 mg/kg の[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与後の各組織における放射能濃度 25
表 16: 肝ミクロソームにおけるセベトラルスタットの固有クリアランス 27
表 17: 肝細胞におけるセベトラルスタットの固有クリアランス 28
表 18: [^{14}C]セベトラルスタット経口投与後のラットの尿、糞便、胆汁及び血漿中に検出された主な代謝物 29
表 19: ラットにセベトラルスタットを 1 日 1 回反復経口投与したときの試験 177 日における M19（KV124020）の血漿中薬物動態（8418576 試験） 30
表 20: [^{14}C]セベトラルスタットの経口投与後に NHP の尿、糞便及び血漿中に検出された主な代謝物 31
表 21: NHP にセベトラルスタットを週 2 回経口投与したときの試験 85 日における M19（KV124020）の血漿中薬物動態（8420897 試験） 33
表 22: 経口投与後のヒト、ラット及び NHP 血漿中で検出された代謝物、並びにヒトと動物の血漿間での相対的存在量 34
表 23: [^{14}C]セベトラルスタット経口投与後のヒトの尿、糞便及び血漿中に検出された主な代謝物 35
表 24: セベトラルスタットの代謝に対するチトクローム P450 酵素の寄与 38
表 25: CYP アイソフォームの特異的阻害剤が 10 µmol/L [^{14}C]セベトラルスタットのヒト肝ミクロソーム代謝、及び代謝物 UK1～UK4 と UK10 の生成に及ぼす影響 39
表 26: 30 mg/kg [^{14}C]セベトラルスタット経口投与後の無処置ラット及び胆管カニューレ挿入ラットにおける総放射能の平均累積排泄量 41
表 27: [^{14}C]セベトラルスタット 10 mg/kg を経口投与後の NHP における総放射能の平均累積排泄量 42
表 28: セベトラルスタットによる SLC トランスポーターの阻害評価のためのアッセイの詳細 47
表 29: セベトラルスタットによる ABC トランスポーターの阻害評価に関するアッセイの詳細 48
表 30: セベトラルスタットの主なヒト代謝物 52

図一覧

図 1: ADME 試験に用いた[^{14}C]セベトラルスタット（放射能標識の位置を表示） 7
図 2: [^{14}C]セベトラルスタットの経口投与後のヒト尿、糞便及び血漿中に検出された主な代謝物（排泄量が投与量の 2%超又は AUC_{0-24} 血漿中総放射能の 2%超）、並びにラット及び NHP 中の生物学的マトリックス中におけるそれらの存在の有無 37

略語一覧

略語	英語	日本語
ABC	ATP-binding cassette	ATP 結合カセット
ADME	absorption, distribution, metabolism and excretion	吸収・分布・代謝・排泄
AUC	area under the concentration versus time curve	濃度-時間曲線下面積
B2M	beta-2-macroglobulin	β2 マクログロブリン
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BCS	Biopharmaceutics Classification System	生物薬剤学分類システム
B_{max}	maximum binding capacity	最大結合能
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
Caco-2	colorectal adenocarcinoma	結腸直腸腺癌
C_{max}	maximum observed concentration	最高血中濃度
CL	clearance	クリアランス
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
F	oral bioavailability	経口バイオアベイラビリティ
GAPDH	glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	グリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ
GD	gestation day	妊娠日数
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
HAE	Hereditary Angioedema	遺伝性血管性浮腫
HEK293	human embryonic kidney 293 cells	ヒト胎児腎細胞 293
hERG	human ether-a-go-go-related gene	ヒト *ether-à-go-go* 関連遺伝子
HP-β-CD	hydroxypropyl β-cyclodextrin	ヒドロキシプロピル β-シクロデキストリン
HPMC	hydroxypropylmethylcellulose	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
HW	Han Wistar	Han Wistar
i.v.	intravenous	静脈内
K_d	dissociation constant	解離定数
Km	Michaelis constant	ミカエリス・メンテン定数

略語	英語	日本語
LC-MS/MS	liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法
LC-UV	liquid chromatography-ultraviolet detection	液体クロマトグラフィー-紫外線検出
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数
MATE	multidrug and toxin extrusion transporter	多剤毒素排出トランスポーター
MDCK	Madin Darby Canine Kidney cells	Madin Darby イヌ腎細胞
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form)	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NHP	non-human primate	非ヒト霊長類
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
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-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク質
P_{app}	apparent permeability	見掛けの透過性
PKa	plasma kallikrein	血漿カリクレイン
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
qRT-PCR	real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction	リアルタイム定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
SD	Sprague Dawley	Sprague Dawley
SLC	solute carrier	溶質キャリア
$T_{1/2}$	half-life	半減期
TK	toxicokinetic	トキシコキネティクス
T_{max}	time to maximum observed concentration	最高血中濃度到達時間
TPGS	D-α-tocopherol polyethylene glycol 1,000 succinate	D-α-トコフェロールポリエチレングリコール 1000 コハク酸エステル
UGT	uridine 5’-diphospho-glucurosyl transferase	ウリジン-5'-ジホスホ-グルクロノシルトランスフェラーゼ
UPLC/QE-orbitrap-MS	ultraperformance liquid chromatography plus Q-Exactive Orbitrap tandem mass spectrometry	超高速液体クロマトグラフィー＋Q-Exactive Orbitrap タンデム質量分析

略語	英語	日本語
V_{ss}	steady state volume of distribution	定常状態での分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

セベトラルスタット（KVD900 又は KV123900 とも呼ばれる）（以下、「本薬」という）は、成人及び 12 歳以上の青少年における遺伝性血管性浮腫（HAE）発作の経口治療薬として開発された、ヒト血漿カリクレイン（PKa）に対する新規低分子阻害薬である。本薬は、ヒト PKa の強力で競合的な可逆的阻害薬であり、HAE 発作時に生じる浮腫のメディエーターであるブラジキニンの生成を減少させる。

本薬の動物及びヒトにおける吸収・分布・代謝・排泄（ADME）に関する情報は、本資料に示された試験から得られたものである。実施した試験の一覧をモジュール 2.6.5.1 に示す。ADME 試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を適用して実施されたものではないが、その実施要領及び手順は GLP の原則に合致している。なお、モジュール 2.6.4.3.3 に示したトキシコキネティクスデータは GLP 適用試験で得られた。

本薬の包括的 ADME プロファイルは、毒性試験に用いられたげっ歯類及び非げっ歯類の動物種である、Han Wistar（HW）ラット及び非ヒト霊長類（NHP、カニクイザル）に、[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与して調べた。これらの試験では、[^{14}C]セベトラルスタットを 0.5%のヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）で調製したが、これは 13 週間及び 26 週間の毒性試験で使用された処方と同様である。また、[^{14}C]セベトラルスタットは、臨床マスバランス試験においてもヒトに投与された。これらの試験で使用された本薬の構造及び ^{14}C の標識部位を図 1 に示す。

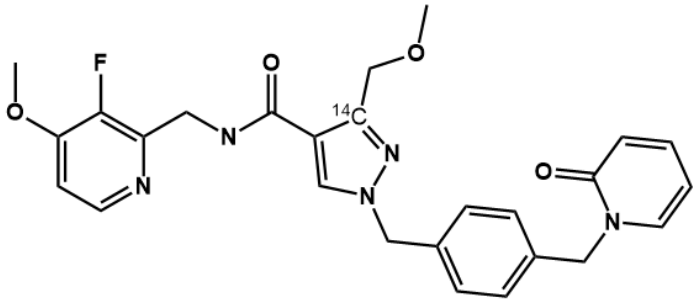


図 1: ADME 試験に用いた[^{14}C]セベトラルスタット（放射能標識の位置を表示）

マウス、ラット、イヌ及び NHP における非放射能標識の本薬を用いた薬物動態（PK）試験では、本薬は概して速やかに吸収され、経口バイオアベイラビリティは中程度（23～67%）であった。ヒト、ラット及び NHP における[^{14}C]セベトラルスタットを用いた各試験のデータでは、経口投与量の 70～80%が吸収されることが示唆された。

GLP 試験（毒性試験及び安全性薬理試験）において得られた血漿検体のトキシコキネティクス解析は、バリデートされた生体試料中薬物濃度分析法（ICH S3A）を用いて実施した。これらの試験では、経口投与後の吸収は概して速やかであった（最高血中濃度到達時間［T_{max}］が通常は 2 時間以内）。最高血中濃度（C_{max}）の上昇は概ね用量に比例したが、AUC（濃度-時間曲線下面積）は、用量比を上回る増加が認められる場合もあった。投与初日のげっ歯類で雌の曝露量が雄よりも高かったのを除き、一貫した性差は認められなかった。反復投与による典型的な蓄積性は、雄ラットを除いて観察されなかった。

ラットでは、[^{14}C]セベトラルスタットの経口投与後に組織（脳／中枢神経系［CNS］以外）への放射能の急速かつ広範な分布がみられ、[^{14}C]セベトラルスタットの濃度は速やかに低下し、最高濃度は概して排泄に寄与する臓器で認められた。放射能の分布とメラニン含有組織はある程度関連していたが、この関連性は低く、可逆的であった。*In vitro* では全ての種において赤血球への本薬の移行は限定的であり、ラット、NHP 及びヒトにおいて[^{14}C]セベトラルスタット投与後の血中総放射能濃度は、概して血漿中の濃度より低かった。本薬の血漿タンパク結合率は、いずれの動物種においても中程度～高度であった（非結合型分率 0.039～0.376）。ヒト血漿中の非結合型分率の平均値は 0.232 であった。

[^{14}C]セベトラルスタットをラットに経口投与した結果、放射能の総回収率は糞便中に投与量の 91%、尿中に 7%と、速やかかつ完全に回収された（総平均回収率は 99%）。胆管カニューレを施したラットに[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与すると、放射能はそれぞれ胆汁中に平均 55%、尿中に 10%、糞便中に 31%が回収された。同様に NHP でも速やかで完全な放射能の回収が認められ、尿中に 10%、糞便中に 82%が回収された（総平均回収率 95%）。[^{14}C]セベトラルスタット 600 mg を経口投与したヒト被験者では、放射能の迅速かつ完全な回収が認められ、平均して糞便中に 63%、尿中に 32%が回収され、総平均回収率は 95%超であった。

本薬の代謝パターンを、ヒトに本薬 600 mg を投与した後に得られた血漿中、及びラットと NHP への反復投与後の毒性試験において得られた血漿で調べた。ヒトでは、*O*-脱メチル化、水酸化、二重酸化／二重水素化などの一連の第 1 相代謝物が認められた。これらの代謝物の一部ではさらに第 2 相抱合が生じた。また、全てのヒト血漿中代謝物は、ラット及び NHP 血漿においても認められた。*In vitro* で本薬をヒト及び動物（マウス、ラット、ウサギ、ブタ、イヌ、NHP）の肝細胞とインキュベートした後も同様の代謝経路が認められた。

[^{14}C]セベトラルスタットを投与したラットでは、親化合物の広範な生体内変換が認められた。親化合物の排泄量は、他の代謝物との共溶出のために評価が困難であったが、尿中では投与量の 4%未満であり、血漿中では主要な循環成分であった。同定された代謝物には、本薬の *O*-脱メチル化、水酸化、分解生成物が含まれた。NHP では、同様に[^{14}C]セベトラルスタットの広範な生体内変換が認められた。未変化体は、尿中では投与量の 0.5%未満、糞便中では 20%以下であった。同定された代謝物には、本薬の *O*-脱メチル化、水酸化、二重酸化／二重水素化、及び分解生成物が含まれた。NHP の AUC 血漿プールでは、未変化体が主な薬物関連成分であったが、ヒドロキシグルクロニドもほぼ同等に存在し、分解生成物である M19 及び M10、ピリジル基からの脱メチル生成物である M3 など、共溶出によりそれぞれの定量が不可能であった他の多くの代謝産物も含まれていた。

[^{14}C]セベトラルスタット 600 mg をヒト被験者に経口投与したとき、本薬は血漿中で主要な薬物関連成分であり、薬物関連成分の $AUC_{0\text{-}24}$ の平均 64.1%を占めていた。全被験者の $AUC_{0\text{-}24}$ において、薬物関連成分の平均 10%を超える代謝物はなかった。最も多く認められた血漿中代謝物は、分解生成物 M19 及び M10（それぞれ $AUC_{0\text{-}24}$ の平均値：7.10%及び 4.00%）並びにピリジル基からの脱メチル生成物 M3（$AUC_{0\text{-}24}$ の平均値：4.01%）であった。種々の代謝物への広範な生体内変換が認められたが、本薬が尿及び糞便中の主要な薬物関連成分であった（被験者全体で投与放射能のそれぞれ平均 8.66%及び 12.5%）。尿中に本薬として投与量の 13%を超えて排泄された被験者はいなかった。排泄物において投与量の 5%超を占める代謝物の主な生体内変換経路は、分子中の 2 つの異なる点での鎖切断（M19 と M10、M10 は尿中で二重酸化／二重水素化生成物［M41］と共溶出）、二重酸化／二重水素化生成物（M34）及びピリジル基からの脱メチル生成物 M3 であった。

ヒト血漿中で最も多く認められた代謝物（M19、KV124020、AUC_{0-24} の平均 7.10%）は、ラットの 26 週間毒性試験において無毒性量（NOAEL）での本薬の反復投与後、血漿中に同等量以上存在することが示され、NHP の 13 週間の間欠投与毒性試験の血漿中でも定量された。

In vitro で本薬は、200 µmol/L までの濃度で、シトクロム P450（CYP）1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C19 又は CYP2D6 を阻害しなかったが、CYP2C9 及び 3A4 への直接的（非時間依存的）阻害が認められた。本薬はヒト肝細胞において CYP1A2 の *in vitro* 誘導を引き起こさなかったが、本薬 10 µmol/L 以上で CYP3A4 の誘導が認められた。少なくとも 1 例のドナーから得られた肝細胞では、本薬 100 µmol/L で CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 の誘導が認められた。本薬は *in vitro* では 100 µmol/L までの濃度で P-糖タンパク質（P-gp）を阻害せず、乳癌耐性タンパク質（BCRP）に対して弱い阻害を示した。本薬は *in vitro* で、有機アニオントランスポーター（OAT）1 以外の全ての検討された腎臓及び肝臓のトランスポーターを阻害し、その IC_{50} 値は 5.28～86.3 µmol/L の範囲であった。本薬は、多剤毒素排出トランスポーター（MATE）2-K 以外の検討したいずれの腎又は肝トランスポーターの基質でもなく、MATE2-K に対しては境界的な基質であった。一方で P-gp と BCRP の両方の基質であった。

本薬は 1 µmol/L の濃度で、複数の CYP アイソフォーム、主に CYP3A4 により *in vitro* で代謝されることが示された。本薬代謝のミカエリス・メンテン定数（K_m）に近い本薬濃度（10 µmol/L）で、インキュベーション条件を最適化した追加試験では、*in vitro* での本薬の代謝回転率は低かったが、CYP3A4 が *in vitro* での主な代謝 CYP アイソフォームであること、及び、CYP2C8 も若干代謝に寄与していることが確認された。

2.6.4.2 分析方法

投与調製薬物中及びマウス、ラット、ウサギ、イヌ及び NHP 由来の血漿中の本薬の定量法を開発し、バリデートした。これらの方法の概要をモジュール 2.6.5.2 に示す。

2.6.4.2.1 投与用調製薬液の分析法バリデーション

液体クロマトグラフィー-紫外線検出（LC-UV）法のバリデーションを目的として、投与用調製薬液中の本薬の均一性及び安定性を定量評価する試験（8350958 試験）を実施した。この試験では、本薬濃度が 0.5～3.0 µg/mL 及び 1.67～10.0 µg/mL の校正範囲の範囲で適切にバリデートされた。本薬（1 及び 100 mg/mL）は、20% D-α-トコフェロールポリエチレングリコール 1000 コハク酸エステル（TPGS）水溶液中で均一であり、室温で 12 日間安定であると考えられた。また、本薬（0.05 及び 50 mg/mL）は、ジメチルスルホキシド（DMSO）中では室温で 6 時間、また 3 及び 30 µmol/L の濃度でヒト *ether-à-go-go* 関連遺伝子（hERG）試験用水性緩衝液＋0.3% DMSO 中において-20°C 及び-80°C で 21 日間安定であった。

別の試験を実施し（JAM0008 試験）、20% TPGS 水溶液中の本薬（1 及び 100 mg/mL）の定量について、この分析法のさらなるバリデーションを行った。この試験は、他の試験施設での投与用調製薬液分析の妥当性をサポートするために実施した。

DMSO 調製薬液中の本薬の定量のための LC-UV 法のバリデーションを行い、DMSO 中の本薬の保存安定性の評価のため、さらなる試験を実施した（20285216 試験）。この試験は、3T3 光毒性試験の妥当性をサポートするために実施した。

0.5% w/v HPMC 水溶液（調製薬液）中の本薬の定量を目的とした LC-UV 法のバリデーション試験（JAM0016 試験）を実施した。試験結果から、本法は、0.5% w/v HPMC 中の 1～100 mg/mL の

濃度の本薬を定量するのに適切であることが示された。その後の試験（JAM0017 試験）で、本調製薬液の精度、均一性及び安定性を検討した。0.5% w/v HPMC 水溶液で調製した本薬の調製薬液は、1～100 mg/mL の濃度で正確かつ均一であることが示された。1 及び 30 mg/mL の調製薬液は、室温で保存した場合は最長 8 日間、冷蔵保存した場合は最長 13 日間安定であった。希釈投与用調製薬液試料及び 5 µg/mL 標準溶液は、室温保存で最長 8 日間安定であった。

0.5% w/v HPMC 水溶液中の本薬（0.5 及び 50 mg/mL）の定量について、分析法のバリデーションを行うため、追加試験を実施した（8405179 試験）。この試験は、他の試験施設での投与用調製薬液分析の妥当性をサポートするために実施した。

0.5% w/v HPMC 水溶液中の本薬（20196163 試験では 1 及び 150 mg/mL、20287544 試験では 1 及び 60 mg/mL）の定量について、分析法のバリデーションを行うため、さらに複数の試験を実施した（20196163 試験及び 20287544 試験）。この試験は、別の試験施設での投与用調製薬液分析の妥当性をサポートするために実施した。

0.5% w/v HPMC 水溶液中の本薬（0.3mg/mL）の定量について LC-UV 法のバリデーションを行い、投与用調製薬液の均一性及び安定性をバリデートするため、さらに複数の試験を実施した（JAM0044 試験及び JAM0045 試験）。この試験は、他の試験施設での投与用調製薬液分析の妥当性をサポートするために実施した。

In vitro 遺伝毒性試験における DMSO 中の本薬関連不純物である PPP7584 及び PPP758 デスフルオロの分析法のバリデーションを行い、調製薬液の安定性を示すための試験を実施した（JAM0093 試験及び JAM0097 試験）。

2.6.4.2.2 血漿中のセベトラルスタット定量のための整体試料中薬物濃度分析法のバリデーション

GLP 適用の反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験及びがん原性試験から得られた GLP マウス、ラット、ウサギ、イヌ及び NHP のトキシコキネティクス試料の分析には、バリデートされた分析法を用いた。分析は液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法（LC-MS/MS）を用いて行い、全てのアッセイで内部標準として D_8-重水素化本薬（KV126341）を用いた。各動物種における生体試料中薬物濃度分析法の要約を表 1 に示す。精度及び真度の値は、非定量下限（LLOQ）品質管理検体からのものであり、LLOQ の精度及び真度のデータは全て、評価基準を満たした。

表 1:　動物種ごとのバリデートされた生体試料中薬物濃度分析法の概要

Species	Mouse	Rat	Rabbit	Dog	NHP
Study	01273002	8346068	JAM0007	8346069	8362393
Method of analysis	LC-MS/MS				
Internal standard	D_8-deuterated Sebetralstat (KV126341)				
Range (ng/mL)	10-10,000	10-10,000	10-5,000	10-10,000	5.09-5,090
Dilution	50x	20x	50x	20x	50x
Intra-assay precision	≤7.3%	≤11.0%	≤8.62%	≤8.2%	≤7.0%
Intra-assay accuracy	≤±8.0%	≤±14.7%	≤±7.60%	≤±4.9%	≤±2.5%
Inter-assay precision	≤5.9%	≤10.4%	≤6.78%	≤6.9%	≤5.5%
Inter-assay accuracy	≤±2.3%	≤±7.0%	≤±4.40%	≤±3.1%	≤±1.5%
Frozen stability	93 days (-70ºC)	406 days (-20/-80ºC) (8348811)	29/28 days (-20/-80ºC)	100 days (-20/-80ºC) (8348810)	452 days (-20/-80ºC) (8366594)

反復投与毒性試験のサポートとして、ラット血漿（8346068 試験及び 8348811 試験）、イヌ血漿（8346069 試験及び 8348810 試験）及び NHP 血漿（8362393 試験及び 8366594 試験）中の本薬の定量法をバリデートした。ラット及びイヌの血漿試料（20 µL）については、内部標準物質を含む 50:50 のアセトニトリル:水 20 µL を添加した後、アセトニトリル 400 µL で沈殿させた。混合後、5 分間遠心分離し、上清 5 µL を 10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液:アセトニトリル:ギ酸（80:20:0.16）600 µL に加えた。分析は、10～10,000 ng/mL の校正範囲を用いて行った。本薬は、-20°C 及び-80°C で保存した場合、ラット血漿では最長 406 日間、イヌ血漿では最長 100 日間安定であることが示された。

NHP の血漿試料（20 µL）については、内部標準物質を含む 50:50 のアセトニトリル:水 20 µL を添加した後、アセトニトリル 400 µL で沈殿させた。混合後、5 分間遠心分離し、上清 25 µL を 10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液:アセトニトリル:ギ酸（80:20:0.16）300 µL に加えた。分析は、5～5,000 ng/mL の校正範囲（実際の範囲は 5.09～5,090 ng/mL）を用いて行った。本薬は、-20°C 及び-80°C で保存した場合、NHP 血漿では最長 452 日間安定であることが示された。この生体試料中薬物濃度分析法は、別の試験施設で実施された NHP 検体の生体試料中薬物濃度分析（01273006 試験）をもサポートすることがバリデートされた。

各生殖発生毒性試験及びラットにおけるがん原性試験のサポートとして、ラット血漿（JAM0006 試験）及びウサギ血漿（JAM0007 試験）中の本薬の生体試料中薬物濃度分析法についてバリデーションを行った。ラット及びウサギの血漿試料（5 µL）を、内部標準物質を含む 1%ギ酸アセトニトリル溶液 200 µL に添加し、沈殿させた。混合ろ過後、上清を蒸発乾固し、0.1%アンモニア:アセトニトリル（8:2）100 µL に溶解し、混合した。分析は、10～5,000 ng/mL の校正範囲を用いて行った。本薬は、-20°C 及び-80°C で保存した場合、ウサギ血漿では最長 28 日間安定であることが示された。ラット血漿中における安定性は、以前の試験で確立されている（8346068 試験及び 8348811 試験）。

がん原性試験のサポートととして、マウス血漿中の本薬の定量について生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションを行った（01273002 試験）。マウス血漿試料（20 µL）に、pH 9 の 95:5 のアセトニトリル:100 mmol/L 酢酸アンモニウム 200 µL を混和し、さらに内標準物質を含む pH 9 の

95:5 のアセトニトリル:100 mmol/L 酢酸アンモニウム 200 µL を混和した。混合と遠心分離を行った後、上清 110 µL に水 220 µL を混和した。さらに遠心分離と混合を行った後、10～10,000 ng/mL の校正範囲を用いて分析を行った。本薬は、-70°C で保存した場合、マウス血漿では最長 93 日間安定であることが示された。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 *In vitro* 試験

本薬の腸管透過性の *in vitro* 評価を、本薬濃度 50 µmol/L において、3 日間培養したヒト上皮性結腸直腸腺癌（Caco-2）細胞を用いて実施した（051_KV123900_PK_2016 試験）。本薬の見掛けの透過性（P_{app}）は、頂端側から側底側方向で 9.0×10^{-6} cm/s であった。これらのデータは、本薬が中程度の透過性を有する化合物であることを示している。

2.6.4.3.2 *In vivo* 試験

本薬の血漿中濃度を LC-MS/MS を用いて測定する PK 試験を、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及び NHP について、単回静脈内投与及び／又は経口投与により実施した。これらの PK 試験で使用された調製薬液は、一般的に薬物の溶解性を高めることを目的としており、臨床処方を反映するものではなかった。ラット及び NHP への[^{14}C]セベトラルスタットの経口投与後、液体シンチレーション計数（LSC）を用いて、血漿及び血液検体中の放射能を測定した。これらの試験では、[^{14}C]セベトラルスタットは 13 週間及び 26 週間の毒性試験で用いたのと同じ 0.5% HPMC 水溶液で調製した。全ての PK パラメータは、WinNonlin の非コンパートメント解析を用いて算出した。

本薬は、マウス、ラット、イヌ及び NHP において、概して速やかに吸収され、バイオアベイラビリティは中程度であった（範囲 23～67%）。静脈内投与後のクリアランスは中程度（肝血流量の 1/3 未満）で、分布容積はげっ歯類及びイヌでは低かった（0.8 L/kg 未満）が、NHP では両パラメータがともに高かった（肝血流量の約 75%のクリアランス、分布容積 1.5L/kg）。これら動物における静脈内投与後の本薬の血漿中半減期は短かった（1 時間以下）。

これらの試験結果の要約をモジュール 2.6.5.3 に示す。個々の試験の結果を以下の項に要約する。

マウスの試験

マウスの試験においては、C57BL6 マウスに本薬 1 mg/kg を単回静脈内投与、又は 10% DMSO/10% Cremophor EL/80% 滅菌水で調製した本薬 10 又は 25 mg/kg を強制経口投与した（068_KV123900_PK_2017 試験）。各投与群あたり計 10 匹の雄マウスに本薬を投与した。複合 PK サンプリングデザインを用い、各動物から計 3 本の血液検体をヘパリンナトリウム容器に採取し、血漿を調製した。採血は、静脈内投与後 0.0333、0.0833、0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間、又は経口投与後 0.0833、0.25、0.5、1、2、4、6、8、10 及び 12 時間に行った。PK パラメータを表 2 に要約する。

本薬は経口投与後速やかに吸収され、C_{max} は投与後 0.25 及び 0.83 時間（T_{max}）において、1,673 及び 6,589 ng/mL であった（それぞれ 10 及び 25 mg/kg 投与）。本薬の C_{max} と AUC での曝露量は、10～25 mg/kg の間でほぼ用量に比例して増加した。マウスにおける経口バイオアベイラビリティ（F）は 27.0～28.7%と算定された。

本薬の静脈内クリアランスは中程度（23.9 mL/min/kg）であり、定常状態の分布容積（V_{ss}）は0.725 L/kg で、体内水分量にほぼ等しかった。本薬の消失半減期（$T_{1/2}$）は短く、0.33 時間であった。

表 2:　マウスにおけるセベトラルスタットの単回投与血漿中薬物動態

Dose and Method of Administration	1 mg/kg i.v.	10 mg/kg oral	25 mg/kg oral
PK parameters			
CL (mL/min/kg)	23.9	-	-
V_{ss} (L/kg)	0.725	-	-
$T_{1/2}$ (h)	0.33	-	-
C_{max} (ng/mL)	-	1,673	6,589
T_{max} (h)	-	0.25	0.083
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	599	1,678	4,352
AUC_{0-inf} (h•ng/mL)	601	1,694	4,400
F (%)	-	28.7	27.0

ラットの試験

ラットの試験においては、雄の Sprague Dawley（SD）ラットを用いて、静脈内投与及び強制経口投与により PK プロファイルを検討し、3 件の試験を同一報告書にまとめた（067_KV123900_PK_2017 試験）。投与量群あたり合計 3 又は 2 匹のラットに本薬を投与した。試験に用いた調製薬液での結果の詳細を表 3 に示す。*In vivo* 薬理試験（CPE-KPL-2 試験）では、SD ラット及び 20% TPGS 水溶液（調製薬液）を使用した。

静脈内投与試験では、投与後 0.033、0.0833、0.25、0.5、1、2、4、6 及び 12 時間に血液検体を採取し、血漿を調製した。経口投与試験では、投与後 0.0833、0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 及び 24 時間に血液検体を採取し、血漿を調製した。PK パラメータを表 3 に要約する。

ラットに本薬 10 mg/kg を 20% TPGS 水溶液で経口投与したとき、本薬のバイオアベイラビリティは 49.5～66.6%であった。本薬 10 mg/kg を投与した全ての処方の調製薬液において、吸収は速やかであり、T_{max} は 0.5～1.3 時間の範囲であった。本薬の C_{max} での曝露量は、300 mg/kg まで用量に比例して増加した。30～300mg/kg の用量範囲で AUC は用量比を上回る増加が認められた。

ラットに本薬 1 mg/kg を 10% DMSO/10% Cremophor ER/80%滅菌水で調製し、静脈内投与したところ、本薬のクリアランスは中程度（11.7 mL/min/kg）、V_{ss} はほぼ体水分量（0.505 L/kg）、$T_{1/2}$ は短く 1.03 時間であった。

表 3:　　ラットにおけるセベトラルスタットの単回投与後の血漿中薬物動態

Actual Dose and Method of Administration	**1.09 mg/kg i.v.**	**10.06 mg/kg oral**	**10.44 mg/kg oral**	**9.92 mg/kg oral**	**11.18 mg/kg oral**	**9.50 mg/kg oral**	**32.72 mg/kg oral[1]**	**101.68 mg/kg oral[1]**	**321.29 mg/kg oral[1]**
Nominal dose	**1 mg/kg**	**10 mg/kg**	**10 mg/kg**	**10 mg/kg**	**10 mg/kg**	**10 mg/kg**	**30 mg/kg**	**100 mg/kg**	**300 mg/kg**
Formulation	10% DMSO/10% Cremophor EL/80% sterile water	20% TPGS in water	10% DMSO/10% Cremophor EL/80% sterile water	20% TPGS in water	20% HP-β-CD in water	0.5% HPMC in water	20% TPGS in water	20% TPGS in water	20% TPGS in water
Mean PK parameters									
CL (mL/ min/kg)	11.7 ± 2.8	-	-	-	-	-	-	-	-
V_{ss} (L/kg)	0.505 ± 0.149	-	-	-	-	-	-	-	-
$T_{1/2}$ (h)	1.03 ± 0.02	-	-	-	-	-	-	-	-
C_{max} (ng/mL)	-	1,942 ± 559	2,803±2,092 [i]	2,560±1,351 [i]	1,000±474	1,542±640	4,472 ± 1.880	21,531 ± 11,811	61,829 ± 21,327
T_{max} (h)	-	1.0 (0.5,2.0)	0.38 (0.25,0.5)	0.5 (0.5,0.5)	1.25 (0.5,2.0)	1.13 (0.25,2.0)	1.0 (1.0,1.0)	2.0 (1.0,2.0)	6.0 (4.0,6.0)
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	1,604±356	7,354 ± 999	12,719±7,112	9,732±8,676 [i]	3,676±191	4,896±1,332	14,505 ± 7,151	100,179 ± 74,626	619,819 ± 314,861
AUC_{0-inf} (h•ng/mL)	1,615±357	7,386 ± 1,022	12,725±7,116	9,749±8,673	3,869±456	4,910±1,322	14,552 ± 7,195	100,377 ± 74,586	620,309 ± 315,109
F (%)	-	49.5 ± 6.4	82.0±45.2	66.6±59.8	23.3±2.8 (21.4, 25.3)[i]	34.8±8.9	29.8 ± 14.7	66.5 ± 49.3	129.7 ± 65.0

[1] Samples evaluated for *ex vivo* activated-plasma rat plasma kallikrein inhibition, see Module 2.6.2.2.3; 078_KV123900_PH_2017
Data shown as mean ± standard deviation; Tmax shows as median (min, max)

雌雄 HW ラットに[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与し、血中及び血漿中の総放射能の PK プロファイルを調べた（181649 試験）。この試験では、ラットにおける[^{14}C]セベトラルスタットの分布、代謝及び排泄も調べた。これらの結果を、それぞれモジュール 2.6.4.4、2.6.4.5 及び 2.6.4.6 に記載した。

また、0.5% HPMC 水溶液に[^{14}C]セベトラルスタット 30 mg/kg を配合した調製薬液（13 週間及び 26 週間の毒性試験で使用した処方）を経口投与した後、投与後 0.5、1、2、4、8 及び 24 時間に雌雄各 1 匹のラットから血液検体を採取した。用量は、13 週間反復投与毒性試験（8401650 試験）で用いた低用量とした。血液の一部を保存し、血漿を残りから分離した。LSC により血中及び血漿中の総放射能濃度を測定した。総放射能の PK パラメータを表 4 に要約する。

薬物関連成分は、雌雄ラットともに速やかに吸収された。総放射能の AUC は雄ラットより雌ラットで高く、より程度は低いが C_{max} も雄ラットより雌ラットで高かった。雄ラットの投与後 24 時間の検体（血中濃度の方がわずかに高い）を除き、総放射能の血中濃度は血漿中濃度よりも低かった。

表 4: [^{14}C]セベトラルスタット単回投与後のラットにおける総放射能の血漿中及び血中の薬物動態

Dose and Method of Administration	**30 mg/kg oral**			
Sex	Male		Female	
PK parameters	Plasma	Blood	Plasma	Blood
C_{max} (ng eq/mL)	14,700	8,690	23,600	14,300
T_{max} (h)	1	1	0.5	0.5
AUC_{0-t} (h•ng eq/mL)	33,300	22,800	106,000	73,400

ウサギの試験

ウサギの試験においては、雌 New Zealand White ウサギ（各用量群 2 匹）を用いて、4 種類の本薬調製薬液の PK プロファイルを調べた（108_KV123900_PK_2018 試験）。動物には、まず 1 種類を強制経口投与し、最低 6 日間の休薬期間を設定したクロスオーバーデザインで本薬の 4 種類の調製薬液を経口投与した。評価した薬液は、本薬 10 mg/kg を 10% TPGS 水溶液、20% TPGS 水溶液、0.5% HPMC 水溶液又は 20%ヒドロキシプロピル β-シクロデキストリン（HP-β-CD）水溶液で調製したものであった。投与後 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間に血液検体を採取し、血漿を調製した。PK パラメータを表 5 に要約する。

本薬の経口吸収は速やかで、20% HP-β-CD（T_{max} 2 時間）を除き、全ての調製薬液で投与後 1 時間に T_{max} が認められた。

C_{max} 及び AUC パラメータは、評価した全ての調製薬液で概ね同等（2 倍以内）であった。

表 5:　ウサギにおけるセベトラルスタットの単回投与後の血漿中薬物動態

Dose and Method of Administration	10 mg/kg oral			
Formulation	10% TPGS in water	20% TPGS in water	0.5% HPMC in water	20% HP-β-CD in water
Mean PK parameters				
C_{max} (ng/mL)	1,573	2,556	1,755	1,861
T_{max} (h)	1	1	1	2
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	3,869	5,318	4,615	4,917
AUC_{0-inf} (h•ng/mL)	3,877	5,322	4,624	4,928

イヌの試験

イヌの試験においては、雄ビーグル犬（n=2）に本薬 1 mg/kg を 10% DMSO/90%無菌水で静脈内投与し、1 mg/kg を 20% TPGS 水溶液で強制経口投与したときの本薬の PK プロファイルを調べた（069_KV123900_PK_2017 試験）。血液検体を採取し、静脈内投与後 0.033、0.0833、0.25、0.5、1、2、4、6 及び 12 時間、経口投与後 0.0833、0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 及び 24 時間に血漿を調製した。PK パラメータを表 6 に要約する。

本薬の経口吸収は速やかであり、投与後 0.75 時間に T_{max} が認められ、経口バイオアベイラビリティは 33.9%で中程度であった。

静脈内投与後、本薬は中程度のクリアランス（8.7 mL/min/kg）を示し、V_{ss} はほぼ体水分量（0.652 L/kg）で、$T_{1/2}$ は 1 時間と短かった。

表 6:　イヌにおけるセベトラルスタットの単回投与後の血漿中薬物動態

Dose and Method of Administration	1 mg/kg i.v.	1 mg/kg oral
Formulation	10% DMSO/90% sterile water	20% TPGS in water
Mean PK parameters		
CL (mL/min/kg)	8.7	-
V_{ss} (L/kg)	0.652	-
$T_{1/2}$ (h)	1.02	-
C_{max} (ng/mL)	-	284
T_{max} (h)	-	0.75
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	2,093	662
AUC_{0-inf} (h•ng/mL)	2,099	670
F (%)	-	33.9

NHP（カニクイザル）の試験

NHP の試験においては、First-in-Human 臨床試験における投与製剤の選択をサポートするために、少なくとも 6 日間の休薬期間を設けて、雄 NHP（n=3）を用いてクロスオーバーPK 試験（8354846 試験）を実施し、一連の溶液及び粉末の被験物質を静脈内投与及び経口投与した。

PK データを、パート A：070_KV123900_PK_2017 とパート B：086_KV123900_PK_2018 の 2 つのパートに要約した。この試験の両パートで同じ NHP を使用した。

パート A の調製薬液の結果（070_KV123900_PK_2017）を表 7 に示す。静脈内投与後 0.0833、0.25、0.5、1、2、4、6、8 及び 24 時間に血液検体を採取し、血漿を調製した。経口投与後 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24、36 及び 48 時間に血液検体を採取し、血漿を調製した。PK パラメータを表 7 に要約する。

調製薬液の経口投与後、本薬は速やかに吸収され、T_{max} は 0.5 時間であった。本薬は 22.6～49.2%の中程度のバイオアベイラビリティを示した。1 及び 10 mg/kg の経口調製薬液投与に基づくと、用量が 10 倍増加した場合、本薬の曝露量は用量比例的には増加せず、C_{max} は 19 倍、$AUC_{0\text{-}inf}$ は 16 倍増加した。

カプセル入りの本薬粉末 10 及び 100 mg（それぞれ約 2.4 及び 25 mg/kg）を投与後、本薬は速やかに吸収され、T_{max} は 1 時間で、バイオアベイラビリティは中程度で 21.7～23.7%であった。用量が 10 倍増加すると本薬の曝露量は用量比例的に増加し、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}inf}$ はそれぞれ約 8 倍及び約 9 倍増加した。

NHP では静脈内投与後、本薬は中程度／高度のクリアランス（32.7 mL/min/kg）を示し、V_{ss} は 1.54 L/kg で中程度（体水分量の約 2 倍）であり、$T_{1/2}$ は 0.98 時間と短かった。

表 7:　NHP におけるセベトラルスタットの単回投与後の血漿中薬物動態

Dose and Method of Administration	1 mg/kg i.v.[1]	1 mg/kg oral[1]	10 mg/kg oral[1]	10 mg/ animal (2.4 mg/kg) oral[2]	100 mg/animal (25 mg/kg) oral[2]
Formulation	Solution: 10% DMSO/10% cremophor EL/80% sterile water	Solution: 10% DMSO/90% sterile water	Suspension: 10% DMSO/90% sterile water	API Powder in Capsule (API-PIC)	API Powder in Capsule (API-PIC)
Mean PK parameters					
CL (mL/min/kg)	32.7 ± 6.9	-	-	-	-
V_{ss} (L/kg)	1.54 ± 0.22	-	-	-	-
$T_{1/2}$ (h)	0.98 ± 0.14	-	-	-	-
C_{max} (ng/mL)	-	118 ± 46	2,242 ± 1,252	167 ± 105	1,282 ± 234
T_{max} (h)	-	0.5 (0.5-0.5)	0.25 (0.25,1.0)	1.0 (1.0,1.0)	1.0 (1.0,1.0)
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	584 ± 122	148 ± 42	2,418 ± 405	283 ± 111	2,676 ± 503
AUC_{0-inf} (h•ng/mL)	586 ± 122	151 ± 41	2,422 ± 403	300 ± 108	2,812 ± 425
F (%)	-	29.5 ± 12.6	49.2 ± 3.7	23.7 ± 5.8	21.7 ± 1.6

API: active pharmaceutical ingredient
[1] Samples evaluated for *ex vivo* activated-plasma NHP plasma kallikrein inhibition, see Module 2.6.2.2.3; 081_KV123900_PH_2017
[2] Samples evaluated for *ex vivo* activated-plasma NHP plasma kallikrein inhibition, see Module 2.6.2.2.3; 083_KV123900_PH_2017
Data shown as mean ± standard deviation; T_{max} shown as median (min, max)

PK 試験のパート B（086_KV123900_PK_2018）は、腸溶性カプセル剤及び錠剤を含む種々の固形調製薬物における本薬の PK プロファイルを調べるために実施した。いずれの腸溶性コーティング剤についても、他と著しく異なる PK プロファイルの徴候は認められず、また表 7 で示した原薬粉末入りカプセルのパラメータとの差も認められなかった。本薬の腸溶性コーティング剤では、吸収の遅延及び曝露量の減少が認められた。PK パラメータをモジュール 2.6.5.3.G に示した。

雄 NHP を使用した試験を実施し、固形の腸溶性剤（原薬入り腸溶性コーティングカプセル、及び噴霧乾燥分散物入り腸溶性コーティングカプセル）における本薬の PK プロファイルを調べた（VNG6181_ZNA73779 試験）。本薬は、原薬入り腸溶性被覆カプセルからの吸収が、噴霧乾燥分散物入り腸溶性コーティングカプセルからの吸収よりも速く、T_{max} はそれぞれ 1～4 時間及び 4～36 時間であった。PK パラメータをモジュール 2.6.5.3.H に示した。その後、腸溶性剤に関するさらなる試験は実施しなかった。

7 日間の休薬期間を設けた経口クロスオーバーPK 試験を、雄 NHP（n=2）を用いて実施し、3 種類の処方（20% TPGS 水溶液、0.5% HPMC 水溶液又は 20% HP-β-CD 水溶液について、それぞれ 34.8 mg/kg、34.1 mg/kg 及び 33.5 mg/kg の用量）で本薬の PK プロファイルについて検討した（112_KV123900_PK_2018［VN11SG］試験）。この試験は、毒性試験用の代替調製薬液の可能

性を検討するために行った。投与後 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 及び 24 時間に血液検体を採取し、血漿を調製した。PK パラメータを表 8 に要約する。

使用した 3 種類の調製薬液は、いずれも経口血漿中濃度-時間プロファイルが他と比較して顕著に異なるという徴候は認められなかった。

表 8: NHP におけるセベトラルスタットの単回投与後の血漿中薬物動態（3 種類の異なる調製薬液）

Dose and Method of Administration	34.8 mg/kg oral	34.1 mg/kg oral	33.5 mg/kg oral
Formulation	20% HP-β-CD in water	0.5% HPMC in water	20% TPGS in water
Mean PK parameters			
$T_{1/2}$ (h)	2.3	2.4	1.8
C_{max} (ng/mL)	1,035	925	1,031
T_{max} (h)	1.5	1.5	2
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	2,335	2,521	3,064
AUC_{0-inf} (h•ng/mL)	2,390	2,580	3,086

[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与した雌雄 NHP を用いて、血液中及び血漿中の総放射能の PK プロファイルを調べた（182658 試験）。この試験では、NHP における[^{14}C]セベトラルスタットの代謝及び排泄についても検討した。得られた結果を、それぞれモジュール 2.6.4.5 及び 2.6.4.6 に記載した。

0.5% HPMC 水溶液で処方した[^{14}C]セベトラルスタット 10 mg/kg（ピボタルな毒性試験で使用した調製薬液）を経口投与し、投与後 0.25、0.5、1、2、4、6、8、24、48、72、96、120、144 及び 168 時間に雌雄各 3 匹の NHP から血液検体を採取した。用量は、13 週間反復投与毒性試験（8382423 試験）で用いた低用量とした。血液の一部を保存し、残りの血液から血漿を調製した。LSC により血中及び血漿中の総放射能濃度を測定した。総放射能の PK パラメータを表 9 に要約する。

薬物関連成分は、雌雄 NHP ともに速やかに経口吸収された。総放射能の AUC は雌雄間でほぼ同様であった。血液中の総放射能の曝露量は血漿中の曝露量よりわずかに低かった。

表 9: [^{14}C]セベトラルスタット単回投与後の NHP における総放射能の血漿及び血中薬物動態

Dose and Method of Administration	10 mg/kg oral			
Sex	Male		Female	
Mean PK parameters	Plasma	Blood	Plasma	Blood
T_{max} (h)*	1	1	1	1
C_{max} (ng eq/mL)	2,020	1,490	1,650	1,170
AUC_{0-t} (h•ng eq/mL)	4,280	4,090	3,710	3,080

2.6.4.3.3 トキシコキネティクス

本薬のトキシコキネティクスは、経口投与後のラット、イヌ及び NHP における反復投与毒性試験でその特徴が明らかにされている。当初、非げっ歯類の毒性試験種としてイヌを用いたが、忍容性の欠如により NHP に置き換えた。また、ラット及び／又はウサギを用いた胚・胎児発生及び受胎能に関する試験、NHP を用いた心血管系安全性薬理試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験においても、トキシコキネティクスデータが得られている。

PK 試験の結果と一致して、本薬の吸収は概して速やかであり、T_{max} はマウスで 0.25～1 時間、ラットで 0.5～4 時間、イヌで 1～2 時間、NHP で 1～2 時間であった。全ての試験で血漿中曝露が確認され、曝露量は投与量の増加に伴って増加した。C_{max} は、概して投与量に比例して増加したが、AUC は概ね用量比を上回る増加を示すか、投与量に比例して増加した。げっ歯類では、単回投与では雌が雄よりも曝露量が高かったが、反復投与では雄においてより高い蓄積性が認められ、曝露量は雌雄間で同等であった。イヌ又は NHP では、トキシコキネティクス試験において一貫した性差はみられなかった。反復投与による蓄積は、雄ラットを除き、通常は認められなかった。

個々の試験のトキシコキネティクスデータは、毒性試験の概要文モジュール 2.6.6 で説明及び考察し、モジュール 2.6.7.2 及びモジュール 2.6.7.3 で表にまとめた。投与期間が最も長いピボタル試験のトキシコキネティクスデータを以下の表 10 に要約する。

表 10: 試験期間が最も長いピボタル試験のトキシコキネティクスデータ

Type of Study	Species Duration	Report Number	Dose (mg/kg/day)	N/ Sex	Mean C_{max} (ng/mL)		Mean AUC_{0-24} (h•ng/mL)	
					Day 1	**Day 177**	**Day 1**	**Day 177**
Repeat Dose Toxicity	Rat 26 weeks[b]	8418576	30	3/M	4,050	10,100	9,240	24,800
				3/F	10,400	16,400	27,000	48,300
			100	3/M	11,100	78,600	50,600	427,000
				3/F	29,600	78,700	182,000	386,000
			300	3/M	23,400	94,200	168,000	942,000
				3/F	54,400	106,000	547,000	1,030,000
	NHP 26 weeks twice-weekly dosing	20286942			**Day 1**	**Day 176**	**Day 1[a]**	**Day 176[a]**
			15 mg/kg twice weekly	4/M	783	224	1,310	866
				4/F	1,650	1,680	2,250	2,480
			50 mg/kg twice weekly	4/M	2,820	1,360	7,180	5,620
				4/F	1,810	3,540	6,100	7,450
			150 mg/kg twice weekly	6/M	3,210	5,280	17,600	31,700
				6/F	2,870	2,690	10,300	13,000
			300 mg/kg twice weekly	6/M	7,440	11,000	36,600	48,600
				6/F	7,460	8,400	32,800	36,200

Type of Study	Species Duration	Report Number	Dose (mg/kg/day)	N/ Sex	Mean C_{max} (ng/mL)		Mean AUC_{0-24} (h•ng/mL)	
					Day 1	**Day 180**	**Day 1[a]**	**Day 180[a]**
Carcinogenicity	Transgenic mouse 26 weeks[b]	20235986	20	3/M	1,200	2,080	863	1,710
			30	3/F	3,710	2,610	2,340	2,000
			65	3/M	9,470	5,110	9,820	6,250
			100	3/F	10,100	15,400	16,300	20,000
			200	3/M	20,300	17,000	34,400	25,500
			300	3/F	40,500	32,200	77,600	48,800
					Day 1	**Day 178**	**Day 1**	**Day 178**
Carcinogenicity	Rat 104 weeks	JAM0025	30	3/M	8,940	22,500	28,400	74,200
				3/F	16,800	31,900	79,500	97,600
			100	3/M	24,400	50,500	93,500	277,000
				3/F	54,000	77,500	350,000	413,000
			300	3/M	53,900	92,200	381,000	965,000
				3/F	64,400	108,000	741,000	948,000
					Day 1	**Day 12**	**Day 1**	**Day 12**
Fertility and Early Embryonic Development	Rat	JAM0012	100	3/M	ND	16,900	ND	77,700
				3/F	ND	38,500	ND	258,000
			300	3/M	ND	81,600	ND	601,000
				3/F	ND	102,000	ND	846,000
			600	3/M	ND	133,000	ND	1,170,000
				3/F	ND	129,000	ND	1,400,000
					GD6	**GD16**	**GD6**	**GD16**
Embryo-Fetal Development	Rat	JAM0013	100	3/F	26,800	18,400	236,000	192,000
			300	2/F	53,500	43,200	703,000	510,000
			600	2/F	62,800	147,000	1,060,000	2,050,000
					GD6	**GD16**	**GD6**	**GD16**
	Rabbit	JAM0014	30	3/F	4,400	7,590	11,300	16,100
			100	2/F	10,900	25,200	37,600	51,200
			300	3/F	59,700	62,300	308,000	359,000

GD: gestation day, ND: not determined
[a] AUC_{Tlast} (area under the concentration versus time curve from hour 0 to last measured concentration)
[b] TK parameters derived from composite sampling; N/sex values are numbers sampled per time point

2.6.4.4 分布

本薬の血漿タンパク結合をマウス、ラット、ウサギ、イヌ、NHP 及びヒトの血漿中で調べた。その結果、ラット、NHP 及びヒトにおいて、それぞれ本薬の約 96%、62%及び 77%が血漿タンパク質に結合していることが明らかになった。

マウス、ラット、イヌ、ブタ、NHP 及びヒトの新鮮血を用いて、*in vitro* で血液対血漿比を測定した。結果は、全ての動物種において本薬の赤血球への移行が限定的であることを示した。

[^{14}C]セベトラルスタットの分布を、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）を用いてラットで調べた。経口投与後、本薬は体内に広く分布し、投与後 1 時間までに大部分の組織で放射能濃度のピークが認められた。組織中濃度が最も高かったのは、肝臓、腎臓、副腎と膀胱壁であった。放射能は 24 時間以内にほとんどの組織から消失した。本試験のデータから、薬物関連成分のメラニン含有組織に対する親和性は低く、可逆的であることが示唆された。

総放射能の胎盤移行の程度について、QWBA を用いてより高用量で直接的にラットで調べた。その結果、平均的な血中及び血漿中濃度と比較した場合、胎盤移行は限定的であった。

個々の試験の結果を以下の項に要約する。

2.6.4.4.1 血液細胞におけるタンパク結合と分布

本薬の血漿タンパク結合を、C57 マウス、SD ラット、New Zealand White ウサギ、ビーグル犬、NHP（カニクイザル）及びヒトの血漿で、急速平衡透析法を用いて測定した（049_KV123900_PK_2016 試験）。本薬（5 µmol/L）を血漿中でリン酸緩衝液に対して 37°C で 5 時間透析し（n=3 反復/種）、マトリックス適合検体を沈殿させてから LC-MS/MS を用いて分析した。その結果、本薬の約 96%、62%及び 77%が、それぞれラット、NHP 及びヒトの血漿タンパク質に結合していることが明らかになった。全ての動物種の本薬の非結合型分率を表 11 に示す。

表 11: セベトラルスタットの血漿タンパク結合性（表は非結合型分率を示す）

Species	Mean Fraction Unbound
	Sebetralstat
Mouse	0.059
Rat	0.039
Rabbit	0.125
Dog	0.341
NHP	0.376
Human	0.232

本薬 1 µmol/L の血液対血漿比を、*in vitro* で CD-1 マウス、HW ラット、ビーグル犬、Göttingen ミニブタ、NHP 及びヒトの新鮮血液を用いて検討した（YDS/060 試験）。37°C で 1 時間インキュベーションした後、血中及び血漿中の本薬濃度を LC-MS/MS で測定した。本薬について算出された平均血液対血漿比の値は、全ての動物種において本薬の赤血球への移行が限定的であることを示唆している（表 12）。

表 12:　セベトラルスタットの血液対血漿比

Species	Blood to Plasma Ratio
	Sebetralstat
Mouse	0.60
Rat	0.56
Dog	0.80
Pig	0.93
NHP	0.90
Human	0.80

2.6.4.4.2　　*In vitro* におけるメラニン結合

本薬の 50 µg/mL 天然メラニン（*Sepia officinalis*）への *in vitro* 結合を、0.87～50 µmol/L の濃度で調べた（053_KV123900_PK_2016 試験）。陽性対照としてクロロキン（0.87～50 µmol/L）を用い、LC-MS/MS で検体を分析した。本薬は、メラニンに対して 1 部位特異的結合最大結合能（B_{max}）が 3.05 µmol/L 及び解離定数（K_d）が 25.89 µmol/L を示した。クロロキンは、メラニンに対して B_{max} が 39.03 µmol/L 及びの K_d が 55.75 µmol/L であった。B_{max} 値の違いから、本薬のメラニン結合能はクロロキンの 1/13 であった。

2.6.4.4.3　　組織分布試験

雄アルビノ HW ラット、雄 Lister Hooded 有色ラット及び交配済の雌アルビノ HW ラットに[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与し、総放射能の組織分布を調べた（181649 試験）。この試験では、ラットにおける[^{14}C]セベトラルスタットの吸収、代謝及び排泄についても検討した。これらの結果を、それぞれモジュール 2.6.4.3.2、2.6.4.5 及び 2.6.4.6 に記載した。

0.5% HPMC で調製した[^{14}C]セベトラルスタット 30 mg/kg を経口投与した後、1 時点あたり雄アルビノラット 1 匹を投与後 0.5、1、4、8、24、72 及び 168 時間に安楽殺し、1 時点あたり雄有色ラット 1 匹を 24、168 及び 336 時間に安楽殺し、交配済の雌アルビノラット 1 匹を 1、24 及び 72 時間に安楽殺した。妊娠雌ラットへの投与は妊娠 16 日とした。安楽殺後、全ての動物から右眼を摘出し、燃焼及び LSC により放射能を測定した。各動物の屍体を凍結し、カルボキシメチルセルロースのブロックに包埋し、クリオミクロトームにより矢状切片を作製した。凍結乾燥後、総放射能の組織分布を放射性標準物質とともに蛍光イメージングにより定量した。各組織における放射能濃度を、雄アルビノラットについては表 13、雄有色ラットについては表 14、交配済の雌アルビノラットについては表 15 に示す。分析した全ての組織中の放射能濃度はモジュール 2.6.5.5.A に示す。

表 13: 雄アルビノラットに 30 mg/kg の[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与後の各組織における放射能濃度

	Radioactive Concentration (µg equiv./g)						
Sampling Time:	**0.5 h**	**1 h**	**4 h**	**8 h**	**24 h**	**72 h**	**168 h**
Adrenal-whole	12.18	14.72	2.56	0.69	0.15	0.13	ND
Bladder wall	5.69	6.25	7.18	4.59	ND	ND	ND
Blood	7.03	4.33	1.33	0.39	ND	ND	ND
Brain	0.09	0.07	0.03	0.00*	ND	ND	ND
Eye-uveal tract	2.65	3.41	0.62	0.52	ND	ND	ND
Kidney-whole	12.31	21.29	5.48	1.82	0.23	0.07	0.21
Liver	39.99	46.75	14.06	5.60	2.07	0.79	0.68
Skeletal muscle	2.64	3.58	0.66	0.35	ND	ND	ND
Skin-albino/non-pigmented	4.44	6.79	1.24	0.38	ND	ND	ND
Testes	0.54	0.90	0.40	0.18	0.04	ND	ND

ND: Not distinguishable
* below the limit of reliable measurement

表 14: 雄有色ラットに 30 mg/kg の[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与後の各組織における放射能濃度

	Radioactive Concentration (µg equiv./g)		
Sampling Time:	**24 h**	**168 h**	**336 h**
Adrenal-whole	ND	ND	ND
Bladder wall	ND	ND	ND
Blood	ND	ND	ND
Brain	ND	ND	ND
Eye-uveal tract	6.16	1.60	0.56
Kidney-whole	0.17	0.03	0.01
Liver	1.32	0.22	0.08
Skeletal muscle	ND	ND	ND
Skin-albino/non-pigmented	0.18	ND	ND
Skin- pigmented	1.34	ND	ND
Testes	ND	ND	ND

ND: Not distinguishable

表 15: 交配済の雌アルビノラットに 30 mg/kg の[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与後の各組織における放射能濃度

	Radioactive Concentration (µg equiv./g)		
Sampling Time:	**1 h**	**24 h**	**72 h**
Adrenal-whole	9.24	0.70	ND
Amniotic fluid	0.42	ND	ND
Blood	5.20	ND	ND
Fetus - whole	0.64	ND	ND
Kidney-whole	13.35	0.26	0.03*
Liver	33.63	2.06	0.74
Mammary	2.80	ND	ND
Ovary	2.87	ND	ND
Placenta	6.00	0.06	ND
Uterus	7.77	ND	ND

ND: Not distinguishable
* below the limit of reliable measurement

雄アルビノラットに経口投与したとき、放射能はいずれの組織にも広く分布し、最大組織中濃度の大部分が投与後 0.5 又は 1 時間に認められた。濃度は投与後 4 及び 8 時間に顕著に低下し、この時間以降は大部分の組織で識別不能又は信頼できる測定限界未満であった。肝臓、腎臓及び副腎を除き、投与後 72 時間までに組織中放射能が検出不可能となった。試験期間を通じて、組織中濃度が最も高かったのは、肝臓、腎臓、副腎、膀胱壁であった。

雄有色ラットに経口投与したとき、投与後 24 時間（初回検体採取時）の大部分の組織で放射能は検出されなかった。検体採取期間中、ブドウ膜、眼、肝臓及び腎臓のみが測定可能であり、これらの臓器中の総放射能濃度は試験期間中に減少した。

交配済の雌アルビノラットでは、母動物分布は雄アルビノラットで観察されたものと類似しており、肝臓及び腎臓で最も高濃度であった。胎児全体の放射能濃度は投与後 1 時間にのみ測定可能であった。

雄 Lister Hooded 有色ラットのデータから、有色ラットの有色皮膚や眼構造などのメラニン含有組織に存在する放射能のレベルは、アルビノ動物よりも高いことが示されている。このことは、量は少ないものの、メラニンに対する薬物関連成分のある程度の親和性を示しているが、これらの組織における放射能濃度の経時的な低下は、その結びつきが可逆的であったことを示している。

交配済の雌 HW ラットに[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与し、総放射能の胎盤移行の程度を調べた（187593 試験）。これは、以前に QWBA で使用したものよりも高い用量で実施した（181649 試験）。また、この試験では授乳中の雌ラットにおける乳汁への総放射能の排泄についても調べた。この点についてはモジュール 2.6.4.6 に記載した。妊娠 16 日に、3 匹の妊娠雌ラットに、0.5% HPMC で調製した[^{14}C]セベトラルスタット（ピボタルな生殖発生毒性試験で用いた投与用調製薬液）を経口投与し、投与後 1 時間で安楽殺した。血液検体を採取し、胎児を摘出した。血液の一部を保存し、残りの血液から血漿を分離した。血液、血漿及びプール胎児ホモジネート中の総放射能濃度を測定した。母体投与後 1 時間の胎児中放射能（平均濃度）は 1.46 µg eq/g であ

り、平均血中及び血漿中濃度の 17.77 µg eq/g 及び 29.44 µg eq/g と比較して、胎盤移行は限定的であることが示された。

2.6.4.5 代謝（動物種間比較）

一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験を行い、本薬の生体内変換の速度と経路を動物種間で比較した。

肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた *in vitro* 試験を実施し、本薬の固有クリアランスを測定し、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ブタ、NHP 及びヒトの肝細胞におけるインキュベーション後の代謝パターンを比較した。多くの異なる代謝経路を介して、広範な *in vitro* 代謝が観察された。また、ヒト肝細胞で生成された代謝物は、ラット及び NHP の肝細胞によっても生成された。*In vitro* 試験における代謝物番号は、*in vivo* 試験で用いた番号とは別のものとした。*In vivo* 試験では、代謝物の構造が以前の *in vivo* 試験で特性が明らかにされた構造と同じであったものについては、同一の識別番号を割り当てた。新たな構造が提示された代謝物が同定された場合、又は生体内変換の位置が明確でない代謝物が特徴づけられた場合には、これらに新たな識別番号を付した。

In vivo 代謝プロファイルの最初の評価は、ヒト、ラット及び NHP の血漿における LC-MS/MS スクリーニング試験であった。本薬 600 mg の単回投与後 1 及び 8 時間に採取したヒト血漿、並びに 300 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日をそれぞれ 7 日間反復投与した毒性試験で採取したラット及び NHP の血漿を用いて、代謝物の特性を検討した。ヒトで同定された代謝物は、酸化、二重酸化／二重水素化、*O*-脱メチル化、*O*-脱メチル化／酸化、酸化／グルクロン酸抱合、酸化 *N*-脱アルキル化、及び二重酸化／メチル化によって生じたものであった。ヒト血漿中で検出された 14 種類の代謝物は全て、ラット及び NHP の血漿中にも認められた。ヒトへの単回投与後又はラットと NHP での反復投与後に調製した時間標準化 $AUC_{0\text{-}24}$ プールのマトリックスマッチング比較を行った。NHP 血漿中の全ての代謝物は、ヒト血漿中と同等かそれ以上の量で存在した。ラット血漿についても、4 種類の代謝物（存在はするが、循環血中濃度が低い）を除いて同様であった。後にヒトにおける最も豊富な血漿代謝産物であることが示された生体内変換産物（M19、KV124020）は、この試験では同定されなかったが、これはイオン抑制性マトリックス成分との共溶出又はイオン化能の低さによる可能性があった。その後、M19 がラット（26 週間投与）及び NHP（13 週間間欠投与）の毒性試験から血漿中で定量された。

臨床試験（KVD900-103 試験）で、[^{14}C]セベトラルスタット 600 mg を健康男性被験者に経口投与した後、血漿、尿及び糞便中の代謝物を調べ、ヒトでの最終的なプロファイリングと特性解析を行った。その結果、本薬は血漿中の主要な成分であり、全被験者の $AUC_{0\text{-}24}$ において、薬物関連成分の 10%を超える平均値を示した代謝物はなかった。血漿及び排泄物中で観察された主な生体内変換経路は、*O*-脱メチル化、分子内の 2 つの異なる点での鎖切断をもたらす *N*-脱アルキル化、二重酸化／二重水素化、*O*-脱メチル化／酸化、及び酸化であった。ヒト血漿中に最も多く認められた代謝物（M19、KV124020）の濃度を、本薬の反復投与毒性試験から得たラット及び NHP の血漿で測定したところ、ヒト曝露量と同等かそれ以上であることが確認された。

血漿、尿、糞便及び胆汁（ラットのみ）中の代謝物プロファイルを、ラット及び NHP への[^{14}C]セベトラルスタット投与後に測定した。本薬は多くの異なる代謝経路を介して広範囲に生体内変換された。ラットでは、代謝は主に *O*-脱メチル化、脱アルキル化、加水分解及び酸化を介して行われた。NHP でも同様の主要経路が認められ、さらに二重酸化／二重水素化も観察された。M19（KV124020、ヒト血漿中に最も多く認められた代謝物）の血漿中曝露量も、本薬の反復投与毒性試験から得られたラット及び NHP の血漿で測定した。

本薬の代謝に関与するCYPアイソフォームを2件の試験で調べた。最初のスクリーニング試験では、*in vitro*で本薬は、一連のCYPアイソフォーム（主にCYP3A4）により代謝される可能性が示された。最適化されたインキュベーション条件及び放射能標識した本薬を用いた後の試験でも、CYP3A4が本薬代謝の大部分を担っていた。その程度は最初の試験で示唆されていたよりも高く、軽微ながらCYP2C8の関与も確認された。

個々の試験結果を以下の項に要約する。

2.6.4.5.1 *In vitro*でのクリアランスと代謝

本薬5 µmol/LのSDラットミクロソームに対する結合の程度を、急速平衡透析法を用いて調べた（050_KV123900_PK_2016試験）。本薬は、ミクロソーム代謝の評価に用いた条件と同等の条件下では、ラットミクロソームとの結合率が高くなく、平均非結合型分率は0.86であった。

本薬の*in vitro*における固有クリアランスを、CD-1マウス、SDラット、ビーグル犬、カニクイザル（NHP）及びヒト肝ミクロソームを用いて検討した（048_KV123900_PK_2016試験）。本薬（5 µmol/L）を還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）再生系の存在下、ミクロソーム中で37°Cでインキュベートした。検体をインキュベーション開始後100分までの種々の時点で採取し、LC-MS/MSを用いて本薬を分析した。

本薬の固有クリアランス値はマウス及びNHP由来の肝ミクロソームで高く、イヌでは最も低かった。本薬の*in vitro*での固有クリアランス値を表16に要約する。

表16: 肝ミクロソームにおけるセベトラルスタットの固有クリアランス

Species (Strain)	Cl_{int} (µL/min/mg protein)
Mouse (CD-1, male)	66.35
Rat (Sprague Dawley, male)	23.78
Dog (Beagle, male)	1.10
NHP (cynomolgus monkey, male)	50.77
Human (mixed sex)	12.53

本薬の*in vitro*における固有クリアランスを、C57BL6マウス、SD及びHWラット、New Zealand Whiteウサギ、ビーグル犬、NHP及びヒトの肝細胞を用いて調べた（2015_09_15_Kalvista_WO試験）。本薬（1 µmol/L）を50万肝細胞/mL中で、37°Cで最長1時間インキュベートした後、LC-MS/MSにより本薬を分析し、固有クリアランスを算出した。

肝細胞における*in vitro*での固有クリアランス値を表17に要約する。

表 17:　肝細胞におけるセベトラルスタットの固有クリアランス

Species (Strain) [sex]	Mean CL_{int} (µL/min/10^6 cells)
	Sebetralstat
Mouse (C57BL6, male)	72.4
Rat (Han Wistar, female)	4.6
Rat (Han Wistar, male)	41.3
Rat (Sprague Dawley, male)	49.0
Rabbit (New Zealand White, female)	6.9
Dog (Beagle, male)	<3
NHP (cynomolgus monkey, male)	5.1
Human (mixed sex)	8.0

肝細胞への本薬の結合の程度についても、これらの試料のインキュベーションにおいて、急速平衡アッセイ系を用いて検討した。その結果、本薬の肝細胞への結合率は高くなく、非結合型分率は 0.75～0.88 であった。

本薬を用いた代謝物プロファイリング試験が別々に 2 試験実施されており、1 試験は本薬 5 µmol/L（ADM-16-1410 試験）、他の 1 試験は本薬 1 µmol/L（ADM-17-1731 試験）を用いた試験であった。両試験で、雄 CD-1 マウス、雌雄 HW ラット、雌 New Zealand White ウサギ、雄 Göttingen ミニブタ、雄ビーグル犬、雄 NHP 及びヒト（男女混合）から得られた肝細胞と本薬をインキュベート（5 µmol/L 又は 1 µmol/L、120 分間）した。試料の分析は、超高速液体クロマトグラフィー + Q-Exactive Orbitrap タンデム質量分析（UPLC/QE-orbitrap-MS）を用いて行い、代謝産物プロファイルを作成した。試料は正と負の両方の MS-イオン化極性で測定した。その結果を、モジュール 2.6.5.10.F 及び 2.6.5.10.G に要約した。*In vitro* 試験のための代謝物番号の割り当ては、*in vivo* 試験とは異なっている。全体として、本薬は、試験濃度 5 µmol/L で広範囲に代謝され、動物種全体で 31 種類の代謝物が検出され、そのうち 18 種類がヒトで認められた。本薬は、試験濃度 1 µmol/L でも同様に代謝され、動物種全体で 28 種類の代謝物が検出された、そのうち 12 種類がヒトで認められた。

ヒト肝細胞で最も多く認められた代謝物（LC-MS/MS ピーク面積による）は以下の通りであった。M1（ピリドン環における水酸化）、M3（ピリドン環における水酸化及び水素化）、M9（フルオロメトキシピリジンにおける脱メチル化）、M21（ピリドン環のカルボン酸への酸化的脱アルキル化）、M26（ピリドン環における水酸化及びメチル化、5 µmol/L インキュベーションのみ）及び M19（脱アルキル化：C_7H_6FNO の離脱）。これらの代謝物は、ピリドン環が代謝の主要部位であったことを示している。これらの 6 種類の最も豊富なヒト代謝物は、他の全ての動物種に由来する肝細胞でも生成された。

5 µmol/L では、ヒト肝細胞で認められた 18 種類の代謝物は全て、雄ラット、NHP 及びブタ肝細胞でも検出された。また、1 µmol/L では、ヒト肝細胞で認められた 12 種類の代謝物について、雄ラットで 10 種類、NHP で 11 種類、ブタ肝細胞では全てが検出された。

2.6.4.5.2 *In vivo* 代謝試験

ラットの試験

雌雄 HW ラットに[^{14}C]セベトラルスタット 30 mg/kg を経口投与した後、血漿、尿、糞便及び胆汁中の本薬の代謝物のプロファイリング及び特性解析を行った（181649 試験）。この試験では、ラットにおける[^{14}C]セベトラルスタットの吸収、分布及び排泄についても調べた。これらの結果は、それぞれモジュール 2.6.4.3.2、2.6.4.4 及び 2.6.4.6 に記載した。

尿（雌雄別に 0～24 時間プール）、糞便抽出物（雌雄別に 0～48 時間プール）、血漿抽出物（雌雄別に 0～24 時間 AUC プール）及び胆汁（雄で 0～24 時間プール）の Radio-HPLC プロファイルを作成し、観察された主要ピークの構造を LC-MS/MS 分析に基づいて提示した。徹底した抽出手順にもかかわらず、投与放射能の 16～17%が処理後の糞便抽出後固体中に残存した。血漿については、未抽出の放射能の割合は 4～9%であった。個々の代謝物の提示された構造が、ヒト、ラット及び NHP における血漿スクリーニング試験（YDS/082 試験）で特性が明らかにされた構造と同じである場合、これらには同じ識別番号を割り当てた。提示された構造を有する新たな代謝物が同定された場合、又は生体内変換の位置が明確にされていない代謝物の特性が明らかになった場合、これらには M19 から始まる識別番号を付与した。

7 種の代謝産物の構造が提示された。全てのマトリックスで未変化の本薬が検出された。代謝プロファイルの要約を表 18 に示す。尿、糞便及び胆汁の割合（%）は、動物に投与された放射能の割合を示しており、血漿については、0～24 時間の AUC プールから抽出された放射能の割合を表す。

表 18: [^{14}C]セベトラルスタット経口投与後のラットの尿、糞便、胆汁及び血漿中に検出された主な代謝物

Metabolite		Male Urine	Female Urine	Male Feces	Female Feces	Male Bile	Male Plasma	Female Plasma
		% dose					% AUC_{0-24}	
M3	Pyridine *O*-desmethylation	0.4	0.6	-	19.4	3.9	-	-
M6	Pyrazole *O*-desmethylation	0.5	1.1	-	2.4	2.0	-	-
M19	Cleaved sebetralstat (des-[methyl-fluoro-methyl-pyridone])	3.2	0.4	-	-	1.2	-	-
M20	Hydrolyzed cleaved sebetralstat	0.2	0.5	-	-	0.8	-	-
M21	Cysteinyl glycine conjugate of hydroxy sebetralstat	-	-	-	-	4.0	-	-
M22	Hydroxy sebetralstat	-	-	-	2.3	-	-	-
Sebetralstat/ M10/ m/z 508	Co-eluting sebetralstat/ oxidatively cleaved sebetralstat/m/z 508	1.4	3.9	30.9	41.9	15.8	83.4[a]	95.4

Metabolite		Male Urine	Female Urine	Male Feces	Female Feces	Male Bile	Male Plasma	Female Plasma
		% dose					% AUC_{0-24}	
Total unidentified		0.3	0.1	27.8	5.3	31.3	8.2	<0.1

[a] co-eluting m/z 508 component not detected in male plasma

雄ラットの尿中に最も多く含まれた成分は M19 であった（投与量の 3.2%）。代謝物 M3、M6 及び M20 は、共溶出する本薬、M10 及び m/z 508 の成分とともに、雄ラット尿中の微量成分であった。雌ラットの尿では、最も豊富な Radio-HPLC ピークは 3 種の共溶出成分（本薬の未変化体、M10 及び m/z 508 の成分）から成っていた。これらは合わせると投与量の 3.9%を占めていた。代謝物 M3、M6、M19 及び M20 は、雌ラットの尿中の微量成分であった。

糞便、胆汁及び血漿試料中では、本薬の共溶出未変化体、M10 及び m/z 508 の代謝物が最も大きな Radio-HPLC ピークであり、糞便中で投与量の 30.9%～41.9%、胆汁中で投与量の 15.8%及び抽出血漿 AUC_{0-24} の 83.4%～95.4%を占めた（m/z 508 成分は雄の血漿中では認められなかった）。糞便中の代謝物プロファイルは雌雄間で量的に異なっていた。雄では、投与量のごく一部に相当する多数のピークが認められ、投与量の 4%超の面積を有する唯一の Radio-HPLC ピークは、本薬の共溶出未変化体、M10 及び m/z 508 の代謝物であった。しかし、雌ラットの糞便中には M3 が多く、投与量の 19.4%に相当した。

ヒト被験者に[^{14}C]セベトラルスタット 600 mg を経口投与した後（KVD900-103 試験）、血漿中に最も多く存在する生体内変換産物である代謝物 M19（KV124020）の定量をラット血漿で行った（8463718 試験）。具体的には、ラット 26 週間毒性試験（8418576 試験）で得られた反復投与血漿検体をバリデートされた生体試料中薬物濃度アッセイで分析し、これらの検体中の M19（KV124020）の曝露量を定量し、PK パラメータを算出した。ストック溶液の安定性、凍結血漿の安定性及び凍結融解安定性の評価を含む LC-MS/MS によるこれらの検体の生体試料中薬物濃度分析について、その詳細は 8457943 試験の報告書に、PK パラメータの算出については 8463718 試験の報告書に記載した。

PK パラメータは WinNonlin の非コンパートメント解析により算定し、表 19 に要約した。

表 19:　ラットにセベトラルスタットを 1 日 1 回反復経口投与したときの試験 177 日における M19（KV124020）の血漿中薬物動態（8418576 試験）

Species	Sebetralstat Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (h•ng/mL)	T_{max} (h)
Rat	30	Male	270	1,000	0.5
		Female	15.2	61.8	0.5
	100	Male	852	3,830	2.0
		Female	80.4	397	1.0
	300	Male	792	8,470	6.0
		Female	214	1,640	2.0

NHP の試験

雌雄の NHP に[^{14}C]セベトラルスタット 10 mg/kg を経口投与した後、血漿、尿及び糞便中の代謝物のプロファイリング及び特性解析を行った（182658 試験）。この試験では、NHP における[^{14}C]セベトラルスタットの吸収及び排泄についても検討した。得られた結果は、それぞれモジュール 2.6.4.3.2 及び 2.6.4.6 に記載した。

尿（雌雄別に 0～24 時間プール）、糞便抽出物（雄 0～72 時間及び雌 0～120 時間プール）及び血漿抽出物（雌雄別に 0～8 時間 AUC プール）の Radio-HPLC プロファイルを作成し、観察された主要ピークの構造を LC-MS/MS 分析に基づいて提示した。徹底した抽出手順（マイクロ波抽出を含む）にもかかわらず、投与放射能の 18～24%が処理後の糞便抽出後固体中に残存した。血漿では、未抽出の放射能の割合は 6～10%であった。個々の代謝物の提示された構造が、ヒト、ラット及び NHP における血漿スクリーニング試験（YDS/082 試験）、又はラットへの[^{14}C]セベトラルスタット投与後（181649 試験）に特性が明らかにされた構造と同じである場合、これらには同じ識別番号を割り当てた。提示された構造を有する新たな代謝物が同定された場合、又は生体内変換の位置が明確でない代謝物の特性が明らかになった場合、これらには M23 から始まる識別番号を付与した。

11 種の代謝産物の構造が提示された。全てのマトリックスで本薬の未変化体が検出された。代謝プロファイルの要約を表 20 に示す。尿及び胆汁の割合（%）は、動物に投与された放射能の割合であり、血漿については、0～8 時間の AUC プールから抽出された放射能の割合を表す。糞便については、ピークの割合はマイクロ波抽出前とマイクロ波抽出後の合計であり、それぞれ別にプロファイリングした。

表 20: [^{14}C]セベトラルスタットの経口投与後に NHP の尿、糞便及び血漿中に検出された主な代謝物

Metabolite		Male Urine	Female Urine	Male Feces	Female Feces	Male Plasma	Female Plasma
		% dose				% AUC_{0-8}	
M3/M19	Co-eluting pyridine *O*-desmethylation/cleaved sebetralstat (des-[methyl-fluoro-methyl-pyridone])	2.3	2.0	9.9	11.7	10.5	16.6
M23	Di-oxidation/di-hydrogenation	1.1	0.7	4.2	3.7	5.4	6.2
M24	Di-oxidation/di-hydrogenation	0.3	0.2	1.8	1.2	10.6	7.5
M6/M10/M27	Co-eluting pyrazole *O*-desmethylation/oxidatively cleaved sebetralstat/hydroxy sebetralstat	1.8[a]	1.3[a]	3.9	3.7	17.0[a]	11.6[a]
M25	Di-oxidation/di-hydrogenation	-	0.1	-	-	-	-
M29	Hydroxy glucuronide of sebetralstat	1.4	0.7	-	-	17.4	15.4
M26	Di-oxidation/di-hydrogenation	0.3	0.1	-	-	-	-
M28	Hydroxy sebetralstat	-	-	1.8	2.3	-	-
Sebetralstat		0.4	0.4	6.4	20.0	25.9	21.0

Metabolite		Male Urine	Female Urine	Male Feces	Female Feces	Male Plasma	Female Plasma
		% dose				% AUC_{0-8}	
Total unidentified		2.1	2.1	18.6	12.2	7.2	11.6

[a] co-eluting M27 was not observed in these samples

雌雄の NHP 由来の尿中に最も多く含まれていた成分は、共溶出する M3 及び M19 であった（雄及び雌においてそれぞれ投与量の 2.3%及び 2.0%）。本薬は、雌雄ともに投与量の 0.4%を占めていた。

雄 NHP 由来の糞便抽出物中に最も多く含まれていた成分は、共溶出する M3 及び M19（投与量の 9.9%）であり、雌糞便中にも多く含まれていた（投与量の 11.7%）。本薬は、雄の糞便抽出物中では投与量の 6.4%を占めていたが、雌の糞便抽出物中では最も多い成分であった（投与量の 20%）。

本薬の未変化体は、雌雄 NHP からの血漿中で最も大きな Radio-HPLC ピークであり、血漿 AUC_{0-8} の 25.9%及び 21.0%を占めていた。また、本薬のヒドロキシグルクロン酸抱合体（M29）のピークも顕著であり、雄及び雌でそれぞれ抽出血漿 AUC_{0-8} の 17.4%及び 15.4%を占めていた。

NHP では、いずれのマトリックスにおいても代謝物プロファイルに顕著な量的性差は認められなかった。

ヒト被験者に[^{14}C]sebetralstat 600 mg を経口投与した後（KVD900-103 試験）、血漿中に最も多く存在する生体内変換産物である代謝物 M19（KV124020）の定量を NHP 血漿で行った。具体的には、NHP 13 週間間欠投与毒性試験（8420897 試験）で得られた反復投与血漿検体をバリデートされた生体試料中薬物濃度アッセイで分析し、これらの検体中の M19（KV124020）の曝露量を定量し、PK パラメータを算出した。ストック溶液の安定性、凍結血漿の安定性及び凍結融解安定性の評価を含む LC-MS/MS によるこれらの検体の生体試料中薬物濃度分析は、8457942 試験の報告書に記載しており、また算出した PK パラメータを 8463724 試験の報告書に記載している。

PK パラメータは WinNonlin の非コンパートメント解析により算定し、表 21 に要約した。

表 21:　NHP にセベトラルスタットを週 2 回経口投与したときの試験 85 日における M19（KV124020）の血漿中薬物動態（8420897 試験）

Species	Sebetralstat Dose (mg/kg)	Sex	Mean C_{max} (ng/mL)	Mean AUC_{0-24} (h•ng/mL)	T_{max} Range (h)
NHP	50	Male	77.0	361	1-2
		Female	108	609	2-2
	100	Male	216	1,090	2-2
		Female	106	627	1-4
	200	Male	211	1,300	2-6
		Female	243	1,220	1-4
	300	Male	275	1,820	2-6
		Female	128	962	1-6

ヒトの試験

非放射能標識の本薬投与後のヒト、ラット及び NHP から得られた血漿を LC-MS/MS によりスクリーニングし、代謝物の血漿中曝露量をヒトと他の動物種の間で半定量的に比較する試験を実施した（YDS/082 試験）。

本薬 600 mg を空腹時に投与し、その後 1 及び 8 時間に採取した被験者のプール血漿を時点ごとに調製し（KVD900-101 試験）、高精度質量 LC-MS/MS により本薬及びその関連物質のスクリーニングを行った。また、代謝物のスクリーニングは、ラット毒性試験（8391045 試験）で 300 mg/kg/日、NHP 毒性試験（8391044 試験）で 100 mg/kg/日を 7 日間反復投与後 1 時間に採血した血漿についても実施した。

代謝物スクリーニングに続いて、マトリックスマッチ試験において、ヒト及び動物の血漿中の非微量代謝物の量を半定量的に比較した。絶食状態で本薬 600 mg を投与した後の各被験者の血漿検体を用いて、0～24 時間の個々の薬物及びその関連成分の相対的曝露量を表すものとして単一の時間正規化 AUC プールを調製した。同様の方法で、本薬を 300 mg/kg/日（ラット）及び 100 mg/kg/日（NHP）を 7 日間投与後 0～24 時間のラット及び NHP を表すものとして時間正規化 AUC プールを調製した。

ヒト血漿中で同定された非微量代謝物について、動物血漿中における濃度と比較し、それらの存在量を表 22 に示した。

表 22: 経口投与後のヒト、ラット及び NHP 血漿中で検出された代謝物、並びにヒトと動物の血漿間での相対的存在量

Metabolite		Matrix-Matched ratio of Abundance in Rat Plasma to Human Plasma	Matrix-Matched Ratio of Abundance in NHP Plasma to Human plasma
Sebetralstat			
M1	*O*-desmethylation and hydroxylation	0.27	4.7
M2	*O*-desmethylation and hydroxylation	<0.20	3.5
M3	Pyridine *O*-desmethylation	2.1	1.7
M4	Di-oxidation/di-hydrogenation	1.4	1.6
M5	Di-oxidation/di-hydrogenation	2.1	2.1
M6	Pyrazole *O*-desmethylation	33	3.3
M7	Hydroxylation and glucuronidation	1.2	6.3
M8	Hydroxylation	5.1	1.0
M9	Di-oxidation/di-hydrogenation	2.7	2.3
M10	*N*-dealkylation at pyridinone (oxidatively cleaved sebetralstat)	3.2	2.8
M11	Di-oxidation/di-hydrogenation	0.39	3.5
M12	Di-oxidation and methylation	2.4	2.8
M13	Di-oxidation/di-hydrogenation	0.36	3.7
M14	Hydroxylation	16	2.4

ヒトで同定された代謝物は、一重酸化、二重酸化／二重水素化、*O*-脱メチル化、*O*-脱メチル化と一重酸化の組み合わせ、一重酸化とグルクロン酸抱合の組み合わせ、酸化 *N*-脱アルキル化、及び二重酸化とメチル化の組み合わせであった。本薬の血漿中レベルは、イオン化が同等であると仮定すると、ヒト、ラット及び NHP 血漿中においていずれの代謝物よりも著しく高いようであった。ヒト血漿中の本薬／代謝物比を 1 時間及び 8 時間で比較したところ、経時的な変化は認められなかった。

これらの結果から、検討した全ての代謝物は、ヒトと比較して NHP 血漿中にも同等量以上存在することが示された。また、M1、M2、M11 及び M13（存在するが、循環血中濃度は低い）を除き、いずれの代謝物もヒトと比較するとラット血漿中にも同等かそれ以上の量で存在した。

KVD900-103 試験で、[^{14}C]セベトラルスタット 600 mg を健康男性被験者に経口投与した後、血漿、尿及び糞便中の代謝物の最終的なプロファイリングと特性解析を行った（8419854 試験）。尿及び糞便のホモジネートの個々の被験者プールを調製したところ、それぞれ尿及び糞便中に排泄された放射能のうち、平均して 97%超及び 98%超が含まれていた。投与後 0.5、1、4、12 及び 24 時間の被験者間の血漿プールを、AUC_{0-24} を表すものとして個々の被験者の時間標準化血漿プールとともに調製した。

尿、糞便抽出物及び血漿抽出物の Radio-HPLC プロファイルを作成し、観察された主要ピークの構造を LC-MS/MS 分析に基づいて提示した。糞便ホモジネート中の放射能の平均約 85%が抽出され、血漿 AUC_{0-24} プールの平均抽出率は約 88%であった。個々の代謝物の提示された構造が、ヒト、ラット及び NHP における血漿スクリーニング試験（YDS/082 試験）において、又はラット若しくは NHP への[^{14}C]セベトラルスタット投与（181649 試験及び 182658 試験）後に特性が明らかになった構造と同じである場合、これらには同じ識別番号を割り当てた。提示された構造を有する新たな代謝物が同定された場合、又は生体内変換の位置が明確でない代謝物の特性が明らかになった場合、これらには M30 から始まる新たな識別番号を付与した。

代謝プロファイルの要約を表 23 に示す。尿と糞便を合わせて投与量の平均 2%超を示す代謝物又は AUC_{0-24} プールから抽出した放射能の 2%超を示す代謝物のみを示す。

表 23: [^{14}C]セベトラルスタット経口投与後のヒトの尿、糞便及び血漿中に検出された主な代謝物

Metabolite		Plasma	Urine	Feces
		% AUC_{0-24}	% Dose	
M3	Pyridine *O*-desmethylation	4.01 ± 1.45	2.55 ± 0.641	8.16 ± 1.33
M6	Pyrazole *O*-desmethylation	0.765 ± 0.284	0.732 ± 0.341	1.38 ± 0.385[a]
M10	Oxidatively cleaved sebetralstat (*N*-dealkylation at pyridinone)	4.00 ± 1.44	4.88 ± 1.13[b]	1.84 ± 0.759
M19	Cleaved sebetralstat (des-[methyl-fluoro-methyl-pyridone])	7.10 ± 2.03	4.21 ± 0.653	0.783 ± 0.335
M34	Pyridine di-oxidation/ di-hydrogenation	1.06 ± 0.239	2.95 ± 0.750	8.32 ± 2.88
M38/M39	Co-eluting pyridine di-oxidation/ di-hydrogenation (M38) and oxidized pyrazole *O*-desmethyl (M39)	1.79 ± 0.700	1.21 ± 0.430	2.68 ± 0.758
M40	Hydroxy sebetralstat	Not Detected	1.24 ± 0.332	2.88 ± 0.886
Sebetralstat		64.1 ± 8.60	8.66 ± 3.40	12.5 ± 8.86
Other characterized peaks		2.74	2.56	3.35
Unidentified peaks		14.4	0.35	6.35

[a] M6 co-eluted with a di-oxidation/tetra-hydrogenation product (M35) in feces
[b] M10 co-eluted with a di-oxidation/di-hydrogenation product (M41) in urine

[^{14}C]セベトラルスタット 600 mg をヒト被験者に経口投与した場合、本薬が血漿中の主要な薬物関連成分であった。全被験者の AUC_{0-24} において、薬物関連成分の 10%を超える平均値を示した代謝物はなかった。血漿中の総放射能濃度と本薬のプロファイルを比較したところ、半減期が親化合物よりも長い代謝物の存在が示されたが、投与後 24 時間に採取した血漿の被験者間プールで確認されたピークは本薬のみであり、この時点ではいずれの場合も放射能の平均血漿中濃度は低かった。最も多く認められた血漿中代謝物は、分解生成物 M19 及び M10（それぞれ AUC_{0-24} の平均値：7.10%及び 4.00%）並びにピリジル基からの脱メチル生成物 M3（AUC_{0-24} の平均値：4.01%）であった。

種々の代謝物への広範な生体内変換が認められたが、本薬が尿及び糞便中の主な薬物関連成分であった（被験者全体でそれぞれ平均 8.66%及び 12.5%）。本薬投与量の 13%以上を未変化体として尿中に排泄した被験者はいなかった。排泄物において投与量の 5%以上を占める代謝物の主な生体内変換経路は、分子中の 2 つの異なる点での鎖切断（M19 と M10、M10 は尿中に二重酸化／二重水素化生成物［M41］と共溶出）、二重酸化／二重水素化生成物（M34）及びピリジル基からの脱メチル生成物 M3 であった。排泄された主な代謝物は M34 及び M3 であった（それぞれ投与量の 11.3%及び 10.7%）。

2.6.4.5.3 想定される代謝経路

ヒトの血漿中及び排泄物中に最も多く含まれる代謝物を図 2 で示し、ラット及び NHP の生体マトリックスにおけるこれらの成分（及び／又はそれらの異性体）の存在の有無も併せて示す。

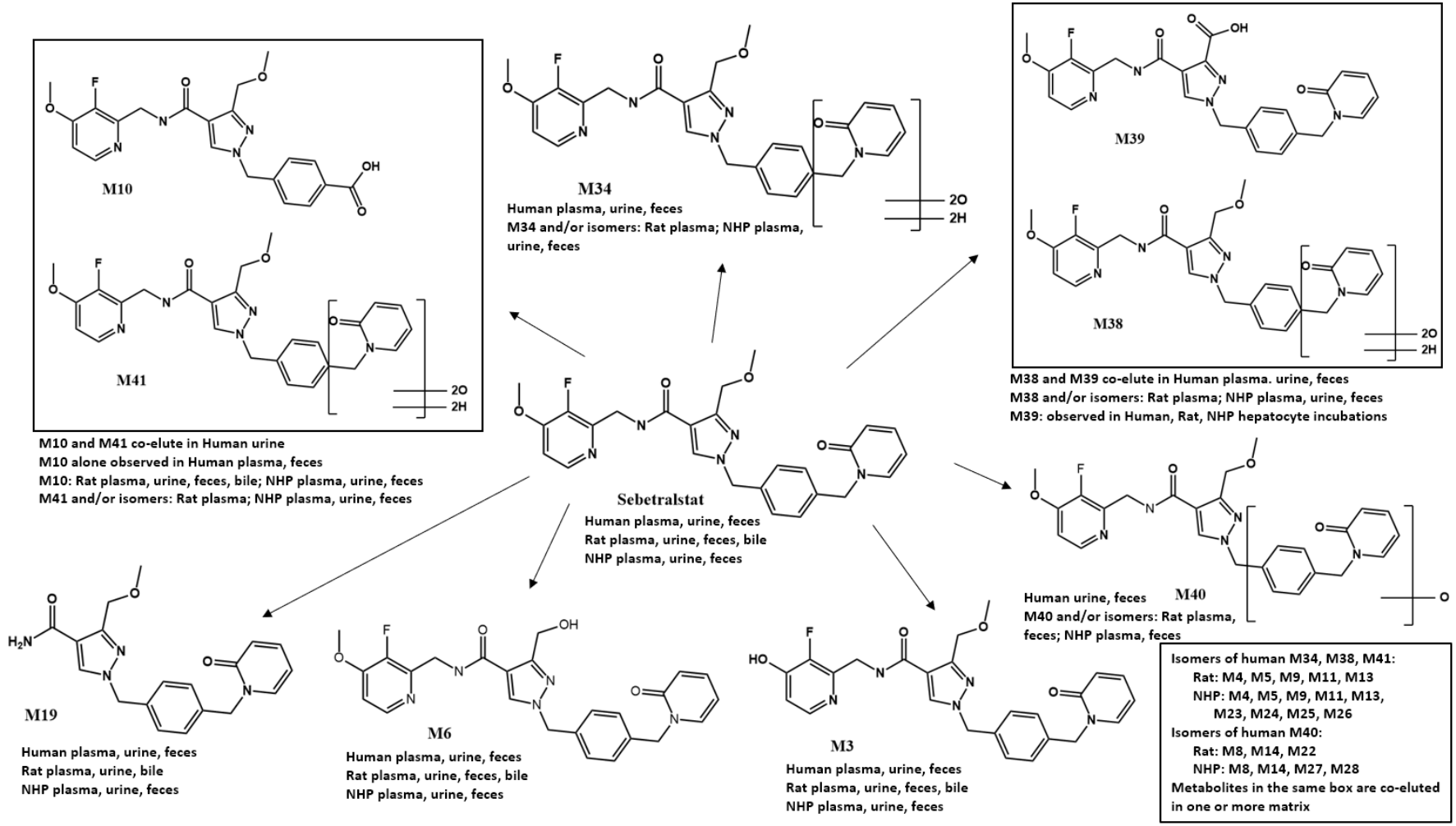


図 2:　[^{14}C]セベトラルスタットの経口投与後のヒト尿、糞便及び血漿中に検出された主な代謝物（排泄量が投与量の 2%超又は AUC_{0-24} 血漿中総放射能の 2%超）、並びにラット及び NHP 中の生物学的マトリックス中におけるそれらの存在の有無

2.6.4.5.4 CYP 酵素に関する試験

CYP アイソフォームが本薬を代謝する可能性について、種々の CYP アイソフォームの特定の化学的阻害剤の存在下又は非存在下で、本薬 1 µmol/L をヒト肝ミクロソーム中でインキュベートすることにより検討した（YDS058 試験）。NADPH 無添加の対照培養では代謝は認められなかった。全試料について LC-MS/MS を用いて本薬の分析を行った。この予備スクリーニング試験では、インキュベーション条件は最適化されなかった。結果を表 24 に示す。

本薬はヒト肝ミクロソームにおいて主に CYP3A4 により代謝されたが、CYP2C9 も本薬の代謝に顕著に寄与していた。本薬代謝への寄与が認められた他の CYP アイソフォームは、CYP2C8、CYP2B6、CYP2C19 及び CYP2D6 であった。CYP1A2 はヒト肝ミクロソームにおける本薬のクリアランスには寄与しなかった。

表 24: セベトラルスタットの代謝に対するチトクローム P450 酵素の寄与

CYP Enzyme	Chemical Inhibitor [Concentration (µmol/L)]	Fraction Metabolized
CYP1A2	Furafylline [10]	-
CYP2B6	2-Phenyl-2-(1-piperidinyl) propane [30]	8-9
CYP2C8	Montelukast [6.5]	11-13
CYP2C9	Sulfaphenazole [10]	26-30
CYP2C19	n-Benzylnirvanol [10]	5-6
CYP2D6	Quinidine [1]	<1
CYP3A4	CYP3cide [1]	40-49
CYP3A	Ketoconazole [1]	40-49

本薬の代謝に関与する CYP 酵素を詳細に調べるために、最適化したインキュベーション条件を用いて、さらなる検討を行った（181764 試験）。この追加試験では、CYP 酵素インキュベーションに[^{14}C]セベトラルスタットを用い、多層的アプローチを行った。

まず、最適なインキュベーション条件（時間と蛋白質濃度）を調べ、本薬代謝の動力学的パラメータについて、肝ミクロソームインキュベーションを Radio-HPLC を用いて測定した。これにより、本薬は、肝ミクロソームによる 4 種の主な未同定成分である UK1～UK4 へのターンオーバーが比較的低いことが示された。本薬の枯渇又は UK1～UK4 の形成における K_m 値に基づいて、50 µmol/L の濃度を選択してさらに検討した。これらの試験では、本薬の代謝及び肝ミクロソームによる UK1～UK4 の形成に及ぼす CYP アイソフォームの特異的阻害剤の影響を調べた。また、単一発現された CYP アイソフォームとインキュベーションした際の本薬の代謝及び UK1～UK4 の形成を測定した。しかしながら、50 µmol/L での本薬のターンオーバーは非常に低く、得られたデータは明確なものではなかった。そこで、CYP アイソフォームの特異的阻害剤の存在下及び非存在下で、より低い濃度である 10 µmol/L の本薬で、肝ミクロソームにおけるさらなる検討を行った。この濃度で、さらなる成分（UK10）が認められた。UK10 は、時間とタンパク質に関する線形性試験において 10 µmol/L での初期のインキュベーションでは認められなかった。しかしながら、[^{14}C]セベトラルスタットのストック中のいかなる不純物とも共溶出せず、生成がケトコナゾールによって阻害されたので、代謝により生成されると推定した。CYP アイソフォームの特

異的阻害剤が、本薬 10 µmol/L のミクロソーム代謝回転の割合、及び UK1～UK4 と UK10 の形成に及ぼす影響を表 25 に示す。

表 25: CYP アイソフォームの特異的阻害剤が 10 µmol/L [^{14}C]セベトラルスタットのヒト肝ミクロソーム代謝、及び代謝物 UK1～UK4 と UK10 の生成に及ぼす影響

CYP Isoform	Inhibitor	Mean % of Component after Incubation					
		Sebetralstat	UK1	UK2	UK3	UK4	UK10
1A2	Vehicle control	68.9	5.40	9.93	4.37	7.83	3.63
	α-Naphthoflavone	67.5	5.03	10.9	4.30	8.50	3.77
2A6	Vehicle control	77.0	3.63	6.23	4.87	7.40	0.933
	8-Methoxypsoralen	73.5	5.23	7.17	2.93	8.23	2.90
2B6	Vehicle control	56.8	10.6	12.7	5.60	9.70	3.20
	Thio-TEPA	61.0	6.40	12.5	4.57	10.6	4.93
2C8	Vehicle control	58.4	8.47	12.0	5.53	11.1	3.70
	Quercetin	68.4	5.77	9.27	3.13	9.57	3.87
2C9	Vehicle control	64.1	7.83	11.9	4.57	9.03	2.57
	Sulfaphenazole	66.8	7.27	11.2	3.73	8.67	2.40
2C19	Vehicle control	66.7	6.30	10.9	5.30	6.40	4.37
	Tranylcypromine	69.6	5.70	10.9	3.83	7.77	1.87
2D6	Vehicle control	66.0	6.50	9.47	4.50	9.03	4.50
	Quinidine	70.4	5.60	9.77	3.73	8.37	2.13
2E1	Vehicle control	71.8	5.97	8.13	4.10	10.0	ND
	Diethyldithiocarbamate	72.5	8.07	6.30	ND	10.3	2.83
3A4	Vehicle control	63.0	7.00	10.6	4.83	8.03	4.17
	Ketoconazole	88.5	ND	6.83	ND	4.70	ND

ND: Not detected

ケトコナゾールとのインキュベーションにより、本薬の肝ミクロソームの代謝物は 1/3 以下に減少し、代謝物 UK1、UK3 及び UK10 の生成は完全に阻害され、UK2 及び UK4 は顕著に減少した。本薬の全体的な代謝に影響を及ぼした他の唯一の CYP アイソフォームは CYP2C8 であったが、ケルセチン存在下での本薬の代謝回転は溶媒対照と比較して約 25%低いだけであった。その他の CYP 阻害剤は個々の代謝物の生成にある程度の影響を及ぼしたが、本薬の全体的な代謝回転に及ぼした影響はわずかであった。これらのデータを合わせると、*in vitro* では本薬が 10 µmol/L の濃度で主に CYP3A4 により代謝され、程度はかなり低いが CYP2C8 によっても代謝されることが示唆された。

2.6.4.6 排泄

ラットに[^{14}C]セベトラルスタット 30 mg/kg を経口投与し、尿、糞便、胆汁、呼気トラップ、屍体及び消化管における薬物関連成分の排泄を測定した。同様に、NHP では、[^{14}C]セベトラルスタット 10 mg/kg の経口投与後の尿及び糞便中の放射能のマスバランスを測定した。いずれの動物種においても、主に糞便を介して総放射能は速やかに排泄され、投与後 168 時間までに、この経路はラットで平均 91%、NHP で平均 82%を占めた。放射能の総平均回収率はラットで 99%、NHP で 95%であった。

授乳中のラットに[^{14}C]セベトラルスタットを投与後、乳汁中の放射能レベルを測定した。授乳中のラットにおける乳と血漿の総放射能の平均比率を分析したところ、薬物関連成分が血漿中よりわずかに高い濃度で乳汁中に分泌されていることが示された。

個々の試験の結果を以下の項に要約する。

ラットの試験

雄 HW ラット（n=5）に本薬 1 mg/kg を単回静脈内投与し、本薬未変化体の排泄について調べた（8358340 試験）。胆管カニューレを挿入したラットを用いて、尿及び胆汁の試料を採取した。胆汁排泄及び腎排泄は本薬の主な排泄経路ではなく、胆汁中及び尿中での未変化体としての回収率はそれぞれ投与量の平均 0.2%未満及び 1%未満であった。この試験の結果は、181649 試験における[^{14}C]セベトラルスタットを用いた排泄に関する最終的なデータにより置き換えられた。

雌雄 HW ラットに[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与し、総放射能の排泄とともに、雄ラットにおける胆汁排泄を検討した（181649 試験）。この試験では、ラットにおける[^{14}C]セベトラルスタットの吸収、分布及び代謝についても検討した。これらの結果を、それぞれモジュール 2.6.4.3.2、2.6.4.4 及び 2.6.4.5 に記載した。

0.5% HPMC で調製した[^{14}C]セベトラルスタット 30 mg/kg を経口投与した後、雌雄各 3 匹のラットをガラス製メタボウルに入れ、尿及び糞便を定量的に採取した。尿は、投与前及び投与後 0～6 時間、6～24 時間、その後投与後 168 時間まで 24 時間間隔で採取した。糞便は、投与前及び投与後 168 時間まで毎日採取した。最初の 48 時間は、凍結容器に排泄物を採取した。ケージは毎日洗浄し、洗浄液は保存した。呼気は、投与後 48 時間まで毎日雌雄ラット各 1 匹から採取した。投与後 168 時間に、安楽殺し、屍体及び消化管を保存した。

さらに 2 匹の胆管カニューレを挿入した雄ラットに同用量の[^{14}C]セベトラルスタットを投与した。胆汁を、投与前、投与後 0～6 時間、6～12 時間、12～24 時間及び 24～48 時間に採取した。尿及び糞便は、投与前、その後投与後 48 時間まで毎日採取した。排泄物及び胆汁は、投与後 48 時間まで凍結して採取した。ケージは毎日洗浄し、洗浄液は保存した。投与後 48 時間に、安楽殺し、屍体及び消化管を保存した。

尿、糞便、胆汁、ケージ洗浄液、呼気トラップ、屍体及び消化管中の総放射能濃度を測定した。雌雄ラット及び胆管カニューレ挿入雄ラットにおける放射能の累積排泄量を表 26 に要約する。

表 26: 30 mg/kg [^{14}C]セベトラルスタット経口投与後の無処置ラット及び胆管カニューレ挿入ラットにおける総放射能の平均累積排泄量

Sample		% Administered Radioactivity		
		Male Rats (n=3)	Female Rats (n=3)	Male Bile Duct Cannulated Rats (n=2)
Urine	0-24 h	6.3	7.1	10.0
	0-48 h	6.4	7.2	10.1
	0-168 h	6.5	7.3	-
Feces	0-24 h	85.2	87.1	29.4
	0-48 h	89.5	90.8	31.4
	0-168 h	91.0	91.2	-
Bile	0-6 h	-	-	46.8
	0-24 h	-	-	54.9
	0-48 h	-	-	55.1
Cage wash		1.3	0.9	1.3
Expired air		0.2	0.1	-
Gastrointestinal tract		0.0	0.0	0.1
Carcass		0.2	0.2	0.4
Total recovery	0-48 h	-	-	98.4
Total recovery	0-168 h	99.0	99.5	-

[^{14}C]セベトラルスタット 30 mg/kg を経口投与後、総放射能は主に糞便を介して速やかに排泄され、投与後 168 時間までに、雌雄ラットともに平均 91%が回収された。尿中排泄は、雄及び雌ラットにおいてそれぞれ投与量の平均 6.5%及び 7.3%であった。呼気中の総放射能レベルは非常に低く、分子内の放射能標識位置が適切であることを示している。投与後 168 時間に、屍体に残存していた放射能はごく低レベルであった。総放射能の回収は定量的であり、投与後 168 時間の平均総回収率は 99%以上であった。

胆管カニューレを挿入した雄ラットに経口投与した後、主な排泄経路は胆汁中であり、投与後 48 時間までに投与量の 55.1%が回収された。胆汁排泄は速やかであり、投与後 6 時間までに投与量の平均 46.8%が排泄された。糞便中排泄率は平均 31.4%であったが、尿中排泄はわずかであり、平均して投与量の 10.1%であった。回収率は定量的であり、投与後 48 時間の平均総回収率は 98.4%であった。

授乳中の雌 HW ラットに[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与し、乳汁中の薬物関連放射能濃度を調べた（187593 試験）。この試験では、妊娠中の雌ラットにおける総放射能の胎盤移行についても検討した。この点については、モジュール 2.6.4.4 に記載した。0.5% HPMC で調製した[^{14}C]セベトラルスタット 100 mg/kg を分娩後 11 日に経口投与した後、授乳中の雌ラット 3 匹から、投与後 1、8 及び 24 時間に血液及び乳汁の検体を採取した。乳汁分泌はオキシトシンの腹腔内注射により促進した。血漿を血球から分離し、乳汁中及び血漿中の総放射能濃度を測定した。投与後 1 時間の雌 1 匹からは、乳汁を採取することができなかった。総放射能の乳汁対血漿比の平均値は、

検体採取期間を通じて 1.14～1.17 であったことから、授乳ラットの乳汁中には血漿中に存在する濃度よりもわずかに高い濃度で薬物関連成分が分泌されていることが示された。投与後 1 及び 24 時間の両時点で乳汁を採取した個体では、投与後 24 時間の乳汁中総放射能濃度の平均値（0.495 µg eg./mL）は背景値に近く、投与後 1 時間の平均値（25.865 µg eg./mL）の約 1/50 であった。

NHP の試験

NHP において[^{14}C]セベトラルスタットの経口投与後の総放射能の排泄について調べた（182658 試験）。この試験では、NHP における[^{14}C]セベトラルスタットの吸収及び代謝についても検討した。これらの結果を、それぞれモジュール 2.6.4.3.2 及び 2.6.4.5 に記載した。

0.5% HPMC で調製した[^{14}C]セベトラルスタット 10 mg/kg を経口投与した後、雌雄各 3 匹の NHP をステンレススチール製ケージに個別飼育し、尿及び糞便を定量的に採取した。尿は、投与前、投与後 0～6 時間、6～24 時間、その後 24 時間間隔で投与後 168 時間まで収集した。糞便は、投与前及び投与後 168 時間まで毎日採取した。最初の 72 時間尿は、凍結容器に採取した。ケージは毎日洗浄し、洗浄液は保存した。ケージ内の残渣も毎日採取した。

尿、糞便、ケージ洗浄液及びケージ残渣中の総放射能濃度を測定した。雌雄の NHP における放射能の累積排泄量を表 27 に要約する。

表 27: [^{14}C]セベトラルスタット 10 mg/kg を経口投与後の NHP における総放射能の平均累積排泄量

Sample		% Administered Radioactivity	
		Male (n=3)	Female (n=3)
Urine	0-24 h	10.1	8.6
	0-48 h	10.5	9.3
	0-168 h	10.8	9.8
Feces	0-24 h	42.2	16.2
	0-48 h	78.5	52.5
	0-168 h	84.5	78.7
Cage wash		2.0	4.7
Cage debris		0.2	0.2
Total recovery	0-168 h	97.4	93.3

[^{14}C]セベトラルスタット 10 mg/kg を経口投与後、総放射能は主に糞便を介してかなり速やかに排泄され、投与後 168 時間までに、雄及び雌の NHP においてそれぞれ平均 84.5%及び 78.7%が糞便中に回収された。尿中排泄は、雄及び雌の NHP においてそれぞれ投与量の平均 10.8%及び 9.8%であった。総放射能の回収は定量的であり、投与後 168 時間の平均総回収率は 93%以上であった。雌 NHP の 1 匹では、他の雌雄動物（範囲：93.7～103.7%）よりも放射能の回収率が低かった（78.5%）が、この動物のかなりの量の放射能がケージ洗浄液から回収されたことから、回収率が低かったのは、放射能の排泄率が低かったためではなく、検体採取に問題があった可能性が示唆された。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

いくつかの *in vitro* 試験を実施し、本薬が PK 薬物相互作用を引き起こすか、又は PK 薬物相互作用の基質となるかの可能性を検討した。これらの試験は、適切な規制ガイドライン（FDA 2020、EMA 2012）に従い実施した。

2 件の試験（CYP0603_R7 試験、182574 試験）で、本薬の CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 の活性に対する阻害作用を検討した。2 番目の試験は、観察された臨床血漿中濃度に基づいてより高濃度の本薬で実施した。本薬は、200 µmol/L までの濃度において CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C19 及び CYP2D6 の阻害は 50%未満であり、CYP2C9 及び CYP3A4 については直接阻害した。いずれの CYP アイソフォームに対しても時間依存的な阻害は認められなかった。

本薬が 6 種類の主要なウリジン-5'-ジホスホ-グルクロノシルトランスフェラーゼ（UGT）アイソフォームに対する阻害を引き起こす可能性を評価した。本薬は UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4 及び UGT1A9 の弱い阻害剤であることが確認されたが、UGT1A6 又は UGT2B7 に対しては阻害しなかった。

本薬が CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4 の誘導剤となる可能性について、3 例のドナーから得られた培養ヒト肝細胞とインキュベーションし、細胞のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）レベルを測定することにより評価した。CYP1A2 の明らかな誘導は認められなかった。CYP2B6 の誘導は、本薬 100 µmol/L で 2 例のドナー由来の細胞で明らかであったが、その誘導は陽性対照による誘導の 25%未満であった。CYP2C8 の誘導は、本薬 100 µmol/L で 3 例全てのドナー由来の細胞において明らかであった。CYP2C9 及び CYP2C19 の誘導は、本薬 100 µmol/L でそれぞれ 2 例及び 1 例のドナー由来の細胞において明らかであったが、陽性対照によって示された誘導性が低かったため、誘導の程度の解釈は困難であった。CYP3A4 の誘導は、本薬 100 µmol/L では全ドナー由来の細胞で認められ、本薬 10 µmol/L では程度は低く、ドナー間でばらつきがあった。

本薬がヒト溶質キャリア（SLC）トランスポーター、ATP 結合カセット（ABC）トランスポーターである BCRP 及び P-gp、胆汁酸塩輸出ポンプ（BSEP）を阻害する可能性を、*in vitro* で検討した。本薬は、OAT1 を除いて、全ての SLC トランスポーターを阻害した。本薬は用量依存的な P-gp の阻害は引き起こさなかったが、BCRP 及び BSEP を弱く阻害した。

本薬が P-gp 及び BCRP、又は SLC トランスポーターの基質であるかを評価するために検討を行った。その結果、本薬は、MATE2-K の境界基質であることを除いて、SLC トランスポーターの基質ではなかった。本薬は BCRP と P-gp の両方の基質であることが確認された。

個々の試験の結果を以下の項に要約する。薬物相互作用のガイダンスに照らしたこれらの結果の解釈については、モジュール 2.5 で考察する。

CYP603_R7 試験

CYP603_R7 試験で 20 日間培養した Caco-2 細胞における本薬の透過性、及び本薬が P-gp 及び／又は BCRP の基質であるかどうかを評価した。また、この試験では、P-gp 及び BCRP、7 種の主要 CYP アイソフォーム、6 種の主要 UGT アイソフォームに対する本薬の阻害能についても検討した。

Caco-2 細胞における本薬の透過性を、特異的な P-gp 阻害剤であるベラパミル又はエラクリダール（pH 6.5/7.4）の存在下及び非存在下、特異的な BCRP 阻害剤であるフミトレモルギン C の存在下及び非存在下で、10 及び 50 µmol/L（pH 7.4/7.4）で測定した。データから、本薬は中程度の透過性を有し、試験した pH 条件及び濃度の両方での排出比が約 15～20 であることが示された。ベラパミル存在下では排出比は約 1.5 に低下し、フミトレモルギン C 存在下では排出比は約 5 に低下した。エラクリダール（P-gp と BCRP の両方を阻害することが知られている）の存在下では、排出比は約 0.9 に低下した（モジュール 2.6.5.15.A）。このことは、*in vitro* において本薬が P-gp と BCRP の両方の基質であることを示している。

P-gp によるロペラミドの輸送及び BCRP によるエストロン-3-硫酸の輸送に対する本薬の阻害能を、P-gp をコードする MDR1 遺伝子を過剰発現している多剤耐性遺伝子 Madin Darby イヌ腎細胞（MDR1-MDCK 細胞）及び Caco-2 細胞において、それぞれ測定した。この試験結果から、本薬は、50 µmol/L までの濃度において、P-gp 又は BCRP 輸送のいずれの阻害剤でもないことが示された。

本薬の、7 種の主要な P450 アイソフォームに対する可逆的又は時間依存的な阻害能を、ヒト肝ミクロソームにおける IC_{50} シフトにより評価した。データから、本薬濃度 25 µmol/L までは、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 又は CYP3A4 の可逆的又は時間依存的な阻害は認められなかった。

本薬の、6 種の主要な UGT アイソフォームに対する可逆的阻害能を、組換え発現 Supersomes™ で評価した。データから、本薬は UGT1A6 又は UGT2B7 の阻害剤ではないが（IC_{50} が 100 µmol/L 超）、UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4 及び UGT1A9 の弱い阻害剤であることが示唆され、IC_{50} 値はそれぞれ 87.9、90.1、57.5 及び 31.3 µmol/L であった。

CYP 酵素の阻害剤としてのセベトラルスタット

本薬が、ヒト肝ミクロソーム中の CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 を阻害する可能性について、時間依存的阻害の評価を含めてさらに検討した（182574 試験）。この試験では、開発段階での臨床血漿中濃度の新たなデータに基づき、CYP0603_R7 試験と比較して、より高い濃度の本薬を検討した。ヒト初回投与試験（KVD900-101 試験）のパート A で絶食下の被験者に 300 mg を投与した際の算術平均 C_{max} は 4,380 ng/mL であり、これが非結合血漿中濃度 2.07 µmol/L に相当する。各 CYP アイソフォームに特異的なプローブ基質を用いて、個々の CYP の活性を測定した。CYP3A4 には 2 種のプローブ基質（ミダゾラム及びテストステロン）を用いた。本薬（濃度範囲 1～200 µmol/L、及び溶媒対照）を、肝ミクロソーム、適切なプローブ基質及び補因子（NADPH 又は NADPH 再生系）と以下の方法でインキュベートした。可逆的阻害の評価のために、本薬をミクロソーム及びプローブ基質とともにインキュベートし、直ちに補因子を添加した。NADPH を介した時間依存的阻害の評価のために、プローブ基質の添加前に、本薬を 30 分間ミクロソーム及び補因子とともにインキュベートした。NADPH を介さない時間依存的阻害の評価のために、補因子の添加前に、本薬を 30 分間ミクロソーム及びプローブ基質とともにインキュベートした。各プローブ基質に対する適切なインキュベーション期間の後、特定の代謝物の生成を LC-MS/MS により測定した（CYP1A ではパラセタモール、CYP2B6 ではヒドロキシ-ブプロピオン、CYP2C8 では 6α-ヒドロキシ-パクリタキセル、CYP2C9 では 4-ヒドロキシ-トルブタミド、CYP2C19 では 4-ヒドロキシ-S-メフェニトイン、CYP2D6 ではヒドロキシ-ブフラロール、CYP3A4 では 1-ヒドロキシ-ミダゾラム及び 6β-ヒドロキ

シ-テストステロン）。陽性対照として、各 CYP アイソフォームに対する特定の直接及び時間依存的阻害剤をインキュベートした。

陽性対照化合物は、各 CYP アイソフォームを適切に阻害した。本薬は、用いたプレインキュベーション法にかかわらず、200 µmol/L までの濃度で CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C19 及び CYP2D6 の阻害は 50%未満であった。本薬による CYP2C9 及び CYP3A4 の直接阻害が認められ、IC_{50} 値は 30.1 µmol/L（CYP2C9）、120 µmol/L（CYP3A4、テストステロン基質）及び 121 µmol/L（CYP3A4、ミダゾラム基質）であった（モジュール 2.6.5.12.B）。CYP2C9 又は CYP3A4 への時間依存的な阻害は認められなかった。

CYP 酵素の誘導剤としてのセベトラルスタット

本薬が CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4 の誘導剤である可能性を評価するため、培養ヒト肝細胞を用いたインキュベーションにおける mRNA レベルへの影響を測定した（181759 試験）。本薬を、0、1、10 及び 100 µmol/L の濃度で、3 例のドナー由来の培養ヒト肝細胞と 72 時間インキュベートし、24 時間ごとに本薬を含む新鮮培地を添加した。インキュベーション終了時に、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4 の mRNA レベルをリアルタイム定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（qRT-PCR）により定量した。陽性対照とした誘導剤（CYP1A2 にはオメプラゾール、CYP2B6 にはフェノバルビタール及び CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4 にはリファンピシン）とのインキュベーションも実施した。これらのインキュベーションの前に、MTS（3-(4、5-ジメチルチアゾール-2-イル)-5-(3-カルボキシメトキシフェニル)-2-(4-スルホフェニル)-2H-テトラゾリウム）細胞毒性アッセイを実施したところ、100 µmol/L での細胞生存率は許容範囲内であることが示された。細胞インキュベーションにおける本薬の濃度をインキュベーションの最終日に測定したところ、本薬濃度は名目濃度の 10%以内であることが示された。標的遺伝子の発現を、2 種のハウスキーピング遺伝子、グリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ（GAPDH）及び β2 マクログロブリン（B2M）の発現量に対して標準化し、mRNA 誘導の程度を、溶媒対照に対する発現比及び陽性対照の%の両方で推定した。陽性誘導の明確な指標は、少なくとも 1 種のハウスキーピング遺伝子で標準化した結果において、溶媒対照と比較して 2 倍を超える誘導と、陽性対照による誘導の 20%を超える誘導の両方が認められた場合と定義した（モジュール 2.6.5.12.C）。

その結果、本薬による CYP1A2 の誘導は、1～100 µmol/L の濃度範囲では明らかではなかった。

CYP2B6 については、2 例のドナー由来の細胞において本薬 100 µmol/L の濃度で誘導が明らかで、溶媒対照と比較して最大 5.6 倍の誘導が認められたが、その誘導は陽性対照と比較すると高いものではなかった（25%未満）。本薬 1 及び 10 µmol/L の濃度では、いずれのドナーにおいても CYP2B6 の明らかな誘導は認められなかった。

CYP2C8 mRNA の誘導については、全 3 例のドナー由来の細胞において本薬 100 µmol/L の濃度で誘導が明らかで、溶媒対照と比較して最大 2.9 倍の誘導が認められた。100 µmol/L での陽性対照に対する誘導は 31～80%であったが、陽性対照のリファンピシンによる誘導は比較的低かった（溶媒対照の 5.1 倍以下）。本薬 1 及び 10 µmol/L の濃度では、いずれのドナーにおいても CYP2C8 の誘導は認められなかった。

CYP2C9 mRNA の誘導については、2 例のドナー由来の細胞において本薬 100 µmol/L の濃度で誘導が明らかであり、溶媒対照と比較して最大 4.7 倍の誘導が認められた。リファンピシンによる CYP2C9 mRNA の誘導が低かった（溶媒対照の 3.3 倍以下）ことから、陽性対照と比較した誘導

の程度の解釈は困難であった。溶媒対照に対する mRNA 誘導は、本薬 1 及び 10 µmol/L の濃度では 1.8 倍以下であった。

100 µmol/L の本薬では、1 例のドナー（ドナー2）由来の細胞のみにおいて、溶媒対照に対する 2 倍超（2.2 倍）の CYP2C19 mRNA の誘導が認められた。陽性対照と比較した誘導の程度の解釈は、リファンピシンによって引き起こされる CYP2C19 mRNA の誘導が低かったために困難であった（溶媒対照の 3.4 倍以下、ドナー1 では 1.3 倍と低かった）。溶媒対照と比較した mRNA 誘導は、本薬 1 及び 10 µmol/L の濃度で 1.3 倍以下であった。

本薬 100 µmol/L の濃度で、細胞における CYP3A4 mRNA の誘導は 2.8～16.5 倍であり、これは陽性対照による誘導の 11.4～214%に相当した。本薬による mRNA 誘導の倍率、及び陽性対照による誘導の両方においてドナー細胞間に顕著なばらつきがみられたにもかかわらず、全てのドナーにおいて 100 µmol/L では明らかな誘導作用が認められた。本薬 10 µmol/L でも誘導は認められたが、その程度は低く、ドナー間でばらつきがあり、溶媒対照の 1.8～5.6 倍、陽性対照による誘導の 5.1～70%に相当した。本薬 1 µmol/L では、いずれのドナー細胞においても CYP3A4 による誘導は認められなかった。

トランスポーターの阻害剤としてのセベトラルスタット

本薬の排出及び取り込みトランスポーターの阻害剤及び／又は基質としての可能性を *in vitro* で評価するために、本薬の定量分析法を開発し、溶解度と非特異的結合性を調べる試験を行った（KVS/REP/19 試験）。測定された本薬の溶解度は、試験条件下では 100 µmol/L を超えた。非特異的結合はいずれも、細胞の存在下では問題とならないため、細胞ベースのトランスポーターアッセイには、非特異的結合に対する更なる対応は不要であった。

本薬が *in vitro* で SLC トランスポーターである OAT1、OAT3、有機カチオントランスポーター（OCT）2、MATE1、MATE2-K、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の阻害剤となるか、及び OATP1B1 及び OATP1B3 の時間依存的阻害剤となるかを評価する試験を実施した（KVS/REP/20 試験）。

本薬（最高濃度 100 µmol/L）がトランスポーターを阻害する可能性について、MATE2-K を単独で発現させた MDCK 細胞（及び対照 MDCK 細胞）又は他の全ての評価対象のトランスポーターを発現しているヒト胎児腎細胞 293（HEK293）（及び対照 HEK293 細胞）を用いて調べた。

本薬及び陽性対照阻害剤が放射能標識プローブ基質の輸送に及ぼす影響を評価した。各トランスポーターアッセイのプローブ基質、陽性対照及びアッセイの詳細を表 28 に示す。全てのプローブ基質は、各トランスポーターの K_m より十分に低い濃度で使用し、IC_{50} の測定が適切であることを確認した。OATP1B1 及び OATP1B3 に対する阻害能を、細胞と被験化合物を 30 分間プレインキュベーションした場合としなかった場合の両方で測定し、プローブ基質の添加により反応を開始させた。放射性プローブ基質の濃度は LSC で測定した。プローブ基質輸送の阻害を測定し、必要に応じて IC_{50} 値を算出した。

表 28:　セベトラルスタットによる SLC トランスポーターの阻害評価のためのアッセイの詳細

Transporter	Probe Substrate	Control Inhibitor	Incubation Time (min)
OAT1	^{3}H-p-Aminohippuric acid (2.26 µmol/L)	Probenecid (0.1 –100 µmol/L)	5
OAT3	^{3}H-Estrone-3-Sulfate (0.519 µmol/L)	Probenecid (0.1 –100 µmol/L)	5
OCT2	^{14}C-Metformin (50 µmol/L)	Verapamil (1 –500 µmol/L)	10
MATE1	^{14}C-Metformin (10 µmol/L)	Cimetidine (0.03 –30 µmol/L)	2
MATE2-K	^{14}C-Metformin (50 µmol/L)	Pyrimethamine (0.001 – 3 µmol/L)	2
OATP1B1	^{3}H-Estradiol-β-Glucuronide (0.524 µmol/L)	Cyclosporin A (0.01 – 30 µmol/L)	5*
OATP1B3	^{3}H-Cholecystokinin-8 (0.0023 µmol/L)	Cyclosporin A (0.01 – 50 µmol/L)	5*

* with and without 30 minutes pre-incubation

本薬は 100 µmol/L までの濃度で OAT1 の用量依存的な阻害を引き起こさなかった。一方、本薬は検討した濃度範囲で他の全てのトランスポーターに対して阻害作用を示し、OAT3、OCT2、MATE1、MATE2-K、OATP1B1 及び OATP1B3 に対する IC_{50} 値はそれぞれ 19.2、5.28、8.05、7.76、86.3 及び 51.3 µmol/L であった（モジュール 2.6.5.15.B）。OATP1B1 又は OATP1B3 に対する時間依存的な阻害は認められなかった。

本薬（最大 100 µmol/L）が ABC トランスポーターである P-gp、BCRP 及び BSEP を阻害する可能性について、BCRP 又は MDR1 を単独で発現させた MDCK 細胞及び BSEP を単独で発現させた HEK293 小胞を用いて調べた（KVS/REP/22 試験）。対照とした MDCK 及び HEK293 細胞を並行して試験した。この試験では、新たに得られた臨床血漿中濃度のデータ及び用量に基づき、CYP603_R7 試験での濃度よりも高濃度の本薬を用いて調べた。

本薬及び陽性対照阻害剤がプローブ基質の輸送に及ぼす影響について評価した。各トランスポーターアッセイのプローブ基質、陽性対照及びアッセイの詳細を表 29 に示す。全てのプローブ基質は、各トランスポーターの K_m より十分に低い濃度で使用し、IC_{50} の測定が適切であることを確認した。[^{3}H]-タウロコール酸の濃度は LSC、プラゾシンとビンブラスチンの濃度は LC-MS/MS で測定した。プローブ基質輸送の阻害を測定し、必要に応じて IC_{50} 値を算出した。

表 29:　セベトラルスタットによる ABC トランスポーターの阻害評価に関するアッセイの詳細

Transporter	Probe Substrate	Control Inhibitors	Incubation Time (min)
BCRP	Prazosin (10 µmol/L)	Cyclosporin A (10 µmol/L) Elacridar (5 µmol/L) Ko143 (1 µmol/L)	60
P-gp	Vinblastine (10 µmol/L)	Cyclosporin A (10 µmol/L) Valspodar (10 µmol/L) Verapamil (100 µmol/L)	60
BSEP	^{3}H-Taurocholate (1 µmol/L)	Cyclosporin A (0.01 – 100 µmol/L)	30

本薬は 100 µmol/L までの濃度で P-gp の用量依存的な阻害を引き起こさなかった。本薬は BCRP に対し弱い阻害を引き起こし、その IC_{50} 値は 82.3 µmol/L であった。また、BSEP に対する阻害についての IC_{50} 値は 76.9 µmol/L であった（モジュール 2.6.5.15.C）。

トランスポーターの基質としてのセベトラルスタット

本薬が SLC トランスポーターである OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質であるかどうかを評価する試験を実施した（KVS/REP/21 試験）。各トランスポーターを安定的に発現している MDCK 細胞若しくは HEK293 細胞、又は対照細胞への本薬の取り込みを、各トランスポーターの特異的阻害剤の存在下又は非存在下で実施した。本薬の濃度は LC-MS/MS で測定した。本薬の濃度は 0.2 及び 20 µmol/L とし、これらの濃度は、分析法の開発で実施した作業に基づいて選択されたものである（KVS/REP/19 試験）。これらの濃度は、臨床的に重要な総血漿中濃度及び遊離血漿中濃度（すなわち、KVD900-101 試験のパート A の被験者に絶食下で本薬 300 mg を単回投与したときの C_{max} の算術平均値：4,380 ng/mL、総血漿中濃度：8.91 µmol/L、非結合血漿中濃度：2.07 µmol/L）の 100 倍の範囲をカバーしており、適切な濃度であると考えられた。なお、陽性対照基質を特異的阻害剤の存在下及び非存在下でインキュベートし、細胞が能動取り込みを示すことができることが確認された。

検討した濃度では、本薬は OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2 又は MATE1 の基質ではなかった。いずれも、トランスポーター発現細胞への取り込みと対照細胞へ取り込みの比率が 2 未満であったためである。MATE2-K を発現している細胞において、本薬の取り込み比率は 0.2 µmol/L で 2.04 超、20 µmol/L で 2.01 であり、これは本薬が MATE2-K の基質であることを示す閾値をわずかに超えていた（モジュール 2.6.5.15.D）。

本薬が ABC トランスポーターP-gp 及び BCRP の基質であるかどうかをさらに評価する試験を実施した（KVS/REP/23 試験）。各トランスポーターを安定的に発現している MDCK 細胞又は対照細胞における本薬の透過性（頂端側から側底側、側底側から頂端側）を、各トランスポーターの特異的阻害剤の存在下又は非存在下で測定し、排出比を算出した。本薬の濃度は LC-MS/MS で測定した。基質評価を行うための適切な本薬濃度及びインキュベーション時間を選択するために、初期実験（100 倍の本薬濃度範囲を使用）を行った。なお、陽性対照基質を特異的阻害剤の存在下及び非存在下でインキュベートし、細胞が能動的に排出できることを確認した。

使用した条件下では、BCRP 又は P-gp のいずれかを単独で発現する系で本薬の排出比は 2 を超え、輸送がこれらのトランスポーターに対する既知の阻害剤によって 50%を超えて阻害されたことか

ら、本薬は、*in vitro* で BCRP 及び P-gp の両方の基質であることが示された（モジュール 2.6.5.15.E）。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

その他の試験は実施されていない。

2.6.4.9 考察及び結論

本薬の ADME プロファイルは、動物（毒性試験に用いたラット及び NHP を含む）及びヒトにおいて *in vitro* 及び *in vivo* で明らかにされている。本薬の性質に関する臨床的側面についての詳細な情報及び考察は、モジュール 2.7.2 及びモジュール 2.5 に記載した。

GLP 適用試験から得られたマウス、ラット、ウサギ、イヌ及び NHP の血漿中の本薬を定量するための生体試料中薬物濃度分析法の妥当性は適切な濃度範囲でバリデートされている。また、毒性試験から得られた血漿検体の分析は、充分な長期凍結安定性確の確認によりサポートされている。

本薬は中程度の *in vitro* 透過性を有しており、概して動物及びヒトにおける経口投与後に十分に吸収されるが、生物薬剤学分類システム（BCS）クラス IV 化合物として分類される。この分類は、ヒトでの経口吸収率が 85%超であることを明確に示していないことに加え、溶解度が低い（モジュール 3.2.P.2）ことに基づいている。

マウス、ラット、イヌ及び NHP を用いた PK 試験では、本薬は概して速やかに吸収され、経口バイオアベイラビリティは中程度（23～67%）であることが示された。げっ歯類及びイヌではクリアランスは中程度であり、分布容積は低かった（0.8 L/kg 未満）が、NHP ではこれらのパラメータはむしろ高かった（クリアランス：肝血流量の約 75%、分布容積：1.5L/kg）。なお、これら動物における血漿中半減期は短かった（1 時間以下）。

本薬の単回及び反復投与時のトキシコキネティクスについては、経口投与後のラット、イヌ及び NHP における反復投与毒性試験でその特徴を明らかにした。当初、非げっ歯類の毒性試験種としてイヌを用いたが、忍容性の欠如により NHP に変更した。また、GLP 適用のトキシコキネティクスデータは、ラット及び／又はウサギを用いた胚・胎児発生試験及び受胎能に関する試験、NHP を用いた心血管系安全性試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験において得られている。全ての試験で血漿中曝露が確認され、曝露量は一貫した用量比例性は示さなかったものの、用量に応じて増加した。NHP では、血漿中曝露量に明らかに一貫した性差は認められなかった。ラットでは、雌は概して、単回投与後に雄よりも高い曝露量を示したが、反復投与においては雄でより高い蓄積性が認められ、C_{max} 及び AUC の性差は概して 2 倍未満であった。そのため、反復投与による曝露量の安全域の計算には、雌雄を合算した曝露量を用いた（モジュール 2.4 参照）。

[^{14}C]セベトラルスタット（化合物の中央にあるピラゾール環を放射能標識）を用いた ADME 試験を、ラット及び NHP（毒性試験におけるげっ歯類及び非げっ歯類の動物種）、並びにヒトで実施した。排泄物中の放射能の定量的回収率が高く、ラットでは呼気中に有意な放射能が検出されなかったことから、放射能標識の位置が適切かつ安定であることが確認された。

ラットにおいては、0.5% HPMC で調製した[^{14}C]セベトラルスタット 30 mg/kg（ラット 13 週間毒性試験［8401650 試験］で使用した低用量の調製薬液）を経口投与した後、放射能の吸収は広範かつ迅速であった。総放射能の血漿中曝露量は雄よりも雌ラットの方が高く、これは毒性試験で

単回投与した際の本薬の曝露量が概して雌で高かったことと一致していた。胆管カニューレを挿入したラットの糞便中の放射能の割合からは、投与量の約 70%が経口吸収されると推定された。定量的全身オートラジオグラフィーによる検討の結果、経口投与後に組織（脳／CNS 以外）への放射能の急速かつ広範な分布し、その後速やかに低下した。最高濃度は概して排泄に関与する臓器で認められた。雄有色ラットの有色皮膚や眼などのメラニン含有組織に存在する放射能のレベルは、アルビノ動物よりも高く、メラニンに対する一定の親和性が示唆されたが、その量は低く、可逆的であった。交配済の雌アルビノラットでは、胎児全体の濃度は投与後 1 時間にのみ測定が可能であった。母動物分布は、雄アルビノラットでみられたものと類似しており、肝臓及び腎臓で最も高濃度であった。妊娠雌ラットへの[^{14}C]セベトラルスタット投与後の胎児中における放射能レベルは低いことが、胎盤移行試験で確認された。

[^{14}C]セベトラルスタットをラットに経口投与したところ、放射能は速やかに完全に回収され、糞便中に投与量の 91%、尿中に 7%が回収された（総平均回収率は 99%）。排泄パターンに性差はみられなかった。胆管カニューレを施した雄ラットに[^{14}C]セベトラルスタットを経口投与すると、平均 55%の放射能が胆汁中に回収され、尿中に 10%、糞便中に 31%が回収された。授乳中の雌ラットに[^{14}C]セベトラルスタットを投与した際には、薬物関連成分は血漿中に存在する濃度よりもわずかに高い濃度で乳汁中に分泌されたが、乳汁中の放射性薬物関連成分の濃度は投与後 24 時間には背景値に近くなった。

NHP においても同様の迅速かつ完全な放射能の回収がみられ、0.5% HPMC で調製した[^{14}C]セベトラルスタット 10 mg/kg（NHP における 13 週間連日投与毒性試験［8382423 試験］で使用した低用量の調製薬液）の経口投与後には、10%が尿中及び 82%が糞便中に回収された（総平均回収率 95%）。排泄物中に存在する本薬未変化体の割合からは、投与量の 80%以上が経口吸収されると推定された。総放射能の血漿中曝露量は雌雄で同様であったことから、NHP で本薬曝露量に性差がないことが確認された。

本薬の血漿タンパク結合率は、いずれの動物種においても中程度～高度であった（非結合型分率 0.039～0.376、ヒトでは 0.232）。これは、血漿中濃度 5 µmol/L（約 2,500 ng/mL）で実施されたが、この濃度はヒトへの本薬 300 mg 投与後に到達した際の濃度であった（300 mg 錠を投与した場合の平均 C_{max} は 3,075 ng/mL、KVD900-110_A110-1-Adhoc 試験、n=18 例）。本薬はヒト血漿中の遊離画分が高い（非結合型分率が約 23%）ことから、本薬が別の薬物により置換されることにより、血漿中の遊離画分の有意な増加が生じる可能性は低いことが示唆される。

全ての動物種において赤血球への本薬の分配が限定的であることが *in vitro* 試験で確認され、ラット、NHP 及びヒトにおいて[^{14}C]セベトラルスタット投与後の総放射能の血中濃度は、概して血漿中濃度より低かった。

インキュベーション条件を最適化した *in vitro* 試験において、本薬は主に CYP3A4 により代謝された。

本薬の排泄速度及び排泄経路の最終的な評価、並びに血漿中の主な循環成分の定量は、ヒトへの[^{14}C]セベトラルスタット 600 mg 経口投与により実施した（KVD900-103 試験）。ヒト被験者では放射性標識物の速やかで完全な回収が認められ、平均して糞便中に 63%、尿中に 32%が回収され、総平均回収率は 95%超であった。ヒトでは、ラット及び NHP の毒性試験における低用量の場合よりもより高い割合の薬物関連成分が尿から排泄された。本薬は血漿中の主要な薬物関連成分であり、AUC_{0-24} の平均 64.1%を占めた。血漿中には放射能の長時間にわたる終末相が認められ、本薬よりも半減期の長い代謝物が存在する可能性が示されたが、その絶対濃度は低かった。さらに、

投与後 24 時間の被験者間血漿プールから、本薬が唯一の定量可能なピークであり、放射性物質の約 80%を占めることが示された。このことは、後の時点での循環放射能が、それぞれ比較的低濃度の複数の成分を反映していることを示唆している可能性がある。全被験者の AUC_{0-24} において、薬物関連成分の 10%を超える平均値を示した代謝物はなかった。最も多く認められた血漿中代謝物は、鎖切断による生成物 M19 及び M10（それぞれ AUC_{0-24} の平均値：7.10%及び 4.00%）並びにピリジル基からの脱メチル生成物 M3（AUC_{0-24} の平均値：4.01%）であった。M19 の血漿カリクレイン活性について試験したが、実質的な活性はみられなかった（IC_{50} が 100 µmol/L 超、182_KV124020_PH_2021 試験）。

ヒトでは種々の代謝物への広範な生体内変換が行われたにもかかわらず、血漿中では本薬が主要な薬物関連成分であり（AUC_{0-24} の 64.1%）、尿では投与放射能の平均 9%、糞便中では平均 13%が検出され、これらの経路で排泄された放射能の約 28%及び 21%に相当した。投与量の 13%を超える量を尿中に本薬として排泄した被験者はいなかった。排泄物において投与量の 5%超を占める代謝物の主な生体内変換経路は、分子中の 2 つの異なる点での鎖切断（M19 と M10 で、M10 は尿中に二重酸化／二重水素化生成物［M41］と共溶出）、二重酸化／二水素化生成物（M34）及びピリジル基からの脱メチル生成物（M3）であった。ラットでは、[^{14}C]セベトラルスタットの投与後に親化合物の広範な生体内変換が認められた。本薬は血漿中の主要な循環成分であった。しかしながら、ラットにおける未変化体の排泄量は、他の代謝物との共溶出のために評価が困難で、尿中では投与量の 4%未満、糞便中では 42%未満、胆汁中では 16%未満であった。ラットで同定された代謝物には、本薬の *O*-脱メチル化（M3、M6）、水酸化及び分解生成物（M10、M19）が含まれた。NHP でも、[^{14}C]セベトラルスタットの投与後に同様の広範な生体内変換が認められた。本薬は、尿中では投与量の 0.5%未満、糞便中では 20%以下であった。同定された代謝物には、本薬の *O*-脱メチル化（M3、M6）、水酸化、二重酸化／二重水素化、及び分解生成物（M10、M19）が含まれた。

ヒト血漿中の主な代謝物である M19（番号 KV124020 も同じ）が、[^{14}C]セベトラルスタット 600 mg の経口投与後、個々の被験者において占める割合は、AUC_{0-24} の 5.4～10.6%であり（KVD900-103 試験）、1 例の被験者のみにおいて AUC_{0-24} の閾値である 10%を超えていた。M19 の平均 AUC_{0-24} は 2270 h•ng eq/mL であった（1 mL=1 g 血漿と仮定、8419854 試験）。本薬（分子量 491.5）と M19（分子量 352.4）の分子量比を考慮すると、M19 の AUC_{0-24} は 1,630 h•ng/mL となる。M19 は、ラットの 26 週間投与毒性試験から得られた反復投与後の血漿検体において、バリデートされたアッセイ法を用いてラット血漿中で定量された。NOAEL（300 mg/kg/日）では、M19 の AUC_{0-24} 値は雌ラットで 1,640 h•ng/mL、雄ラットで 8,470 h•ng/mL であった。このことは、M19 が、ヒト被験者への 600 mg の単回投与と比較して、ラット 26 週間投与毒性試験での NOAEL 用量で同等かそれ以上の曝露量であったことを示している。また、NHP の 13 週間間欠投与試験での血漿検体においても M19 を定量した。雌雄 NHP における 300 mg/kg での M19 曝露量（それぞれ 1,820 及び 1,220 h•ng/mL）は、600 mg の単回投与後にヒトでみられた曝露量（1,630 h•ng/mL）と同等であった。

M19 に薬理活性がないこと、本薬で予定されている臨床投与法が間欠的であること、ヒト被験者における M19 の AUC_{0-24} の平均値が 10%未満であること、及びラットの NOAEL 用量で認められた M19 の曝露量がヒトと同等以上であったことを考慮し、M19 のさらなる特性評価は実施していない。ヒトの血漿中に、特異的なものや不均衡なものに分類される代謝物は存在しない。

代謝産物 M10 と M19 は分解生成物であり、それらの生成により炭素-14 放射能標識を含まないより小さな本薬の断片が生成されたと推定される。したがって、これらの断片は、ラット、NHP 及びヒトの血漿及び排泄物の放射能プロファイルでは明確に検出できなかった可能性がある。M10

及び M19 は、ピボタルな長期毒性試験を含め、ラット及び NHP からの得られた血漿及び排泄物中に認められたことから、これら動物においてより小さな断片（及び／又はその後のこれらの生体内変換産物）への曝露が推測され得る。

これらの評価に基づいて、本薬の代謝は、ヒトと両毒性試験動物種（ラット及び NHP）で質的に類似していたことから、臨床投与のために本薬の安全性の評価に使用した両動物種が妥当であることが確認された（表 30）。

表 30:　セベトラルスタットの主なヒト代謝物

	Presence in Rat Plasma	Presence in NHP Plasma
Main Human Plasma Metabolites (>2% of total radioactivity AUC_{0-24})		
M19	✓	✓
M10	✓	✓
M3	✓	✓
Main Human Excreta Metabolites (>5% of administered radioactivity in urine and feces combined)	Presence in rat excreta or bile	Presence in NHP excreta
M34	x	✓*
M3	✓	✓
M10	✓	✓
M19	✓	✓

* M34 was not assigned an unequivocal structure – it, and/or positional isomers were present in NHP excreta as M23, M24, M25 and M26

本薬のクリアランスに主に関与する酵素の阻害又は誘導よる薬物相互作用の結果として、本薬の PK プロファイルが影響を受ける可能性を評価した。ヒトでは低濃度代謝物に広範に代謝されるため、主要代謝経路と言える経路がないことから、本薬の生体内変換を担う主な CYP アイソフォームである CYP3A4 について、本薬の *in vitro* 代謝に基づいて評価を行った。初期スクリーニング試験において、*in vitro* で本薬は多くの CYP アイソフォーム（主に CYP3A4）により代謝されることが示された。本薬濃度 10 µmol/L（本薬代謝の K_m 及び *in vivo* 臨床濃度に近い）に条件を最適化した追加試験では、*in vitro* での本薬の代謝率は低かったものの、CYP3A4 が主な代謝 CYP アイソフォームであることが確認され、CYP2C8 もわずかに寄与していた。本薬の PK プロファイルに対する CYP3A4 の阻害剤及び誘導剤の影響を評価するため、2 件の臨床試験（KVD900-106 試験及び KVD900-112 試験、モジュール 2.7.2）を実施した。

本薬の吸収、分布及び排泄に関与するトランスポーターの阻害又は誘導による薬物相互作用の結果として、本薬の PK プロファイルが影響を受ける可能性を *in vitro* で評価した。本薬（0.2～20 µmol/L）は、SLC 取り込みトランスポーターOATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2 及び MATE1 を単独で発現した細胞には選択的に蓄積しなかった。試験した濃度は、300 mg 錠剤としてヒトに投与した場合の総血漿中 C_{max} 値（6.26 µmol/L［3,075 ng/mL、KVD900-110_A110-1-adhoc 試験、n=18 例］）及び遊離非結合体の血漿中 C_{max} 値（1.45 µmol/L［非結合型分率 0.232 で補正］）の 100 倍の範囲をカバーしている。MATE2-K 細胞では本薬のわずかな蓄積（取り込み比は 0.2 µmol/L で 2.04 超、20 µmol/L で 2.01）が認められた。しかしながら、この値は閾値であ

る 2（FDA 2020）をわずかにしか超えておらず、腎排泄が本薬の主要なクリアランス経路ではないこと（平均して投与量の 9%未満、KVD900-103 試験）を考慮すると、このことは臨床的に重要ではないと考えられる。本薬は検討した他の SLC トランスポーターの基質でもなかった。SLC トランスポーターの基質として本薬を評価するさらなる試験は行わなかった。

本薬のヒト BCRP 及び P-gp 排出トランスポーターの基質としての可能性を、ヒト BCRP 又は MDR1 遺伝子を発現させた MDCK 細胞株を用いて評価した。本薬の排出比は、BCRP 又は P-gp のいずれかを単独で発現する系では 2 を超え、輸送はこれらのトランスポーターに対する既知の阻害剤によって 50%超阻害されたことから、本薬は BCRP 及び P-gp の基質であることが示された。本薬の PK プロファイルに対する P-gp 及び BCRP の阻害剤の影響を評価するため、臨床試験（KVD900-106 試験、モジュール 2.7.2）を実施した。

本薬が、CYP アイソフォームの阻害による薬物相互作用を引き起こす可能性について、本薬濃度を最高 200 µmol/L（ヒトに 300 mg 錠剤を投与後の平均非結合 C_{max} の約 138 倍）とし、*in vitro* で調べた。これには、時間依存的な CYP 阻害を測定するのに適切なプレインキュベーションを含めた。ミクロソームへの結合が低いこと（本薬濃度 5 µmol/L で 14%）は既に確認されていた。本薬は、プレインキュベーションの有無にかかわらず、200 µmol/L までの濃度で CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C19 及び CYP2D6 に対する阻害は 50%未満であった。本薬による CYP2C9 及び CYP3A4 に対する可逆的阻害が認められ、IC_{50} 値は 30.1 µmol/L（CYP2C9）、120 µmol/L（CYP3A4、テストステロン基質）及び 121 µmol/L（CYP3A4、ミダゾラム基質）であった。CYP2C9 又は CYP3A4 に対する時間依存的な阻害は認められなかった。

本薬による 4 種の UGT アイソフォームの *in vitro* での弱い阻害のみが認められ、本薬は他の 2 種のアイソフォームを阻害しなかった。

本薬を *in vitro* でヒト肝細胞とインキュベートし、CYP アイソフォーム誘導の可能性を評価した。検討した濃度範囲は細胞毒性により制限されたが、最高濃度 100 µmol/L（ヒトに 300 mg 錠剤を投与後の平均非結合 C_{max} の約 69 倍）では忍容性がみられた。本薬は *in vitro* ヒト肝細胞において CYP1A2 の誘導を引き起こさなかったが、本薬 10 µmol/L 以上で CYP3A4 を誘導した。少なくとも 1 例のドナーから得られた細胞において、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 に対する誘導が 100 µmol/L で認められた。CYP3A4 に対する誘導作用（陽性対照の 5～70%）が、非結合型の血漿中 C_{max} の 3～4 倍の濃度（10 µmol/L）で認められた。

本薬が SLC 取り込みトランスポーターの阻害による薬物相互作用の原因となる可能性について、本薬濃度を最高 100 µmol/L（ヒトに 300 mg 錠剤を投与後の平均非結合 C_{max} の約 69 倍）として *in vitro* で調べ、OAPT1B1 及び OATP1B3 の時間依存的阻害についても評価した。本薬は 100 µmol/L までの濃度では OAT1 の阻害を引き起こさなかった。他のトランスポーターの阻害は、IC_{50} 値が 19.2 µmol/L（OAT3）、5.28 µmol/L（OCT2）、8.05 µmol/L（MATE1）、7.76 µmol/L（MATE2-K）、86.3µmol/L（OATP1B1）及び 51.3 µmol/L（OATP1B3）で認められた。

本薬は 100 µmol/L までの濃度で P-gp を阻害せず、BCRP に対して弱い阻害作用を示した（IC_{50}=82.3 µmol/L）。

本薬が薬物相互作用の原因となる可能性についての *in vitro* 評価に関する詳細な考察は、モジュール 2.5 に記載した。要約すると、本薬が間欠的な（オンデマンド）治療を意図しており、早期の T_{max} の後に血漿濃度が急速に低下することを考慮すると、CYP 及びトランスポーターを介した薬物相互作用の引き金としての本薬の潜在的な影響は低いと考えられる。

要約すると、動物及びヒトでは、本薬は速やかに経口吸収される。ヒトでのタンパク結合は中程度である。本薬は、大部分が第 1 相の生体内変換産物に広範囲に代謝される。ヒトにおける代謝は主に CYP3A4 によって行われ、ヒトにおける代謝プロファイルは毒性試験に用いた動物種における代謝プロファイルと一致している。薬物関連成分は、主に糞便を介して、体内から迅速かつ定量的に排泄される。

2.6.5 薬物動態試験の概要表

KalVista Pharmaceuticals

目次

2.6.5 薬物動態試験の概要表 3
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 3
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 7
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 9
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 19
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 19
2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合 22
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 23
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 24
2.6.5.9 薬物動態試験：*In Vivo* 代謝 25
2.6.5.10 薬物動態試験：*In Vitro* 代謝 32
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 39
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導・阻害 40
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 44
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 47
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 48
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 51

2.6.5 薬物動態試験の概要表

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 eCTD (Module)
Absorption					
In vitro permeability	Human, Caco-2 cells	*In vitro*	KalVista Pharmaceuticals, UK	051_KV123900_PK_2016	4.2.2.2
In vivo absorption and bioavailability	Mouse, C57BL6	Intravenous, oral gavage	KalVista Pharmaceuticals, UK ([redacted])	068_KV123900_PK_2017	4.2.2.2
In vivo absorption and bioavailability	Rat, Sprague Dawley	Intravenous, oral gavage	KalVista Pharmaceuticals, UK ([redacted])	067_KV123900_PK_2017	4.2.2.2
In vivo absorption, distribution, metabolism and excretion	Rat, Han Wistar and Lister Hooded	Oral gavage	[redacted]	181649	4.2.2.2
In vivo absorption	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	KalVista Pharmaceuticals, UK ([redacted])	108_KV123900_PK_2018	4.2.2.2
In vivo absorption and bioavailability	Dog, Beagle	Intravenous, oral gavage	KalVista Pharmaceuticals, UK ([redacted])	069_KV123900_PK_2017	4.2.2.2
In vivo absorption and bioavailability	NHP, cynomolgus monkey	Intravenous, oral gavage, oral capsule	KalVista Pharmaceuticals, UK ([redacted])	070_KV123900_PK_2017 (In-life 8354846)	4.2.2.2
In vivo absorption	NHP, cynomolgus monkey	Oral capsule, oral tablet	KalVista Pharmaceuticals, UK ([redacted])	086_KV123900_PK_2018 (In-life 8354846)	4.2.2.2
In vivo absorption	NHP, cynomolgus monkey	Oral capsule	KalVista Pharmaceuticals, UK ([redacted])	VNG6181_ZNA73779	4.2.2.2

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD (Module)
In vivo toxicological formulation screen	NHP, cynomolgus monkey	Oral gavage	KalVista Pharmaceuticals, UK ([redacted])	112_KV123900_PK_2018 (In-life VN11SG)	4.2.2.2
In vivo absorption, metabolism and excretion	NHP, cynomolgus monkey	Oral gavage	[redacted]	182658	4.2.2.2
Distribution					
In vitro plasma protein binding	Plasma from mouse, C57; rat, Sprague Dawley; rabbit, New Zealand White; dog, Beagle; NHP, cynomolgus monkey; human	*In vitro*	KalVista Pharmaceuticals, UK	049_KV123900_PK_2016	4.2.2.3
In vitro red blood cell distribution	Blood from mouse, CD-1; rat, Han Wistar; dog, Beagle; pig, Göttingen mini-pig; NHP, cynomolgus monkey; human	*In vitro*	[redacted]	YDS060	4.2.2.3
In vitro melanin binding	*Sepia officinalis*	*In vitro*	KalVista Pharmaceuticals, UK	053_KV123900_PK_2016	4.2.2.3
Placental transfer/milk secretion	Rat, Han Wistar	Oral gavage	[redacted]	187593	4.2.2.3
Metabolism					
In vitro microsomal clearance	Liver microsomes mouse, CD-1; rat, Sprague Dawley; dog, Beagle; NHP, cynomolgus monkey; and human	*In vitro*	KalVista Pharmaceuticals, UK	048_KV123900_PK_2016	4.2.2.4
In vitro microsome binding	Rat, Sprague Dawley, liver microsomes	*In vitro*	KalVista Pharmaceuticals, UK	050_KV123900_PK_2016	4.2.2.4
In vitro CYP metabolism – microsomes	Human liver microsomes	*In vitro*	[redacted]	YDS/058	4.2.2.4

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD (Module)
In vitro hepatocyte binding and clearance	Cryopreserved hepatocytes mouse, C57BL6; rat, Sprague Dawley, Han Wistar; rabbit, New Zealand White; dog, Beagle; NHP, cynomolgus monkey; human	*In vitro*	[redacted]	2015_09_15_Kalvista_WO	4.2.2.4
In vitro CYP enzymology	Human liver microsomes, human recombinant expressed Bactosomes™	*In vitro*	[redacted]	181764	4.2.2.4
In vitro hepatocyte metabolite profiling	Cryopreserved hepatocytes mouse, CD-1; rat, Han Wistar; rabbit, New Zealand White; dog, Beagle; pig, Göttingen mini-pig; NHP, cynomolgus monkey; human	*In vitro*	[redacted]	ADM-16-1410	4.2.2.4
In vitro hepatocyte metabolite profiling	Cryopreserved hepatocytes mouse, CD-1; rat, Han Wistar; rabbit, New Zealand White; dog, Beagle; pig, Göttingen mini-pig; NHP, cynomolgus monkey; human	*In vitro*	[redacted]	ADM-17-1731	4.2.2.4
In vivo plasma metabolite screening	Rat, Han Wistar; NHP, cynomolgus monkey; human	Oral gavage (rat; NHP), oral tablet (human)	[redacted]	YDS/082	4.2.2.4
In vivo analysis of KV124020 (M19) in rat plasma	Rat, Han Wistar	Oral gavage	[redacted]	8463718 and 8457943	4.2.2.4
In vivo analysis of KV124020 (M19) in NHP plasma	NHP, cynomolgus monkey	Oral gavage	[redacted]	8463724 and 8457942	4.2.2.4

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in eCTD (Module)
In vivo absorption, distribution, metabolism and excretion	Human	Oral capsule	[redacted]	8419854	5.3.3.1
Excretion					
In vivo, excretion	Rat, Han Wistar	Intravenous	[redacted]	8358340	4.2.2.5
Pharmacokinetic drug interactions					
In vitro CYP inhibition, UGT inhibition, P-gp and BCRP substrate/inhibition assessment (including permeability)	Human liver microsomes, human recombinant expressed Supersomes™, human Caco-2 cells and MDR1-MDCK cells	*In vitro*	[redacted]	CYP0603 R7	4.2.2.6
In vitro CYP inhibition	Human liver microsomes	*In vitro*	[redacted]	182574	4.2.2.6
In vitro CYP induction	Human cryopreserved hepatocytes	*In vitro*	[redacted]	181759	4.2.2.6
In vitro transporter substrate method development	HEK293 cells	*In vitro*	[redacted]	KVS/REP/19	4.2.2.6
In vitro SLC transporter inhibition	MDCK cells, HEK293 cells	*In vitro*	[redacted]	KVS/REP/20	4.2.2.6
In vitro ABC transporter inhibition	MDCK cells, HEK293 vesicles	*In vitro*	[redacted]	KVS/REP/22	4.2.2.6
In vitro SLC transporter substrate assessment	MDCK cells, HEK293 cells	*In vitro*	[redacted]	KVS/REP/21	4.2.2.6
In vitro ABC transporter substrate assessment	MDCK cells	*In vitro*	[redacted]	KVS/REP/23	4.2.2.6

NHP: non-human primate

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

Species/Sample Matrix	Analytes	Calibration Range	Method utilized	Facility	GLP Compliance (Y/N)	Study Number	Location in eCTD (Module)
Dose formulation	Sebetralstat	0.5-3 µg/mL 1.67-10 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	8350958	4.2.2.1
Dose formulation	Sebetralstat	1.569-10 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	JAM0008	4.2.2.1
Dose formulation	Sebetralstat	1.7-10 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	JAM0016	4.2.2.1
Dose formulation	Sebetralstat	1.7-10 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	JAM0017	4.2.2.1
Dose formulation	Sebetralstat	10-100 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	8405179	4.2.2.1
Dose formulation	Sebetralstat	0.048-0.32 mg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	20196163	4.2.2.1
Dose formulation	Sebetralstat	48-480 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	20287544	4.2.2.1
Dose formulation	Sebetralstat	1.7-10 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	JAM0044	4.2.2.1
Dose formulation	Sebetralstat	1.7-10 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	JAM0045	4.2.2.1
Dose formulation	Sebetralstat	0.5-8 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	20285216	4.2.2.1
Dose formulation	PPP7584	7.190-23.07 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	JAM0093	4.2.2.1
Dose formulation	PPP758 desfluoro	7.36-23.49 µg/mL	LC-UV	[redacted]	Y	JAM0097	4.2.2.1
Mouse plasma	Sebetralstat	10-10,000 ng/mL	LC-MS/MS	[redacted]	Y	01273002	4.2.2.1
Rat plasma	Sebetralstat	10-10,000 ng/mL	LC-MS/MS	[redacted]	N	8346068	4.2.2.1
Rat plasma	Sebetralstat	10-10,000 ng/mL	LC-MS/MS	[redacted]	N	8348811	4.2.2.1
Rat plasma	Sebetralstat	10-5,000 ng/mL	LC-MS/MS	[redacted]	Y	JAM0006	4.2.2.1
Rabbit plasma	Sebetralstat	10-5,000 ng/mL	LC-MS/MS	[redacted]	Y	JAM0007	4.2.2.1
Dog plasma	Sebetralstat	10-10,000 ng/mL	LC-MS/MS	[redacted]	N	8346069	4.2.2.1
Dog plasma	Sebetralstat	10-10,000 ng/mL	LC-MS/MS	[redacted]	N	8348810	4.2.2.1

Species/Sample Matrix	Analytes	Calibration Range	Method utilized	Facility	GLP Compliance (Y/N)	Study Number	Location in eCTD (Module)
NHP plasma	Sebetralstat	5.09-5,090 ng/mL	LC-MS/MS	[redacted]	N	8362393	4.2.2.1
NHP plasma	Sebetralstat	5-5,000 ng/mL	LC-MS/MS	[redacted]	N	8366594	4.2.2.1
NHP plasma	Sebetralstat	5-5,000 ng/mL	LC-MS/MS	[redacted]	Y	01273006	4.2.2.1

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3.A				**Test article**	Sebetralstat
				Study number	068_KV123900_PK_2017
				Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	Mouse				
Sex (M/F)/Number of animals	M/10 (for each dose)				
Feeding condition	Non-fasted				
Vehicle/Formulation	10% DMSO/10% Cremophor EL/ 80% sterile water				
Sample	Plasma				
Analyte	Sebetralstat				
Assay	LC-MS/MS				
Method of administration	Intravenous	Oral			
Dose (mg/kg)	1	10	25		
PK parameters					
T_{max} (h)	-	0.25	0.083		
C_{max} (ng/mL)	-	1,673	6,589		
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	599	1,678	4,352		
$AUC_{0-\infty}$ (h•ng/mL)	601	1,694	4,400		
half-life (h)	0.33	-	-		
CL (mL/min/kg)	23.9	-	-		
V_{ss} (L/kg)	0.725	-	-		
Bioavailability	-	28.7	27.0		

2.6.5.3.B										
							Test article	Sebetralstat		
							Study number	067_KV123900_PK_2017		
							Location in eCTD	Module 4.2.2.2		
Species	Rat									
Feeding condition	Non-fasted									
Sample	Plasma									
Analyte	Sebetralstat									
Assay	LC-MS/MS									
Method of administration	Intravenous	Oral								
Sex (M/F)/Number of animals	M/3[a]	M/3[a]	M/2[b]	M/2[b]	M/2[b]	M/2[b]		M/3[c]	M/3[c]	M/3[c]
Dose (mg/kg)	1	10	10	10	10	10		30	100	300
Vehicle/Formulation	10% DMSO/10% Cremophor EL/80% sterile water	20% TPGS in water	10% DMSO/10% Cremophor EL/80% sterile water	20% TPGS in water	20% HP-β-CD in water	0.5% HPMC in water		20% TPGS in water	20% TPGS in water	20% TPGS in water
PK parameters										
T_{max} (h)	-	1.17	0.38	0.50	1.25	1.13		1.0	1.67	5.33
C_{max} (ng/mL)	-	1,942	2,803	2,560	1,000	1,542		4,472	21,531	61,829
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	1,604	7,354	12,719	9,732	3,676	4,896		14,505	100,179	619,819
$AUC_{0-\infty}$ (h•ng/mL)	1,615	7,386	12,725	9,749	3,869	4,910		14,552	100,377	620,309
half-life (h)	1.03	-	-	-	-	-		-	-	-
CL (mL/min/kg)	11.7	-	-	-	-	-		-	-	-
V_{ss} (L/kg)	0.505	-	-	-	-	-		-	-	-
Bioavailability	-	49.5	82.0	66.6	23.3	34.8		29.8	78.6	166.7

[a] Dosed in study KVP/63
[b] Dosed in study KVP/61
[c] Dosed in study KVP/67
Data shown as mean

2.6.5.3.C					**Test article**	[^{14}C]Sebetralstat
					Study number	181649
					Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	Rat					
Feeding condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5% HPMC					
Method of administration	Oral					
Analyte	Total radioactivity					
Assay	Liquid scintillation counting					
Dose (mg/kg)	30					
Sex (M/F)/Number of animals	M/6		F/6			
Sample	Plasma	Blood	Plasma	Blood		
PK parameters						
T_{max} (h)	1	1	0.5	0.5		
C_{max} (ng eq/mL)	14,700	8,690	23,600	14,300		
AUC_{0-t} (h•ng eq/mL)	33,300	22,800	106,000	73,400		

2.6.5.3.D			Test article	Sebetralstat
			Study number	108_KV123900_PK_2018
			Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	Rabbit			
Sex (M/F)/Number of animals	F/2 (for each formulation)			
Feeding condition	Non-fasted			
Sample	Plasma			
Analyte	Sebetralstat			
Assay	LC-MS/MS			
Method of administration	Oral			
Dose (mg/kg)	10			
Vehicle/Formulation	10% TPGS in water	20% TPGS in water	0.5% HPMC in water	20% HP-β-CD in water
PK parameters				
T_{max} (h)	1	1	1	2
C_{max} (ng/mL)	1,573	2,556	1,755	1,861
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	3,869	5,318	4,615	4,917
$AUC_{0-\infty}$ (h•ng/mL)	3,877	5,322	4,624	4,928

Data shown as mean

2.6.5.3.E		Test article	Sebetralstat
		Study number	069_KV123900_PK_2017
		Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	Dog		
Sex (M/F)/Number of animals	M/2 (for each formulation)		
Feeding condition	Fasted		
Sample	Plasma		
Analyte	Sebetralstat		
Assay	LC-MS/MS		
Dose (mg/kg)	1		
Method of administration	Intravenous	Oral	
Vehicle/Formulation	10% DMSO/90% sterile water	20% TPGS in water	
PK parameters			
T_{max} (h)	-	0.75	
C_{max} (ng/mL)	-	284	
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	2,093	662	
$AUC_{0-\infty}$ (h•ng/mL)	2,099	670	
half-life (h)	1.02	-	
CL (mL/min/kg)	8.7	-	
V_{ss} (L/kg)	0.652	-	
Bioavailability	-	33.9	

Data shown as mean

2.6.5.3.F					
				Test article	Sebetralstat
				Study number	070_KV123900_PK_2017
				Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	NHP				
Sex (M/F)/Number of animals	M/3 (for each dose)				
Feeding condition	Fasted				
Sample	Plasma				
Analyte	Sebetralstat				
Assay	LC-MS/MS				
Method of administration	Intravenous	Oral			
Vehicle/Formulation	10% DMSO/10% Cremophor EL/80% sterile water (solution)	10% DMSO/90% sterile water (solution)	10% DMSO/90% sterile water (suspension)	API Powder in capsule	API Powder in capsule
Dose (mg/kg)	1	1	10	10 mg/animal (2.4 mg/kg)	100 mg/animal (25 mg/kg)
PK parameters					
T_{max} (h)	-	0.5	0.5	1.0	1.0
C_{max} (ng/mL)	-	118	2,242	167	1,282
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	584	148	2,418	283	2,676
$AUC_{0-\infty}$ (h•ng/mL)	586	151	2,422	300	2,812
half-life (h)	0.98	-	-	-	-
CL (mL/min/kg)	32.7	-	-	-	-
V_{ss} (L/kg)	1.54	-	-	-	-
Bioavailability	-	22.6	48.4	22.2	21.7

API: active pharmaceutical ingredient
Data shown as mean

2.6.5.3.G								
					Test article	Sebetralstat		
					Study number	086_KV123900_PK_2018		
					Location in eCTD	Module 4.2.2.2		
Species	NHP							
Sex (M/F)/Number of animals	M/3 (for each formulation)							
Feeding condition	Fasted							
Method of administration	Oral							
Sample	Plasma							
Analyte	Sebetralstat							
Assay	LC-MS/MS							
Dose (mg/animal)	100							200
Vehicle/Formulation	Tablet T5 (Tween 80)	Capsule (TPGS solid dispersion)	Tablet T1 (API)	Tablet T2 (Tartaric acid)	Tablet T1 (API, enteric coated)	Tablet T5 (Tween 80, enteric coated)	Capsule (TPGS solid dispersion, enteric coated)	Tablet T1 (API) + Tablet T1 (API, enteric coated)
Group ID	E	F	G	H	J	K	L	M
PK parameters								
T_{max} (h)	1 ± 0	1 ± 0	1.167 ± 0.53	1.667 ± 0.41	8 ± 0	6 ± 0	4.667 ± 2.16	1.667 ± 0.41
C_{max} (ng/mL)	3,202 ± 1,183	3,528 ± 1,137	1,341 ± 679	2,354 ± 1,679	292 ± 57	89 ± 15	411 ± 27	1,580 ± 824
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	5,630 ± 2,037	5,522 ± 1,475	3,406 ± 1,109	4,089 ± 1,952	2,946 ± 619	1,028 ± 100	2,328 ± 597	4,919 ± 1,667
$AUC_{0-\infty}$ (h•ng/mL)	5,641 ± 2,035	5,546 ± 1,478	3,466 ± 1,122	4,105 ± 1,949	3,036 ± 537	1,039 ± 99.4	2,337 ± 598	4,933 ±1,669
half-life (h)	2.80 ± 0.25	2.95 ± 0.68	5.89 ± 1.28	3.16 ± 0.75	3.54 ± 1.34	4.82 ± 1.47	3.70 ± 0.48	3.19 ± 0.55

API: active pharmaceutical ingredient
Data shown as mean ± SEM

2.6.5.3.H		Test article	Sebetralstat
		Study number	VNG6181_ZNA73779
		Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	NHP		
Sex (M/F)/Number of animals	M/3 (for each formulation)		
Feeding condition	Fasted		
Sample	Plasma		
Analyte	KV900		
Assay	LC-MS/MS		
Method of administration	Oral		
Dose (mg/kg)	100 mg		
Vehicle/Formulation	API in gastro-resistant coated capsules	Spray-dried dispersion in gastro-resistant coated capsules	
PK parameters			
T_{max} (h)	1-4	4-36	
C_{max} (ng/mL)	218 ± 132	255 ± 244	
AUC_{0-t} (h•ng/mL)	1,024 ± 377	1,601 ± 1,242	
$AUC_{0-\infty}$ (h•ng/mL)	1,034 ± 373	3,634[a]	
half-life (h)	4.34 ± 0.71	5.82[a]	

API: active pharmaceutical ingredient
Data shown as mean ± SEM (T_{max} = range)
[a] data from n=1 animal

2.6.5.3.I				**Test article**	Sebetralstat
				Study number	112_KV123900_PK_2018
				Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	NHP				
Sex (M/F)/Number of animals	M/2 (for each formulation)				
Feeding condition	Fasted				
Sample	Plasma				
Analyte	Sebetralstat				
Assay	LC-MS/MS				
Method of administration	Oral				
Vehicle/Formulation	20% HP-β-CD	0.5% HPMC	20% TPGS		
Dose (mg/kg)	34.8	34.1	33.5		
PK parameters					
T_{max} (h)	1.5	1.5	2.0		
C_{max} (ng/mL)	1,035	925	1,031		
$AUC_{0\text{-last}}$ (h•ng/mL)	2,335	2,521	3,064		
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (h•ng/mL)	2,390	2,580	3,086		
half-life (h)	2.3	2.4	1.8		

Data shown as mean

2.6.5.3.J					**Test article**	[^{14}C]Sebetralstat
					Study number	182658
					Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	NHP					
Feeding condition	Non-fasted					
Vehicle/Formulation	0.5% HPMC					
Analyte	Total radioactivity					
Assay	Liquid scintillation counting					
Method of administration	Oral					
Dose (mg/kg)	10					
Sex (M/F)/Number of animals	M/3		F/3			
Sample	Plasma	Blood	Plasma	Blood		
PK parameters						
T_{max} (h)	1	1	1	1		
C_{max} (ng eq/mL)	2,020 ± 1,350	1,490 ± 919	1,650 ± 492	1,170 ± 213		
AUC_{0-t} (h•ng eq/mL)	4,280 ± 2,080	4,090 ± 2,320	3,710 ± 3,230	3,080 ± 1,620		

Data shown as mean ± SD (T_{max} = median)

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

該当なし。反復投与トキシコキネティクスの詳細については、モジュール 2.6.7.3 を参照のこと。

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.A		**Test article**	[^{14}C]Sebetralstat
		Study number	181649
		Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	Rat		
Feeding condition	Non-fasted		
Vehicle/Formulation	0.5% HPMC		
Method of administration	Oral		
Dose (mg/kg)	30		
Radionuclide	Carbon-14		
Specific activity	0.114-0.115 MBq/mg		

Sex (M/F)/Number of animals	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	F/1	F/1	F/1	M/1	M/1	M/1
Sampling time	0.5 h	1 h	4 h	8 h	24 h	72 h	168 h	1 h	24 h	72 h	24 h	168 h	336 h
Tissues/Organs	Concentration (µg eq/g)												
	Albino male							Albino time-mated female			Pigmented male		
Adrenal - cortex	12.18	15.08	2.71	0.77	0.08	0.14	ND	11.93	1.04	ND	ND	ND	ND
Adrenal - medulla	12.37	10.44	1.42	0.43	0.31	0.17	ND	6.08	0.13	ND	ND	ND	ND
Adrenal - whole	12.18	14.72	2.56	0.69	0.15	0.13	ND	9.24	0.70	ND	ND	ND	ND
Amniotic fluid	-	-	-	-	-	-	-	0.42	ND	ND	-	-	-
Bladder wall	5.69	6.25	7.18	4.59	ND	ND	ND	5.72	ND	ND	ND	ND	ND
Blood	7.03	4.33	1.33	0.39	ND	ND	ND	5.20	ND	ND	ND	ND	ND
Bone marrow	2.38	2.43	0.72	ND	ND	ND	ND	2.73	ND	ND	ND	ND	ND
Brain	0.09	0.07	0.03	0.00*	ND	ND	ND	0.07	ND	ND	ND	ND	ND
Brown fat	7.10	4.62	1.06	ND	ND	ND	ND	4.17	ND	ND	ND	ND	ND
Epididymis	3.45	2.56	0.83	0.09	ND	ND	ND	-	-	-	ND	ND	ND
Eye-lens	0.14	1.11	0.13	0.02*	ND	ND	ND	0.46	0.05	ND	0.09	0.02*	ND
Eye-uveal tract	2.65	3.41	0.62	0.52	ND	ND	ND	3.00	1.42	ND	6.16	1.60	0.56
Eye-whole	0.61	1.22	0.23	0.06	ND	ND	ND	1.00	0.15	ND	1.20	0.23	ND

Sex (M/F)/Number of animals	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	F/1	F/1	F/1	M/1	M/1	M/1
Sampling time	0.5 h	1 h	4 h	8 h	24 h	72 h	168 h	1 h	24 h	72 h	24 h	168 h	336 h
Tissues/Organs	Concentration (µg eq/g)												
	Albino male							Albino time-mated female			Pigmented male		
Foetus - whole	-	-	-	-	-	-	-	0.64	ND	ND	-	-	-
Harderian gland	4.88	6.74	1.03	0.26	ND	ND	ND	5.31	ND	ND	ND	ND	ND
Heart muscle	6.44	6.27	1.36	0.39	ND	ND	ND	6.05	ND	ND	ND	ND	ND
Kidney-cortex	12.80	19.22	5.72	2.06	0.32	0.08	0.27	12.10	0.24	0.05	0.23	0.04	0.04
Kidney-medulla	11.06	15.96	4.03	1.15	0.04	0.00*	0.10	13.03	0.13	0.00*	0.02*	0.00*	0.05
Kidney-pyramid	12.44	31.97	6.21	3.83	0.03	0.00*	0.09	15.27	0.13	0.06	0.05	0.03	0.00*
Kidney-whole	12.31	21.29	5.48	1.82	0.23	0.07	0.21	13.35	0.26	0.03*	0.17	0.03	0.01
Lachrymal gland	3.55	5.71	0.84	ND	ND	ND	ND	5.11	ND	ND	ND	ND	ND
Large intestine wall	5.29	9.71	98.42	26.29	0.93	ND	4.07	12.62	13.47	ND	ND	ND	ND
Liver	39.99	46.75	14.06	5.60	2.07	0.79	0.68	33.63	2.06	0.74	1.32	0.22	0.08
Lung	5.35	4.10	1.15	0.33	0.06	ND	ND	5.61	ND	ND	ND	ND	ND
Lymph node	4.90	4.26	0.90	ND	ND	ND	ND	3.57	ND	ND	ND	ND	ND
Mammary	-	-	-	-	-	-	-	2.80	ND	ND	-	-	-
Ovary	-	-	-	-	-	-	-	2.87	ND	ND	-	-	-
Pancreas	4.24	7.97	0.91	0.38	ND	ND	ND	4.91	ND	ND	ND	ND	ND
Pineal body	4.38	4.72	0.47	0.34	ND	ND	ND	3.13	ND	ND	ND	ND	ND
Pituitary	6.00	4.38	1.24	0.22	ND	ND	ND	4.81	ND	ND	ND	ND	ND
Placenta	-	-	-	-	-	-	-	6.00	0.06	ND	-	-	-
Preputial gland	4.25	3.74	1.09	0.20	ND	ND	ND	4.73	ND	ND	ND	ND	ND
Prostate	5.76	3.60	0.84	ND	ND	ND	ND	-	-	-	ND	ND	ND
Rectum wall	4.32	4.13	4.43	3.36	ND	ND	0.62	5.97	5.51	ND	ND	ND	ND
Salivary gland	6.75	5.67	1.04	ND	ND	ND	ND	5.59	ND	ND	ND	ND	ND
Seminal vesicles	4.13	3.79	3.89	ND	ND	ND	ND	-	-	-	ND	ND	ND
Skeletal muscle	2.64	3.58	0.66	0.35	ND	ND	ND	3.30	ND	ND	ND	ND	ND
Skin - albino/ non-pigmented	4.44	6.79	1.24	0.38	ND	ND	ND	4.61	ND	ND	0.18	ND	ND
Skin - pigmented	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.34	ND	ND
Small intestine wall	63.01	17.42	34.20	17.11	2.49	ND	4.25	58.03	2.83	ND	2.97	ND	ND
Spinal cord	0.31	0.18	0.05	0.02*	ND	ND	ND	0.38	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	5.67	7.61	0.90	0.21	ND	ND	ND	4.86	ND	ND	ND	ND	ND
Stomach wall-gastric	20.24	12.42	3.63	0.32	ND	ND	ND	7.86	ND	ND	ND	ND	ND

Sex (M/F)/Number of animals	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	M/1	F/1	F/1	F/1	M/1	M/1	M/1
Sampling time	0.5 h	1 h	4 h	8 h	24 h	72 h	168 h	1 h	24 h	72 h	24 h	168 h	336 h
Tissues/Organs	Concentration (µg eq/g)												
	Albino male							Albino time-mated female			Pigmented male		
Stomach wall-non-gastric	24.74	180.05	4.24	0.89	ND	ND	ND	NM	ND	ND	ND	ND	ND
Testes	0.54	0.90	0.40	0.18	0.04	ND	ND	-	-	-	ND	ND	ND
Thymus	3.41	3.31	0.56	0.10	ND	ND	ND	3.20	ND	ND	ND	ND	ND
Thyroid	7.48	5.55	1.48	ND	ND	ND	ND	5.08	ND	ND	ND	ND	ND
Uterus	-	-	-	-	-	-	-	7.77	ND	ND	-	-	-
White fat	0.34	0.27	0.46	0.00*	ND	ND	ND	0.36	ND	ND	ND	ND	ND
General tissue	NA	NA	NA	NA	0.01*	0.01*	0.01*	NA	0.03	0.00*	0.02*	0.00*	0.00*
Right eye	1.44	1.14	0.41	0.15	0.06	0.07	0.06	1.57	0.17	0.02*	1.36	0.17	0.08

NA: Not applicable
ND: Not distinguishable
NM: Not measured
* below the limit of reliable measurement
Right eye concentrations were determined by combustion and measurement of $^{14}CO_2$
Other concentrations were determined by phosphor imaging
Female animals were dosed on Day 16 of gestation

2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合

Study system	Rapid equilibrium dialysis		**Test article**	Sebetralstat
Target entity, test system and method	Animal and human plasma; analysis by LC-MS/MS			
Species	**Conc. Tested**	**Mean fraction unbound**	**Study number**	**Location in eCTD**
Mouse	5 µmol/L	0.059	049_KV123900_PK_2016	Module 4.2.2.3
Rat	5 µmol/L	0.039		
Rabbit	5 µmol/L	0.125		
Dog	5 µmol/L	0.341		
NHP (cynomolgus monkey)	5 µmol/L	0.376		
Human	5 µmol/L	0.232		

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.A				**Test article**	[^{14}C]Sebetralstat
				Study number	187593
				Location in eCTD	Module 4.2.2.3
Species	Rat				
Sex (M/F)/Number of animals	Pregnant F/3	Lactating F/3			
Feeding condition	Non-fasted				
Vehicle/Formulation	0.5% HPMC				
Method of administration	Oral				
Dose (mg/kg)	100				
Radionuclide	Carbon-14				
Specific activity	0.0702 MBq/mg				
Sampling time	1 h	1 h	8 h	24 h	
Tissues/fluids					
Milk	-	25.86	5.02 ± 2.61	0.36 ± 0.39*	
Plasma (µg eq/g)	29.44 ± 4.07	28.17 ± 10.33	4.18 ± 1.79	0.37 ± 0.28*	
Blood (µg eq/g)	17.77 ± 3.12	-	-	-	
Fetus (µg eq/g)	1.46 ± 0.16	-	-	-	
Milk/plasma ratio	-	1.14	1.17 ± 0.11	1.17	

Milk was not able to be obtained from one rat at 1 h post dose
* mean includes results calculated from data less than 30 d.p.m. above background
Data shown as mean ± SD

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8.A			**Test article**	Sebetralstat
Study type	*In vitro* blood/plasma ratio			
Target entity, test system and method	Animal and human blood; analysis by LC-MS/MS			
Species	**Conc. Tested**	**Mean blood/plasma ratio**	**Study number**	**Location in eCTD**
Mouse	1 µmol/L	0.60	YDS060	Module 4.2.2.3
Rat	1 µmol/L	0.56		
Dog	1 µmol/L	0.80		
Mini-pig	1 µmol/L	0.93		
NHP (cynomolgus monkey)	1 µmol/L	0.90		
Human	1 µmol/L	0.80		

2.6.5.8.B			**Test article**	Sebetralstat
Study type	*In vitro* melanin binding			
Target entity, test system and method	Melanin from Sepia officinalis; analysis by LC-MS/MS			
Compound	**Maximum binding capacity (B_{max}) (µmol/L)**	**Dissociation constant (Kd) (µmol/L)**	**Study number**	**Location in eCTD**
Sebetralstat	3.05	25.89	053_KV123900_PK_2016	Module 4.2.2.3
Chloroquine	39.03	55.75		

Concentration of melanin used: 50 µg/mL

2.6.5.9 薬物動態試験：*In Vivo* 代謝

2.6.5.9.A						**Test article**	Sebetralstat	
						Study number	YDS082	
						Location in eCTD	Module 4.2.2.4	
Species			Human	Rat		NHP		
Sex (M/F)/Number of subjects			M/6	M/6 + F/6		M/3 + F/3		
Feeding condition			Fasted	Non-fasted		Non-fasted		
Vehicle/Formulation			Tablet	0.5% HPMC		0.5% HPMC		
Method of administration			Oral	Oral		Oral		
Dose (mg)			600 mg	300 mg/kg/day		100 mg/kg/day		
Radionuclide			Not applicable	Not applicable		Not applicable		
Assay			LC-high resolution MS					
			Day 1 plasma AUC_{0-24} pool	Day 7 plasma AUC_{0-24} pool		Day 7 plasma AUC_{0-24} pool		
Metabolite	Retention time	Structure	Presence	Presence	Matrix-matched ratio to human plasma	Presence	Matrix-matched ratio to human plasma	
Sebetralstat	9.85		✓	✓		✓		
M1	5.24	Pyridine O-desmethylation and hydroxylation	✓	Trace	0.27	✓	4.7	
M2	5.63	Pyridine O-desmethylation and hydroxylation	✓	Trace	<0.20	✓	3.5	
M3	7.38	Pyridine O-desmethylation	✓	✓	2.1	✓	1.7	
M4	7.42	Di-oxidation/di-hydrogenation	✓	✓	1.4	✓	1.6	
M5	7.82	Di-oxidation/di-hydrogenation	✓	✓	2.1	✓	2.1	
M6	7.87	Pyrazole O-desmethylation	✓	✓	33	✓	3.3	
M7	8.26	Hydroxylation and glucuronidation	✓	✓	1.2	✓	6.3	
M8	8.34	Hydroxylation	✓	✓	5.1	✓	1.0	
M9	8.50	Di-oxidation/di-hydrogenation	✓	✓	2.7	✓	2.3	
M10	8.83	N-dealkylation at pyridinone (oxidatively cleaved sebetralstat)	✓	✓	3.2	✓	2.8	
M11	9.08	Di-oxidation/di-hydrogenation	✓	Trace	0.39	✓	3.5	
M12	9.34	Di-oxidation and methylation	✓	✓	2.4	✓	2.8	
M13	9.42	Di-oxidation/di-hydrogenation	✓	✓	0.36	✓	3.7	
M14	10.23	Hydroxylation	✓	✓	16	✓	2.4	

2.6.5.9.A						Test article		Sebetralstat	
						Study number		YDS082	
						Location in eCTD		Module 4.2.2.4	
Species			Human	Rat		NHP			
Sex (M/F)/Number of subjects			M/6	M/6 + F/6		M/3 + F/3			
M15	7.95	Hydroxylation	ND	Trace	-	✓	-		
M16	10.41	Hydroxylation	ND	✓	-	✓	-		
M17	6.80	Oxidative defluorination	Trace	✓	-	Trace	-		
M18	10.54	O-demethylation and dehydrogenation	Trace	✓	-	✓	-		

Human plasma from study KVD900-101. NHP plasma from study 8391044. Rat plasma from study 8391045. Where unequivocal structures were identified these retained the same M number in subsequent *in vivo* studies. Where a metabolite without an exact proposed position of biotransformation was characterized, these were given new identifiers. ND: Not detected

2.6.5.9.B									**Test article**	[^{14}C]Sebetralstat
									Study number	181649
									Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species		Rat								
Sex (M/F)/Number of animals		M/3	F/3	M/3	F/3	M/2	M/6	F/6		
Feeding condition		Non-fasted								
Vehicle/Formulation		0.5% HPMC								
Method of administration		Oral								
Dose (mg/kg)		30								
Radionuclide		Carbon-14								
Specific activity		0.114-0.115 MBq/mg								
Assay		Metabolite profiling by HPLC with radiochemical detection; structure characterization by LC-high resolution MS								
		Urine		Feces		Bile	Plasma			
		0-24 h pooled		0-48 h pooled		0-24 h pooled	AUC_{0-24} pool			
		% dose in sample					% extracted radioactivity			
M3	Pyridine O-desmethylation	0.4	0.6	-	19.4	3.9	-	-		
M6	Pyrazole O-desmethylation	0.5	1.1	-	2.4	2.0	-	-		
M19	Cleaved sebetralstat (des-[methyl-fluoro-methyl-pyridone])	3.2	0.4	-	-	1.2	-	-		
M20	Hydrolysed cleaved sebetralstat	0.2	0.5	-	-	0.8	-	-		
M21	Cysteinyl glycine conjugate of hydroxy sebetralstat	-	-	-	-	4.0	-	-		
M22	Hydroxy sebetralstat	-	-	-	2.3	-	-	-		
Sebetralstat/ M10/m/z 508	Co-eluting sebetralstat/oxidatively cleaved sebetralstat/m/z 508	1.4	3.9	30.9	41.9	15.8	83.4[a]	95.4		
Total unidentified		0.3	0.1	27.8	5.3	31.3	8.2	<0.1		

[a] Co-eluting m/z 508 component not detected in male plasma
All unidentified peaks in urine were ≤0.1% of dose
All unidentified peaks in feces were ≤3.7% of dose
All unidentified peaks in bile were ≤3% of dose
All unidentified peaks in male plasma were ≤5% of radioactivity in the AUC_{0-24} pool

2.6.5.9.C							Test article	Sebetralstat
							Study number	8463718
							Location in eCTD	Module 4.2.2.4
Species	Rat							
Sex (M/F)/Number of animals	M/6	F/6	M/6	F/6	M/6	F/6		
Feeding condition	Non-fasted							
Vehicle/Formulation	0.5% HMPC							
Method of administration	Oral							
Dose (mg/kg/day)	30	30	100	100	300	300		
Sample	Plasma							
Analyte	KV124020 (M19)							
Assay	LC-MS/MS							
PK parameters								
Week 26								
T_{max} (h)	0.5	0.5	2.0	1.0	6.0	2.0		
C_{max} (ng/mL)	270	15.2	852	80.4	792	214		
AUC_{0-24} (h•ng/mL)	1,000	61.8	3,830	397	8,470	1,640		

Samples were from 26-week rat toxicology study 8418576
Bioanalysis was performed under study number 8457943

2.6.5.9.D				Test article		[^{14}C]Sebetralstat	
				Study number		182658	
				Location in eCTD		Module 4.2.2.2	
Species		NHP					
Sex (M/F)/Number of animals		M/3	F/3	M/3	F/3	M/3	F/3
Feeding condition		Non-fasted					
Vehicle/Formulation		0.5% HPMC					
Method of administration		Oral					
Dose (mg/kg)		10					
Radionuclide		Carbon-14					
Specific activity		0.0717 MBq/mg					
Assay		Metabolite profiling by HPLC with radiochemical detection; structure characterization by LC-high resolution MS					
		Urine		Feces		Plasma	
		0-24 h pooled		0-72 h pooled (M) 0-120 h (F)		AUC_{0-8} pool	
		% dose in sample				% extracted radioactivity	
M3/M19	Co-eluting pyridine O-desmethylation/ cleaved sebetralstat (des-[methyl-fluoro-methyl-pyridone])	2.3	2.0	9.9	11.7	10.5	16.6
M23	Di-oxidation/ di-hydrogenation	1.1	0.7	4.2	3.7	5.4	6.2
M24	Di-oxidation/ di-hydrogenation	0.3	0.2	1.8	1.2	10.6	7.5
M6/M10/M27	Co-eluting pyrazole O-desmethylation/ oxidatively cleaved sebetralstat/ hydroxy sebetralstat	1.8[a]	1.3[a]	3.9	3.7	17.0[a]	11.6[a]
M25	Di-oxidation/ di-hydrogenation	-	0.1	-	-	-	-
M29	Hydroxy glucuronide of sebetralstat	1.4	0.7	-	-	17.4	15.4
M26	Di-oxidation/ di-hydrogenation	0.3	0.1	-	-	-	-
M28	Hydroxy sebetralstat	-	-	1.8	2.3	-	-
Sebetralstat		0.4	0.4	6.4	20.0	25.9	21.0
Total unidentified		2.1	2.1	18.6	12.2	7.2	11.6

[a] Co-eluting M27 was not detected in these samples
All unidentified peaks in urine were ≤0.4% of dose
All unidentified peaks in feces were ≤3.0% of dose
All unidentified peaks in plasma were ≤7.3% of radioactivity in the AUC_{0-8} pool
The % dose of components in feces samples is the sum of the original extract (Table 7 of report) and the microwaved extract (Table 8 of report)

2.6.5.9.E							Test article	Sebetralstat
							Study number	8463724
							Location in eCTD	Module 4.2.2.4
Species	NHP							
Sex (M/F)/Number of animals	M/3	F/3	M/3	F/3	M/5	F/5	M/5	F/5
Feeding Condition	Non-fasted							
Vehicle/Formulation	0.5% HMPC							
Method of administration	Oral							
Dose (mg/kg)	50	50	100	100	200	200	300	300
Sample	Plasma							
Analyte	KV124020 (M19)							
Assay	LC-MS/MS							
PK parameters								
Day 85								
T_{max} (h)	1-2	2-2	2-2	1-4	2-6	1-4	2-6	1-6
C_{max} (ng/mL)	77.0 ± 24.5	108	216 ± 162	106 ± 41.5	211 ± 75.7	243 ± 251	275 ± 122	128 ± 43.0
AUC_{0-24} (h•ng/mL)	361 ± 63.7	609	1,090 ± 600	627 ± 187	1,300 ± 428	1,220 ± 981	1,820 ± 693	962 ± 312

Samples were from 13-week intermittent dosing NHP toxicology study 8420897
Bioanalysis was performed under study number 8457942
Data shown as mean ± SD (T_{max} = range)

2.6.5.9.F		Test article	[^{14}C]Sebetralstat	
		Study number	8419854	
		Location in eCTD	Module 5.3.3.1	
Species		Human		
Sex (M/F)/Number of subjects		M/6		
Feeding condition		Fasted		
Vehicle/Formulation		API Powder in capsule		
Method of administration		Oral		
Dose (mg)		600		
Radionuclide		Carbon-14		
Specific activity		0.0337 MBq/mg		
Assay		Metabolite profiling by HPLC with radiochemical detection; structure characterization by LC-high resolution MS		
		Urine	Feces	Plasma
		Individual subject 0-48 h pooled to contain >97% of the radioactivity excreted in urine for each subject	Pooled across time points to contain >98% of the radioactivity excreted in feces for each subject	AUC_{0-24} pool
		% dose in sample		% of AUC_{0-24} pool
M3	Pyridine O-desmethylation	2.55 ± 0.641	8.16 ± 1.33	4.01 ± 1.45
M6	Pyrazole O-desmethylation	0.732 ± 0.341	1.38 ± 0.385[a]	0.765 ± 0.284
M10	Oxidatively cleaved sebetralstat (N-dealkylation at pyridinone)	4.88 ± 1.13[b]	1.84 ± 0.759	4.00 ± 1.44
M19	Cleaved sebetralstat (des-[methyl-fluoro-methyl-pyridone])	4.21 ± 0.653	0.783 ± 0.335	7.10 ± 2.03
M34	Pyridine di-oxidation/di-hydrogenation	2.95 ± 0.750	8.32 ± 2.88	1.06 ± 0.239
M38/M39	Co-eluting pyridine di-oxidation/di-hydrogenation (M38) and oxidised pyrazole O-desmethyl (M39)	1.21 ± 0.430	2.68 ± 0.758	1.79 ± 0.700
M40	Hydroxy sebetralstat	1.24 ± 0.332	2.88 ± 0.886	ND
Sebetralstat		8.66 ± 3.40	12.5 ± 8.86	64.1 ± 8.60
Other characterized peaks		2.56	3.35	2.74
Unidentified peaks		0.35	6.35	14.4

ND: Not detected
Peaks tabulated are those which represented a mean of >2% of the dose in urine and feces combined, or >2% of total radioactivity in the AUC_{0-24} pool
[a] M6 co-eluted with a di-oxidation/tetra-hydrogenation product (M35) in feces
[b] M10 co-eluted with a di-oxidation/di-hydrogenation product (M41) in urine
Mean extraction efficiency was *ca.* 85% for fecal homogenate and *ca.* 88% for plasma
Data shown as mean ± SD

2.6.5.10 薬物動態試験：*In Vitro* 代謝

2.6.5.10.A		**Test article**	Sebetralstat
		Study number	048_KV123900_PK_2016
		Location in eCTD	Module 4.2.2.4
Study system	CD_1 mouse (male), Sprague Dawley rat (male), Beagle dog (male), cynomolgus monkey (NHP, male) and human (mixed sex) liver microsomes (0.5 mg protein/mL), incubated with sebetralstat at 5 µmol/L for determination of intrinsic clearance (measurement of sebetralstat concentration by LC-MS/MS)		
Species	Intrinsic clearance (µL/min/mg protein)		
Mouse	66.35		
Rat	23.78		
Dog	1.10		
NHP	50.77		
Human	12.53		

2.6.5.10.B		**Test article**	Sebetralstat
Study type	Liver microsomal binding		
Target entity, test system and method	Rapid equilibrium dialysis of sebetralstat (5 µmol/L) with rat liver microsomes (0.5 mg/mL) for 5 hours at 37ºC; analysis by LC-MS/MS		
Compound	**Mean fraction unbound**	**Study number**	**Location in eCTD**
Sebetralstat	0.86	050_KV123900_PK_2016	Module 4.2.2.4

2.6.5.10.C			**Test article**	Sebetralstat
			Study number	YDS058
			Location in eCTD	Module 4.2.2.4
Study system	Incubation of sebetralstat (1 µmol/L) in human liver microsomes in the presence or absence of specific CYP450 isoform inhibitors. Sebetralstat concentrations measured by LC-MS/MS			
CYP450 isoform	Chemical inhibition (concentration)	Fraction metabolized (%)		
CYP1A2	Furafylline (10 µmol/L)	-		
CYP2B6	2-Phenyl-2-(1-piperidinyl) propane (30 µmol/L)	8-9		
CYP2C8	Montelukast (6.5 µmol/L)	11-13		
CYP2C9	Sulphaphenazole (10 µmol/L)	26-30		
CYP2C19	n-Benzylnirvanol (10 µmol/L)	5-6		
CYP2D6	Quinidine (1 µmol/L)	<1		
CYP3A4	CYP3cide (1 µmol/L)	40-49		
CYP3A	Ketoconazole (1 µmol/L)	40-49		

2.6.5.10.D			**Test article**	Sebetralstat
			Study number	2015_09_15_Kalvista_WO
			Location in eCTD	Module 4.2.2.4
Study system	C57Bl6 mouse (male), Han Wistar rat (male and female), Sprague Dawley rat (male), New Zealand White rabbit (female), Beagle dog (male), cynomolgus monkey (NHP, male)) and human (mixed sex) hepatocytes (0.5 x 10^6 cells/mL), incubated with sebetralstat at 1 µmol/L for determination of intrinsic clearance (measurement of sebetralstat concentration by LC-MS/MS). Assessment of the extent of binding of sebetralstat to hepatocytes was assessed by rapid equilibrium dialysis			
		Fraction unbound in hepatocytes		
Species	Intrinsic clearance (µL/min/10^6 cells)	Measured hepatocyte compartment method	Calculated hepatocyte compartment method	
Mouse	72.4	0.75	0.77	
Han Wistar rat (male)	41.3	-	-	
Han Wistar rat (female)	4.6	-	-	
Sprague Dawley rat	49.0	0.77	0.84	
Rabbit	6.9	-	-	
Dog	<3	0.79	No apparent binding	
NHP	5.1	-	-	
Human	8.0	0.77	0.88	

ND: Not detected

2.6.5.10.E					**Test article**	[^{14}C]Sebetralstat	
					Study number	181764	
					Location in eCTD	Module 4.2.2.4	
Study system	Human liver microsomes (0.5 mg protein/mL) were incubated with [^{14}C]sebetralstat (10 µmol/L) for 30 minutes at 37ºC in the presence of specific inhibitors of different CYP isoforms and vehicle only controls. The peak areas of [^{14}C]sebetralstat and radioactive peaks UK1-4 and UK10 were determined by HPLC with on-line radiodetection						
		Mean ± SD % of radiochromatogram following incubation					
CYP Isoform	Inhibitor	Sebetralstat	UK1	UK2	UK3	UK4	UK10
1A2	Vehicle control	68.9 ± 4.4	5.40 ± 1.8	9.93 ± 1.3	4.37 ± 0.7	7.83 ± 0.5	3.63 ± 1.2
	α-Naphthoflavone	67.5 ± 3.4	5.03 ± 0.9	10.9 ± 1.7	4.30 ± 0.1	8.50 ± 1.4	3.77 ± 1.9
2A6	Vehicle control	77.0 ± 0.6	3.63 ± 3.4	6.23 ± 0.7	4.87 ± 4.3	7.40 ± 0.7	0.933 ± 1.6
	8-Methoxypsoralen	73.5 ± 5.2	5.23 ± 0.9	7.17 ± 1.7	2.93 ± 0.7	8.23 ± 3.4	2.90 ± 0.4
2B6	Vehicle control	56.8 ± 4.6	10.6 ± 2.5	12.7 ± 1.2	5.60 ± 1.3	9.70 ± 2.3	3.20 ± 2.9
	Thio-TEPA	61.0 ± 3.1	6.40 ± 1.2	12.5 ± 0.9	4.57 ± 0.3	10.6 ± 1.9	4.93 ± 1.2
2C8	Vehicle control	58.4 ± 5.2	8.47 ± 1.2	12.0 ± 1.3	5.53 ± 0.2	11.1 ± 4.5	3.70 ± 2.0
	Quercetin	68.4 ± 4.1	5.77 ± 0.7	9.27 ± 1.9	3.13 ± 0.4	9.57 ± 1.5	3.87 ± 0.9
2C9	Vehicle control	64.1 ± 0.4	7.83 ± 1.9	11.9 ± 0.9	4.57 ± 0.4	9.03 ± 1.3	2.57 ± 2.3
	Sulphaphenazole	66.8 ± 2.2	7.27 ± 1.9	11.2 ± 1.5	3.73 ± 0.6	8.67 ± 2.1	2.40 ± 1.0
2C19	Vehicle control	66.7 ± 3.3	6.30 ± 1.7	10.9 ± 1.0	5.30 ± 0.4	6.40 ± 2.6	4.37 ± 0.5
	Tranylcypromine	69.6 ± 1.7	5.70 ± 0.6	10.9 ± 2.4	3.83 ± 0.9	7.77 ± 1.0	1.87 ± 1.9
2D6	Vehicle control	66.0 ± 3.9	6.50 ± 0.9	9.47 ± 2.2	4.50 ± 0.8	9.03 ± 1.1	4.50 ± 0.5
	Quinidine	70.4 ± 2.8	5.60 ± 2.3	9.77 ± 0.4	3.73 ± 0.3	8.37 ± 3.9	2.13 ± 1.9
2E1	Vehicle control	71.8 ± 3.3	5.97 ± 0.4	8.13 ± 2.0	4.10 ± 0.8	10.0 ± 0.6	ND
	Diethyldithiocarbamate	72.5 ± 1.4	8.07 ± 0.8	6.30 ± 0.3	ND	10.3 ± 0.2	2.83 ± 2.5
3A4	Vehicle control	63.0 ± 0.6	7.00 ± 1.8	10.6 ± 1.0	4.83 ± 1.7	8.03 ± 1.6	4.17 ± 0.6
	Ketoconazole	88.5 ± 1.2	ND	6.83 ± 1.5	ND	4.70 ± 0.6	ND

ND: Not detected
Incubation of [^{14}C]sebetralstat at 50 µmol/L with human liver microsomes and specific inhibitors, and with singly-expressed CYP isoforms, resulted in low turnover and equivocal results

2.6.5.10.F										**Test article**	Sebetralstat
										Study number	ADM-16-1410
										Location in eCTD	Module 4.2.2.4
Study system	CD-1 mouse, (male), Han Wistar rat (male and female), New Zealand White rabbit (female), Gottingen mini-pig (male), Beagle dog (male), cynomolgus monkey (NHP) (male) and human (mixed sex) hepatocytes (1 x 10^6 cells/mL), incubated with sebetralstat at 5 µmol/L for up to 2 hours; structural analysis by LC-MS/MS										
		Presence (2 h incubation)									
Metabolite	Structure	Mouse	Rat (male)	Rat (female)	Rabbit	Mini-pig	Dog	NHP	Human		
Sebetralstat		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M1	Hydroxylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M2	Hydroxylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M3	Di-hydroxylation and hydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M4	Di-hydroxylation and hydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M5	Di-hydroxylation and hydrogenation	ND	✓	ND	✓	✓	✓	✓	✓		
M6	Di-hydroxylation and hydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	ND	✓	✓		
M7	3x-hydroxylation and hydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M8	Dehydrogenation	✓	✓	ND	✓	✓	ND	✓	✓		
M9	Demethylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M10	Demethylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M11	Demethylation and di-hydroxylation	✓	✓	ND	✓	✓	✓	ND	ND		
M12	Di-hydroxylation, hydrogenation, demethylation and oxidation	✓	ND	ND	✓	✓	ND	ND	ND		
M13	Demethylation and oxidation	✓	✓	✓	✓	✓	ND	✓	✓		
M14	Demethylation, dihydroxylation and hydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	ND	✓	✓		
M15	Demethylation, dihydroxylation and hydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	ND	✓	✓		
M16	Demethylation and dehydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M17	2x demethylation and oxidation	✓	ND	ND	✓	✓	ND	✓	ND		
M18	2x demethylation and dehydrogenation	✓	✓	ND	✓	✓	ND	✓	ND		
M19	Dealkylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M20	Dealkylation and oxidation	✓	✓	ND	✓	✓	ND	✓	ND		
M21	Oxidative dealkylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
M22	Oxidative dealkylation and demethylation	✓	✓	✓	✓	✓	ND	✓	ND		
M23	Hydroxylation and glucuronidation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		

2.6.5.10.F			Test article	Sebetralstat
			Study number	ADM-16-1410
			Location in eCTD	Module 4.2.2.4
Study system	CD-1 mouse, (male), Han Wistar rat (male and female), New Zealand White rabbit (female), Gottingen mini-pig (male), Beagle dog (male), cynomolgus monkey (NHP) (male) and human (mixed sex) hepatocytes (1 x 10^6 cells/mL), incubated with sebetralstat at 5 µmol/L for up to 2 hours; structural analysis by LC-MS/MS			

		Presence (2 h incubation)							
Metabolite	Structure	Mouse	Rat (male)	Rat (female)	Rabbit	Mini-pig	Dog	NHP	Human
M24	Hydroxylation and sulphation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	ND
M25	Hydroxylation, hydrogenation and glutathione conjugation	✓	✓	✓	✓	✓	ND	✓	ND
M26	Di-hydroxylation and methylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M27	Oxidative dealkylation and taurine conjugation	✓	✓	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M28	Oxidation and sulphation	ND	✓	✓	✓	✓	✓	✓	ND
M29	Glutathione conjugation	✓	✓	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M30	Demethylation and glucuronidation	ND	ND	✓	✓	✓	ND	✓	ND
M31	Demethylation and sulphation	ND	ND	ND	✓	ND	ND	✓	ND

ND: Not detected
M1, M3, M9, M19, M21 and M26 were the most prevalent human metabolites by peak area
In vitro metabolite numbering is separate from *in vivo* metabolite numbering

2.6.5.10.G			Test article	Sebetralstat
			Study number	ADM-17-1731
			Location in eCTD	Module 4.2.2.4
Study system	CD-1 mouse, (male), Han Wistar rat (male and female), New Zealand White rabbit (female), Gottingen mini-pig (male), Beagle dog (male), cynomolgus monkey NHP (male) and human (mixed sex) hepatocytes (1 x 10^6 cells/mL), incubated with sebetralstat at 1 µmol/L for up to 2 hours; structural analysis by LC-MS/MS			

		Presence (1 h incubation)							
Metabolite	Structure	Mouse	Rat (male)	Rat (female)	Rabbit	Mini-pig	Dog	NHP	Human
Sebetralstat		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M1	Hydroxylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M2	Hydroxylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M3	Di-hydroxylation and hydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M4	Di-hydroxylation and hydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M5	Di-hydroxylation and hydrogenation	ND	ND	ND	ND	✓	ND	✓	✓
M6	Di-hydroxylation and hydrogenation	✓	ND	ND	✓	✓	ND	✓	ND
M7	3x-hydroxylation and hydrogenation	✓	ND	ND	✓	✓	ND	ND	✓
M8	Dehydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	ND	✓	✓
M9	Demethylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M10	Demethylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M11	Demethylation and di-hydroxylation	✓	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M12	Di-hydroxylation, hydrogenation, demethylation and oxidation	✓	ND	ND	✓	✓	ND	ND	ND
M13	Demethylation and oxidation	✓	✓	ND	✓	✓	ND	✓	ND
M15	Demethylation, di-hydroxylation and hydrogenation	ND	ND	ND	✓	✓	ND	ND	ND
M16	Demethylation and dehydrogenation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M17	2x demethylation and oxidation	ND	ND	ND	✓	✓	ND	ND	ND
M18	2x demethylation and dehydrogenation	✓	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M19	Dealkylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M20	Dealkylation and oxidation	✓	ND	ND	✓	ND	ND	ND	ND
M21	Oxidative dealkylation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
M22	Oxidative dealkylation and demethylation	ND	✓	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M23	Hydroxylation and glucuronidation	✓	ND	✓	✓	ND	✓	✓	ND
M24	Hydroxylation and sulphation	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	ND

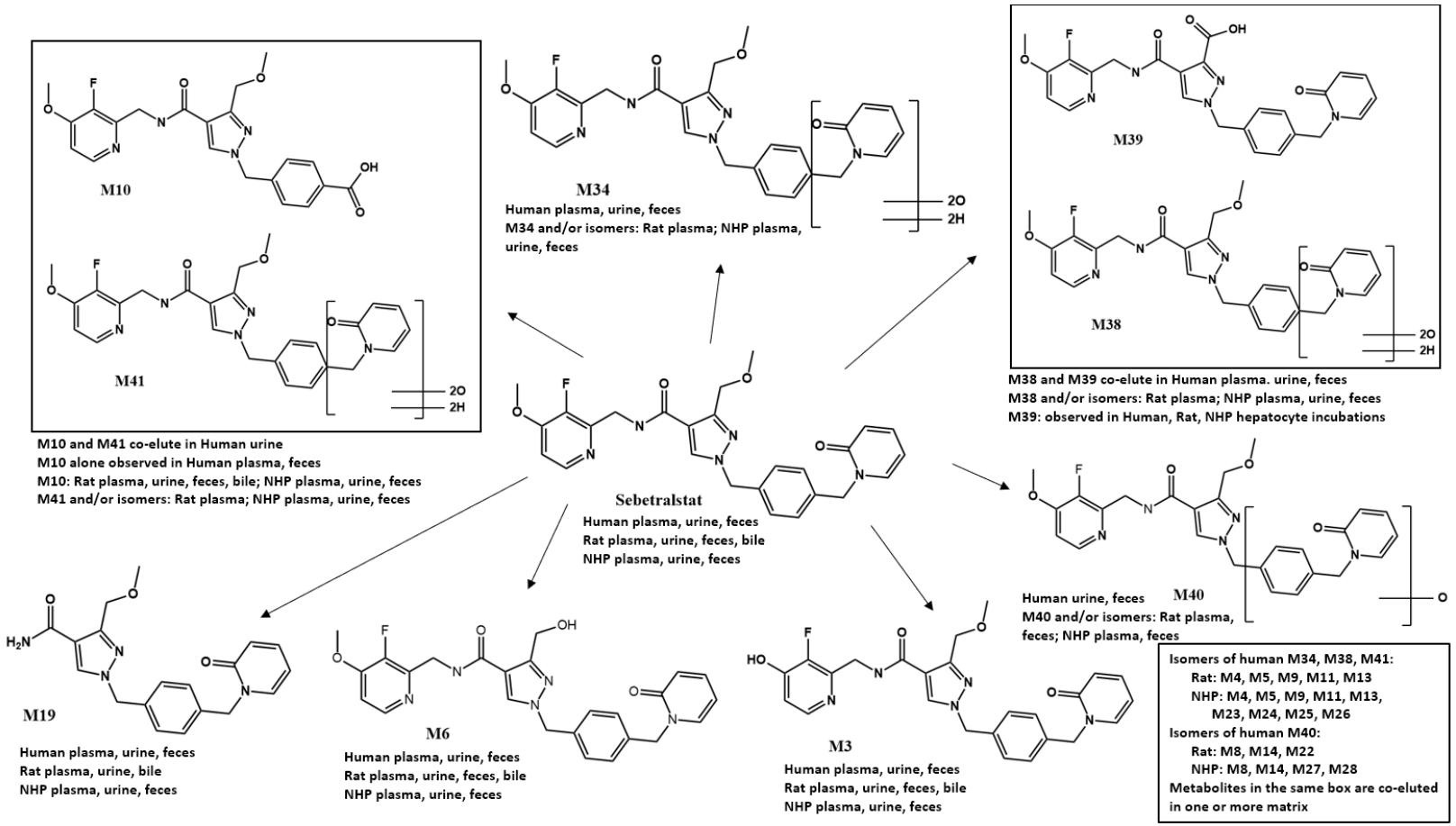
2.6.5.10.G										**Test article**	Sebetralstat
										Study number	ADM-17-1731
										Location in eCTD	Module 4.2.2.4
Study system	CD-1 mouse, (male), Han Wistar rat (male and female), New Zealand White rabbit (female), Gottingen mini-pig (male), Beagle dog (male), cynomolgus monkey NHP (male) and human (mixed sex) hepatocytes (1 x 10^6 cells/mL), incubated with sebetralstat at 1 µmol/L for up to 2 hours; structural analysis by LC-MS/MS										
		Presence (1 h incubation)									
Metabolite	Structure	Mouse	Rat (male)	Rat (female)	Rabbit	Mini-pig	Dog	NHP	Human		
M25	Hydroxylation, hydrogenation and glutathione conjugation	✓	✓	✓	✓	✓	ND	✓	ND		
M26	Di-hydroxylation and methylation	✓	ND	✓	ND	ND	ND	✓	ND		
M27	Oxidative dealkylation and taurine conjugation	✓	✓	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
M28	Oxidation and sulphation	✓	✓	✓	ND	✓	✓	✓	ND		
M29	Glutathione conjugation	✓	✓	✓	✓	✓	ND	ND	ND		
M30	Demethylation and glucuronidation	ND	ND	ND	✓	ND	ND	✓	ND		
M31	Demethylation and sulphation	✓	✓	✓	ND	✓	✓	✓	ND		

ND: Not detected
In vitro metabolite numbering is separate from *in vivo* metabolite numbering

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

Test Article [^{14}C]Sebetralstat

ヒトの血漿中（総放射能 AUC_{0-24} の平均 2%超）及び排泄物中（放射能投与量の平均 2%超）の主な代謝物を示す。



2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導・阻害

2.6.5.12.A							**Test article**	Sebetralstat
							Study number	CYP0603_R7
							Location in eCTD	Module 4.2.2.6
Type of study	*In vitro* CYP450 inhibition and UGT inhibition							
Method (CYP inhibition)	Incubation of sebetralstat at concentrations up to 25 µmol/L with human liver microsomes in the presence of substrates specific for CYPs 1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 and 3A4 (midazolam and testosterone). Both direct and time-dependent (30 minutes preincubation +/- NADPH) inhibition was determined							
Tabulated results	IC_{50} (µmol/L)							
	Direct inhibition		Time-dependent inhibition + NADPH			Time-dependent inhibition - NADPH		
CYP1A2	>25		>25			>25		
CYP2B6	>25		>25			>25		
CYP2C8	>25		>25			>25		
CYP2C9	>25		>25			>25		
CYP2C19	>25		>25			>25		
CYP2D6	>25		>25			>25		
CYP3A4 (midazolam)	>25		>25			>25		
CYP3A4 (testosterone)	>25		>25			>25		
Method (UGT inhibition)	Incubation of sebetralstat at concentrations up to 100 µmol/L with Supersomes™ singly expressing UGTs 1A1, 1A3, 1A4, 1A6, 1A9 and 2B7 in the presence of isoform-specific substrates							
Tabulated results	UGT isoform							
	1A1	1A3	1A4	1A6	1A9	2B7		
IC_{50} (µmol/L)	87.9	90.1	57.5	>100	31.3	>100		

2.6.5.12.B			**Test article**	Sebetralstat
			Study number	182574
			Location in eCTD	Module 4.2.2.6
Type of study	CYP450 inhibition			
Method	Incubation of sebetralstat at concentrations up to 200 µmol/L with human liver microsomes in the presence of substrates specific for CYPs 1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 and 3A4 (midazolam and testosterone). Both direct and time-dependent (30 minutes preincubation +/- NADPH) inhibition was determined			
Tabulated results	IC_{50} (µmol/L)			
	Direct inhibition	Time-dependent inhibition + NADPH	Time-dependent inhibition - NADPH	
CYP1A2	>200	>200	>200	
CYP2B6	>200	>200	>200	
CYP2C8	>200	>200	>200	
CYP2C9	30.1	>200	>200	
CYP2C19	>200	>200	>200	
CYP2D6	>200	>200	>200	
CYP3A4 (midazolam)	121	>200	>200	
CYP3A4 (testosterone)	120	>200	>200	

2.6.5.12.C													
							Test article	Sebetralstat					
							Study number	181759					
							Location in eCTD	Module 4.2.2.6					
Type of study	CYP450 induction												
Method	Incubation of sebetralstat at concentrations up to 100 µmol/L with human hepatocytes from 3 donors for 72 hours. Determination of CYPs 1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19 and 3A4 mRNA (fold increase relative to solvent control) and calculation of % induction relative to positive control, normalized to housekeeping genes (B2M and GADPH)												
Tabulated results	Normalized to B2M						Normalized to GADPH						
	CYP1A2												
	mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control			mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control			
	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	
Sebetralstat (1 µmol/L)	1.40 ± 0.49	1.07 ± 0.08	0.99 ± 0.09	2.3	0.5	-0.1	1.18 ± 0.22	1.14 ± 0.08	0.94 ± 0.15	0.9	0.5	-0.4	
Sebetralstat (10 µmol/L)	1.38 ± 0.20	1.19 ± 0.18	1.00 ± 0.05	2.1	1.3	0.0	1.21 ± 0.16	1.28 ± 0.09	0.91 ± 0.05	1.0	1.1	-0.7	
Sebetralstat (100 µmol/L)	1.67 ± 0.40	1.06 ± 0.26	0.88 ± 0.03	3.7	0.4	-0.8	2.51 ± 0.68	1.46 ± 0.38	0.83 ± 0.07	7.5	1.8	-1.2	
Omeprazole (30 µmol/L)	18.95 ± 4.67	15.43 ± 2.16	15.93 ± 2.79	NA	NA	NA	20.96 ± 0.63	26.94 ± 8.38	15.21 ± 2.98	NA	NA	NA	
	CYP2B6												
	mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control			mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control			
	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	
Sebetralstat (1 µmol/L)	1.22 ± 0.25	0.86 ± 0.07	1.18 ± 0.31	2.1	-1.0	1.2	1.05 ± 0.07	0.92 ± 0.05	1.15 ± 0.29	0.3	-0.4	0.8	
Sebetralstat (10 µmol/L)	1.54 ± 0.14	1.36 ± 0.22	1.77 ± 0.22	5.1	2.6	5.0	1.35 ± 0.11	1.47 ± 0.25	1.65 ± 0.12	2.4	2.3	3.4	
Sebetralstat (100 µmol/L)	1.11 ± 0.76	4.07 ± 0.63	4.82 ± 0.76	1.1	22.6	24.5	1.56 ± 0.77	5.60 ± 0.58	4.69 ± 0.65	3.8	22.1	19.0	
Phenobarbital (1,000 µmol/L)	11.57 ± 1.74	14.57 ± 3.10	16.56 ± 0.25	NA	NA	NA	15.67 ± 2.85	21.85 ± 3.59	20.46 ± 2.38	NA	NA	NA	
	CYP2C8												
	mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control			mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control			
	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	
Sebetralstat (1 µmol/L)	1.12 ± 0.39	1.21 ± 0.06	0.97 ± 0.18	5.0	5.6	-0.9	0.95 ± 0.22	1.27 ± 0.16	0.97 ± 0.15	-2.2	8.6	-0.8	
Sebetralstat (10 µmol/L)	1.22 ± 0.15	1.51 ± 0.44	1.34 ± 0.23	9.6	14.0	11.2	1.08 ± 0.15	1.62 ± 0.45	1.28 ± 0.27	3.5	19.5	6.7	
Sebetralstat (100 µmol/L)	1.79 ± 0.55	2.13 ± 0.15	2.82 ± 0.41	34.0	31.0	60.3	2.71 ± 1.01	2.92 ± 0.38	2.79 ± 0.29	80.2	60.9	43.2	
Rifampicin (10 µmol/L)	3.32 ± 0.55	4.66 ± 0.37	4.02 ± 1.84	NA	NA	NA	3.14 ± 0.85	4.16 ± 0.55	5.14 ± 2.88	NA	NA	NA	

2.6.5.12.C							**Test article**	Sebetralstat				
							Study number	181759				
							Location in eCTD	Module 4.2.2.6				
Type of study	CYP450 induction											
	CYP2C9											
	mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control			mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control		
	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3
Sebetralstat (1 µmol/L)	1.82 ± 1.47	1.13 ± 0.09	1.08 ± 0.10	60.0	5.5	5.2	1.48 ± 0.99	1.20 ± 0.18	1.06 ± 0.08	38.5	10.2	3.0
Sebetralstat (10 µmol/L)	1.42 ± 0.20	1.48 ± 0.16	1.17 ± 0.11	30.9	21.0	10.7	1.26 ± 0.18	1.59 ± 0.08	1.09 ± 0.14	20.5	30.2	4.5
Sebetralstat (100 µmol/L)	3.09 ± 1.94	1.99 ± 0.11	1.57 ± 0.36	153	43.1	37.0	4.74 ± 3.31	2.74 ± 0.28	1.56 ± 0.48	299	89.1	26.7
Rifampicin (10 µmol/L)	2.37 ± 0.45	3.30 ± 0.36	2.54 ± 0.36	NA	NA	NA	2.25 ± 0.68	2.95 ± 0.31	3.09 ± 0.44	NA	NA	NA
	CYP2C19											
	mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control			mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control		
	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3
Sebetralstat (1 µmol/L)	1.04 ± 0.27	1.12 ± 0.16	0.93 ± 0.03	12.9	10.8	-4.3	0.89 ± 0.18	1.19 ± 0.32	0.93 ± 0.06	-57.2	21.6	-2.7
Sebetralstat (10 µmol/L)	0.98 ± 0.10	1.20 ± 0.16	1.04 ± 0.10	-5.9	18.2	2.3	0.86 ± 0.10	1.28 ± 0.22	1.00 ± 0.15	-72.5	32.6	0.1
Sebetralstat (100 µmol/L)	0.74 ± 0.20	1.60 ± 0.11	1.74 ± 1.49	-95.4	53.7	43.2	1.13 ± 0.41	2.18 ± 0.30	1.66 ± 1.40	66.4	135.9	27.6
Rifampicin (10 µmol/L)	1.27 ± 0.21	2.12 ± 0.29	2.70 ± 0.38	NA	NA	NA	1.19 ± 0.29	1.87 ± 0.19	3.37 ± 0.49	NA	NA	NA
	CYP3A4											
	mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control			mRNA fold increase over solvent control			% induction relative to positive control		
	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3	Donor 1	Donor 2	Donor 3
Sebetralstat (1 µmol/L)	1.10 ± 0.25	0.77 ± 0.17	1.52 ± 0.33	0.7	-0.6	7.9	0.96 ± 0.23	0.81 ± 0.10	1.52 ± 0.33	-0.3	-0.6	5.9
Sebetralstat (10 µmol/L)	2.05 ± 0.42	2.86 ± 0.24	5.60 ± 0.45	6.7	5.1	70.3	1.81 ± 0.40	3.11 ± 0.22	5.33 ± 0.48	5.6	6.4	49.7
Sebetralstat (100 µmol/L)	2.78 ± 1.49	11.97 ± 1.90	14.98 ± 4.01	11.4	30.0	214	3.99 ± 1.50	16.54 ± 1.65	14.73 ± 3.24	20.8	47.5	158
Rifampicin (10 µmol/L)	16.64 ± 3.93	37.64 ± 12.39	7.54 ± 6.21	NA	NA	NA	15.33 ± 2.33	33.74 ± 9.85	9.71 ± 8.17	NA	NA	NA

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.A		**Test article**	Sebetralstat
		Study number	8358340
		Location in eCTD	Module 4.2.2.5
Species	Rat		
Sex (M/F)/Number of animals	M/5 (bile duct-cannulated)		
Feeding condition	Non-fasted		
Vehicle/Formulation	10% DMSO/10% Cremophor EL/80% water		
Method of administration	Intravenous		
Dose (mg/kg)	1		
Analyte	Sebetralstat		
Assay	LC-MS/MS		
	% Dose administered		
Urine 0-24 h	0.949 ± 0.593		
Bile 0-24 h	0.132 ± 0.0117		

Data shown as mean ± SD
Plasma pharmacokinetic parameters were determined in separate (M/4) rats with clearance of 1,050 ± 275 mL/h/kg; volume of distribution of 643 ± 117 mL/kg; half-life 0.444 ± 0.145 h

2.6.5.13.B			Test article	[^{14}C]Sebetralstat
			Study number	181649
			Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	Rat			
Sex (M/F)/Number of animals	M/3	F/3		
Feeding condition	Non-fasted			
Vehicle/Formulation	0.5% HPMC			
Method of administration	Oral			
Dose (mg/kg)	30			
Analyte	Total radioactivity			
Assay	Liquid scintillation counting			
	% Administered radioactivity			
Urine 0-24 h	6.3 ± 0.7	7.1 ± 1.1		
0-48 h	6.4 ± 0.6	7.2 ± 1.1		
0-168 h	6.5 ± 0.5	7.3 ± 1.2		
Feces 0-24 h	85.2 ± 4.1	87.1 ± 4.2		
0-48 h	89.5 ± 0.4	90.8 ± 4.6		
0-168 h	91.0 ± 2.4	91.2 ± 4.5		
Expired air 0-48 h	0.2	0.1		
Cage wash 0-168 h	1.3 ± 0.4	0.9 ± 0.6		
Gastrointestinal tract 168 h	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0		
Carcass 168 h	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0		
Total cumulative recovery 0-168 h	99.0 ± 2.0	99.5 ± 3.4		

Data shown as mean ± SD

2.6.5.13.C			Test article	[^{14}C]Sebetralstat
			Study number	182658
			Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	NHP			
Sex (M/F)/Number of animals	M/3	F/3		
Feeding condition	Non-fasted			
Vehicle/Formulation	0.5% HPMC			
Method of administration	Oral			
Dose (mg/kg)	10			
Analyte	Total radioactivity			
Assay	Liquid scintillation counting			
	% Administered radioactivity			
Urine 0-24 h	10.1 ± 1.8	8.6 ± 2.3		
0-48 h	10.5 ± 1.8	9.3 ± 2.7		
0-168 h	10.8 ± 1.9	9.8 ± 3.0		
Feces 0-24 h	42.2 ± 6.9	16.2 ± 18.5		
0-48 h	78.5 ± 10.4	52.5 ± 18.1		
0-168 h	84.5 ± 6.0	78.7 ± 21.4		
Cage wash 0-168 h	2.0 ± 1.0	4.7 ± 6.0		
Cage debris 0-168 h	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.2		
Total cumulative recovery 0-168 h	97.4 ± 3.6	93.3 ± 13.2		

Data shown as mean ± SD

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

2.6.5.14.A		**Test article**	[^{14}C]Sebetralstat
		Study number	181649
		Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Species	Rat		
Sex (M/F)/Number of animals	M/2		
Feeding condition	Non-fasted		
Vehicle/Formulation	0.5% HPMC		
Method of administration	Oral		
Dose (mg/kg)	30		
Analyte	Total radioactivity		
Assay	Liquid scintillation counting		
	% Administered radioactivity		
Urine 0-48 h	10.1		
Feces 0-48 h	31.4		
Bile 0-6 h	46.8		
0-24 h	54.9		
0-48 h	55.1		
Cage wash 0-48 h	1.3		
Gastrointestinal tract 48 h	0.1		
Carcass 48 h	0.4		
Total cumulative recovery 0-48 h	98.4		

Data shown as mean

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.A				**Test article**	Sebetralstat	
				Study number	CYP0603_R7	
				Location in eCTD	Module 4.2.2.6	
Type of study	*In vitro* drug transporter inhibition/substrate assay					
Method	The potential of sebetralstat, at concentrations up to 50 µmol/L, to inhibit human transporters P-gp (MDR1) and BCRP was assessed by measuring the effect of sebetralstat on the transport of substrates specific for these transporters using cells singly expressing P-gp or Caco2 cells (for BCRP). In addition, an assessment was made as to whether sebetralstat is a substrate of P-gp or BCRP by measuring its transport across Caco2 cells in the presence and absence of a specific inhibitor					
Tabulated results	Inhibition	Substrate				
	IC_{50} (µmol/L)	Sebetralstat concentration = 10 µmol/L			Sebetralstat concentration = 50 µmol/L	
		Efflux ratio			Efflux ratio	
Transporter		- Inhibitor	+ Inhibitor		- Inhibitor	+ Inhibitor
P-gp (verapamil inhibitor)[a]	>50	16.3/18.1	1.44/1.52		14.60/13.7	1.30/1.61
P-gp (elacridar inhibitor)	>50	27.1	0.875		16.4	0.870
BCRP	>50	18.8	5.28		12.3	4.93

[a] Values shown are derived from LC-MS/MS analysis using two different internal standards

2.6.5.15.B			**Test article**	Sebetralstat
			Study number	KVS/REP/20
			Location in eCTD	Module 4.2.2.6
Type of study	*In vitro* drug transporter inhibition assay			
Method	The potential of sebetralstat, at concentrations up to 100 µmol/L, to inhibit human transporters OAT1, OAT3, OCT2. OATP1B1, OATP1B3, MATE1 and MATE2-K was assessed by measuring the effect of sebetralstat on the transport of substrates specific for these transporters using cells singly expressing each transporter. The inhibition of OATP1B1 and OATP1B3 was determined with and without a 30-minute preincubation			
Tabulated results	Inhibition	Inhibition with 30 minutes pre-incubation		
Transporter	IC_{50} (µmol/L)	IC_{50} (µmol/L)		
OAT1	>100	Not determined		
OAT3	19.2	Not determined		
OCT2	5.28	Not determined		
OATP1B1	95.4	86.3		
OATP1B3	60.1	51.3		
MATE1	8.05	Not determined		
MATE2-K	7.76	Not determined		

2.6.5.15.C		**Test article**	Sebetralstat
		Study number	KVS/REP/22
		Location in eCTD	Module 4.2.2.6
Type of study	*In vitro* drug transporter inhibition assay		
Method	The potential of sebetralstat, at concentrations up to 100 µmol/L, to inhibit human transporters P-gp (MDR1), BCRP and BSEP was assessed by measuring the effect of sebetralstat on the transport of substrates specific for these transporters using cells singly expressing each transporter		
Tabulated results	Inhibition		
Transporter	IC_{50} (µmol/L)		
P-gp	>100		
BCRP	82.3		
BSEP	76.9		

2.6.5.15.D		**Test article**	Sebetralstat
		Study number	KVS/REP/21
		Location in eCTD	Module 4.2.2.6
Type of study	*In vitro* drug transporter substrate assay		
Method	Determination of whether sebetralstat, at concentrations of 0.2 and 20 µmol/L, is a substrate for human transporters OAT1, OAT3, OCT2. OATP1B1, OATP1B3, MATE1 and MATE2-K. This was assessed by measuring the uptake ratio of transport of sebetralstat into cells singly expressing these transporters to transport into control cells		
Tabulated results	Uptake ratio at 0.2 µmol/L sebetralstat	Uptake ratio at 20 µmol/L sebetralstat	
OAT1	Uptake was not quantifiable	1.22	
OAT3	1.94	1.38	
OCT2	1.70	1.00	
OATP1B1	1.72	1.77	
OATP1B3	0.957	0.789	
MATE1	0.737	0.437	
MATE2-K	>2.04	2.01	

2.6.5.15.E			**Test article**	Sebetralstat
			Study number	KVS/REP/23
			Location in eCTD	Module 4.2.2.6
Type of study	*In vitro* drug transporter substrate assay			
Method	An assessment was made as to whether sebetralstat is a substrate of P-gp (MDR1) or BCRP by measuring its transport across MDCK cells singly expressing the transporter in the presence and absence of specific inhibitors			
Tabulated results	Substrate			
	Efflux ratio			
Transporter	- Inhibitor	+ Inhibitor		% Inhibition
P-gp, cyclosporin A inhibitor	9.58	4.01		58.2
P-gp, valspodar inhibitor		2.41		74.9
P-gp, verapamil inhibitor		4.28		55.3
BCRP, cyclosporin A inhibitor	13.4	4.91		63.4
BCRP, elacridar inhibitor		4.45		66.8
BCRP, Ko143 inhibitor		2.12		84.2

Sebetralstat concentration in P-gp assay = 10 µmol/L; 30 minute incubation time
Sebetralstat concentration in BCRP assay = 20 µmol/L; 60 minute incubation time

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

2.6.5.16.A		**Test article**	Sebetralstat
		Study number	051_KV123900_PK_2016
		Location in eCTD	Module 4.2.2.2
Type of study	*In vitro* absorption - permeability across Caco-2 monolayers		
Method	Incubation of 50 µmol/L sebetralstat for 1 hour in 3-day Caco-2 monolayers and determination of apical to basolateral P_{app} by LC-MS/MS		
Tabulated results	Apical to basolateral P_{app} = 9.0 x 10^{-6} cm/s		