サノフィ株式会社

リルザブルチニブ

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.4 薬物動態試験の概要文

Total number of pages: 52

目　　次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 1

目　　次 2

表　目　次 5

図　目　次 6

略号と用語の定義 7

1　　まとめ 9

2　　分析法 11

2.1　GLP 適用非臨床試験における血漿中リルザブルチニブ濃度測定法の概要 11

2.2　血漿中リルザブルチニブ及び代謝物の濃度測定法 12

2.3　リルザブルチニブ及び代謝物の安定性 13

2.4　GLP 非適用薬物動態試験における血漿中リルザブルチニブ濃度測定法 13

2.5　放射性標識被験物質を用いる排泄物及び組織中リルザブルチニブ濃度の測定 14

3　　薬物動態パラメータ 16

4　　吸収及びバイオアベイラビリティ 17

4.1　単回投与試験 17

4.1.1　マウス 17

4.1.2　ラット 17

4.1.3　イヌ 18

4.1.4　カニクイザル 19

4.2 反復投与試験 19
4.2.1 ラット 19
4.2.1.1 3 日間空腸内投与 PK－薬力学試験 20
4.2.1.2 GLP 適用 2 週間経口投与ブリッジング薬物動態試験 20
4.2.1.3 GLP 適用 4 週間経口投与毒性試験 21
4.2.1.4 GLP 適用 13 週間経口投与毒性試験 21
4.2.1.5 GLP 適用 6 か月間経口投与毒性試験 22
4.2.2 イヌ 24
4.2.2.1 GLP 適用 4 週間経口投与毒性試験 24
4.2.2.2 GLP 適用 13 週間経口投与毒性試験 24
4.2.2.3 GLP 適用 9 か月間経口投与毒性試験 25
4.2.3 妊娠ラット及びウサギを用いた反復投与試験 27
4.2.3.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 27
4.2.3.2 妊娠ウサギを用いた用量設定試験 27
4.2.3.3 ウサギを用いた強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験 28
5 分布 29
5.1 タンパク結合及び血球中への移行 29
5.1.1 平衡透析法を用いたタンパク結合率の測定 29
5.1.2 In vitro ヒト肝ミクロソームタンパク結合率 29
5.1.3 ヒト、イヌ及びラット血球中への移行 29
5.2 QWBA 法によるラットマスバランス試験 29
5.3 Wistar Han 雌ラットに経口投与後の脳脊髄液中濃度 34
6 代謝（動物種間の比較） 35
6.1 推定代謝経路 35
6.2 In vitro 代謝 38
6.2.1 様々な動物種の血漿及び肝 S9 画分中での代謝安定性 38
6.2.2 肝ミクロソーム中での代謝安定性 39

6.2.3 肝細胞中での代謝安定性 39
6.2.4 ヒト肝細胞内への取り込み 40
6.2.5 シトクロム P450 分子種のフェノタイピング 40
6.2.6 ヒト肝細胞中での in vitro 固有クリアランス 40
6.3 In vitro 及び in vivo 代謝プロファイリング 40
6.3.1 ヒト、イヌ及びラット肝 S9 画分中の代謝物の同定 40
6.3.2 ラットにおける[^{14}C]-リルザブルチニブの in vivo 代謝プロファイリング 40
6.3.3 ラット TK 試験における代謝物の同定 41
6.3.4 イヌ TK 試験における代謝物の同定 42
6.4 異性体相互変換 42
6.4.1 In vivo ラットにおける E/Z 異性体相互変換 42
6.4.2 リルザブルチニブ投与後の E/Z 異性体相互変換 43
6.4.3 ラットに投与後の R/S 異性体相互変換 43
6.5 酵素誘導及び阻害 44
7 消失及び排泄 45
7.1 消失半減期 45
7.2 マスバランス試験 45
7.3 乳汁中排泄 46
8 薬物動態学的薬物相互作用 47
9 その他の薬物動態試験 48
10 考察及び結論 49
参 考 文 献 52

表 目 次

表 1 - Assay methods for quantification of rilzabrutinib and its metabolites 11

表 2 - Stability of rilzabrutinib in plasma samples for the different bioanalytical assays 13

表 3 - Summary of mean plasma PK parameters of rilzabrutinib calculated from plasma concentrations following a single oral or intravenous administration of rilzabrutinib in animals 16

表 4 - Toxicokinetic parameters for rilzabrutinib after a single oral dose in rats (Study DVR0178) 18

表 5 - Toxicokinetic parameters for rilzabrutinib after a single oral dose in dogs (Study DVR0179) 19

表 6 - Pharmacokinetic/Toxicokinetic parameters of rilzabrutinib in GLP repeat-dose rat studies 23

表 7 - Toxicokinetic parameters of rilzabrutinib in GLP repeat-dose dog studies 26

表 8 - [^{14}C]-rilzabrutinib-derived radioactivity in the tissues (and/or contents) of rats after a single oral dose of [^{14}C]-rilzabrutinib at 40 mg/kg 31

表 9 - Concentration of rilzabrutinib in CSF and plasma of female Wistar Han rats following oral dosing at 50 mg/kg 34

表 10 - Summary of key radiolabeled metabolites detected in human plasma of mass balance study with corresponding alternative identifier used in other studies 37

表 11 - In vitro metabolic stability of rilzabrutinib in liver microsomes, S9 liver fractions, and cryopreserved hepatocytes from several species 38

表 12 - Excretion of radioactive material after a single oral dose of [^{14}C]-rilzabrutinib to rats 45

図　目　次

図 1 - Proposed metabolic scheme of rilzabrutinib in animal species and in humans in vivo and in vitro.... 36

略号と用語の定義

ADME	吸収、分布、代謝及び排泄（Absorption, distribution, metabolism, and excretion）
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve）
AUC_{0-24}	投与開始（時間 0）から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours）
AUC_{inf}	投与開始（時間 0）から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity）
AUC_{last}	投与開始（時間 0）から最終濃度測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve from time zero to last measurable concentration）
BTK	ブルトン型チロシンキナーゼ（Bruton’s tyrosine kinase）
C_0	投与後 0 時間濃度（Concentration at naught conditions）
CL	クリアランス（Clearance）
C_{max}	最高血漿中濃度（Maximum plasma concentration）
CSF	脳脊髄液（Cerebro-spinal fluid）
CYP	シトクロム P450（Cytochrome P450）
DMSO	ジメチルスルホキシド（Dimethyl sulfoxide）
EDTA•2K	エチレンジアミン四酢酸二カリウム塩（Dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid）
GD	妊娠 X 日（Gestation day）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practices）
HPLC/MS/MS	高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析（High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry）
IJ	空腸内（Intra-jejunal）
IS	内部標準物質（Internal standard）
IV	静脈内（Intravenous）
LE	Long-Evans
LLOQ	定量下限（Lower limit of quantification）
LSC	液体シンチレーションカウンター（Liquid scintillation counter）
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen）
NOAEL	無毒性量（No-observed-adverse-effect-level）

PK	薬物動態（Pharmacokinetics）
PO	経口（Oral）
QC	品質管理（Quality control）
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー（Quantitative whole-body radiography）
SCN	チオシアネート（Thiocyanate）
$t_{1/2}$	消失半減期（Half life）
TK	トキシコキネティクス（Toxicokinetics）
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間（First time to reach C_{max}）
V_z	最終相での分布容積（Volume of distribution）

1　まとめ

可逆的共有結合型ブルトン型チロシンキナーゼ（BTK）阻害薬であるリルザブルチニブ（rilzabrutinib［国際一般名］、SAR444671 又は PRN1008 の名称も使用されている）の薬物動態（PK）特性について、多岐にわたる in vivo 及び in vitro 試験で評価した。ラット及びイヌを用いた医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用の単回及び反復投与試験、並びにラット及びウサギを用いた GLP 適用の胚・胎児発生に関する試験で採取した PK 又はトキシコキネティクス（TK）評価用試料について、バリデート済みの分析法を用いて分析した。その他の試験全てでは、バリデーションは行っていないが、クオリファイされた生体試料分析法を用いて PK データを収集した。イヌを用いた 9 か月間反復投与毒性試験を除き、TK 評価を行った全ての試験において、動物には媒体としてクエン酸水溶液を用いてリルザブルチニブを強制経口（PO）投与した。イヌを用いた 9 か月間反復投与毒性試験では、リルザブルチニブカプセル（[redacted]、[redacted]及び[redacted]）を PO 投与したところ、カプセル製剤は液体製剤よりも忍容性が良好であり、液体製剤と同等の曝露量を示すことが明らかになった。

ラット、イヌ及びカニクイザルを用いたリルザブルチニブの単回投与 PK 試験において、リルザブルチニブは速やかに吸収された後、比較的短い消失半減期（$t_{1/2}$）（0.6～2.6 時間）で速やかに消失する［クリアランス（CL）値は 22.8～65.9 L/h で、肝血流量と同等又はそれ以上］という特徴を示した（表 3）。ラット及びイヌに用量 20 及び 100 mg/kg を単回投与したとき（5 倍の用量増加）、最高血漿中濃度（C_{max}）及び投与開始（時間 0）から最終濃度測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）は用量比を上回る増加を示し、PO 投与時のバイオアベイラビリティは用量 20 及び 100 mg/kg で平均して、それぞれ 7.5～12.3%及び 28.2～52.7%の範囲であった。カニクイザルを用いた試験では、検討した 5 倍の用量範囲で PO 投与時のバイオアベイラビリティはほとんど変化がみられなかった。ラット及びイヌに反復投与したときのリルザブルチニブの C_{max} はおおむね用量比例性を示すか又は用量比を下回る増加を示し、いずれの動物種でも雌の C_{max} の方が雄より高かった。カニクイザルに PO 投与したときのバイオアベイラビリティが低かったことから（用量 100 mg/kg で 3.8%、イヌでは 28.2%）、全ての毒性試験で使用する非げっ歯類動物種としてイヌを選択した。

動物種全体を通して、タンパク結合率は高く（95%超）、血液／血漿中濃度比から、血漿中濃度の方が約 2 倍高いことが示された。全体として、イヌ及びラットにリルザブルチニブを静脈内（IV）投与したときの最終相での分布容積（V_z）は大きく、血液量の 13～20 倍であった。ラットに[^{14}C]-リルザブルチニブを PO 投与したときの分布は良好であり、全ての時点で、大部分の組織中濃度は血中濃度と同等又は僅かに低い程度であった。放射能の大部分は排泄器官及び消化管に分布し、168 時間後まで完全に消失することはなかった。Long-Evans（LE）ラットに[^{14}C]-リルザブルチニブを投与したとき、脳及び脊髄組織中の放射能濃度は全ての時点で定量下限（LLOQ）未満であった。Sprague Dawley ラットでは、脳又は脊髄組織中に低濃度の放射能が点在的に認められた。追加試験の結果から、脳及

び脊髄中のリルザブルチニブ並びに代謝物 PRN834 及び PRN618 濃度は LLOQ 未満であることが示された。また、ラットを用いて別途実施した試験において、脳脊髄液（CSF）中にリルザブルチニブ、PRN834 及び PRN618 は検出されないことが明らかになった。これらのデータ及びリルザブルチニブの物理化学的特性から判断して、リルザブルチニブが血液脳関門を透過する可能性は低いと考えられる(1)(2)。

ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において、リルザブルチニブは速やかに代謝物 PRN618 及び PRN834 に変換されることが明らかになった。一方、放射性標識[^{14}C]-リルザブルチニブを用いたヒト吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）試験では、別の代謝物 PRN4400（チオシアネート、SCN）も同定された（Module 5.3.1.1-1 [PRN1008-015]）。最終的に、このヒトマスバランス試験で PRN4400 が主要代謝物（総血漿中放射能の 90%超を占める）であると特定された。この代謝物 PRN4400 は、非放射性標識化合物を用いた in vitro 代謝試験では同定されなかったが、おそらくこれはその物理化学的特性、並びに無処置動物及びヒトの血漿試料中に内因性化合物としてチオシアネートが存在していたことによるものと考えられた。追加試験により、ラットでも PRN4400 が生成することが確認された。定常状態における PRN4400（すなわち、チオシアネート）の血漿中濃度を確認するため、ラットを用いてブリッジング PK 試験を実施した。その結果、ラットにリルザブルチニブ 500 mg/kg を投与したときの PRN4400 曝露量は、ヒト被験者に用量 400 mg を 1 日 2 回投与したときに認められた定常状態での曝露量と同等又はそれ以上であることが明らかになった。最後に、実施した in vitro 及び in vivo 代謝試験のいずれにおいても、ヒト特異的代謝物は検出されなかった。リルザブルチニブの代謝経路を図 1 に示すとともに、対応する同定済み代謝物を要約して表 10 に示す。

In vitro 試験において、血液、血漿及び胃液／腸液中でリルザブルチニブは安定であることが立証された。肝 S9 画分、肝ミクロソーム及び肝細胞を用いたリルザブルチニブの in vitro 代謝試験より得られた代謝クリアランスは、全ての動物種で肝血流量を上回る値に相当することが明らかになった（表 11）。肝細胞内へのリルザブルチニブの取り込みに肝トランスポーターは関与せず、また、リルザブルチニブは主にシトクロム P450 3A4（CYP3A4）によって代謝される。ラット、イヌ及びヒトで認められた in vivo 加水分解代謝物（PRN834）は、肝外代謝により生成すると考えられる。シトクロム P450 を介した代謝及びトランスポーター活性並びにこれらに対する阻害及び誘導に関するヒト生体試料のみを用いた詳細な情報は、Module 2.7.2 [2.2 項]に記載されている。

リルザブルチニブは異性体の E 体と Z 体の混合物であり、[redacted]体が主要成分である（約[redacted]%）。E/Z 異性体及び R/S 鏡像異性体プロファイリングから、毒性試験用動物種では、E/Z 異性体及び R/S 鏡像異性体がヒトでの曝露量範囲を上回る曝露量で認められることが明らかになった。ラットに PO 投与すると、[redacted]体は[redacted]体に変換されることが明らかになった。

2 分析法

2.1 GLP 適用非臨床試験における血漿中リルザブルチニブ濃度測定法の概要

PK 試験でリルザブルチニブ及びその代謝物を定量するために使用した生体試料分析法を要約して表 1 に示す。

表 1 - Assay methods for quantification of rilzabrutinib and its metabolites

Method Report Number	Method of Analysis	Analyte(s)	Species Matrix	Assay range (ng/mL)	Nonclinical Studies	Location
[PDV0226]	HPLC/MS/MS (validated)	rilzabrutinib	Rat Plasma	1 - 1000	DVR0178, DVR0174	4.2.2.1-1
[DVR0506]	HPLC/MS/MS (validated)	rilzabrutinib, PRN618, PRN834	Rat Plasma	1 - 1000	1281-21219, DVR0207, DVR0376, DVR0378	4.2.2.1-2
[AV21-244]	HPLC/MS/MS (validated)	PRN4400	Rat Plasma	1000 - 50000	1281-21219	4.2.2.1-3
[DVR0508]	HPLC/MS/MS (validated)	rilzabrutinib, PRN618, PRN834	Rabbit Plasma	1 - 1000	DVR0379	4.2.2.1-4
[DVR0161]	HPLC/MS/MS (validated)	rilzabrutinib	Dog Plasma	1 - 1000	DVR0179, DVR0184	4.2.2.1-5
[DVR0507]	HPLC/MS/MS (validated)	rilzabrutinib, PRN618, PRN834	Dog Plasma	1 - 1000	DVR0206, DVR0377	4.2.2.1-6

Abbreviations: HPLC/MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry

GLP 適用の単回投与毒性試験及び 28 日間反復投与毒性試験では、[redacted]が開発し、ラット及びイヌ血漿でバリデーションを行った高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析（HPLC/MS/MS）法（ラット：Module 4.2.2.1-1 [PDV0226]、イヌ：Module 4.2.2.1-5 [DVR0161]）を用いて、リルザブルチニブ濃度を測定した。さらに、代謝物 PRN834 及び PRN618 の血漿中濃度も含めて測定できるように、[redacted]はこれらの生体試料分析法の改良及びバリデーションを行い、ラット及びイヌ用の分析法（それぞれ Module 4.2.2.1-2 [DVR0506]及び Module 4.2.2.1-6 [DVR0507]）を開発し、これらの方法により、ラット及びイヌを用いた GLP 適用の長期反復投与毒性試験（それぞれ 13 週間及び 6 か月間、並びに 13 週間及び 9 か月間）で得られた TK 評価用試料の分析を行った。これと同じラット血漿中リルザブルチニブ、PRN834 及び PRN618 濃度分析法（Module 4.2.2.1-2 [DVR0506]）を用いて、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験で得られた試料の分析も行った。このラット生体試料を用いた分析法を基礎として、ウサギ血漿中のリルザブルチニブ、PRN834 及び

PRN618 濃度分析法を開発した（Module 4.2.2.1-4 [DVR0508]）。さらにこの方法は、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験で得られた試料の分析にも使用した。使用する方法に応じて、PRN1373（重水素標識リルザブルチニブ［PRN1008-d5］）、PRN1374（PRN834-d5、PRN1374-d5）及び PRN1857（PRN618-d5、PRN1875-d5）を内部標準物質（IS）として使用した。GLP 適用試験で得られた血漿試料の分析用に開発したこれらの生体試料分析法は、米国食品医薬品局ガイダンス「Bioanalytical Method Validation」2018 (3)に記載されている全てのバリデーション合格基準を満たしていた。

2.2 血漿中リルザブルチニブ及び代謝物の濃度測定法

アセトニトリルを用いる除タンパク法及び HPLC/MS/MS 法を用いて、ラット、ウサギ及びイヌ血漿中のリルザブルチニブ、PRN834 及び PRN618（必要な場合）の濃度を測定した。Supelco 社製 Discovery HS-C18、3 µm HPLC カラム（2.1 x 50 mm）を装着した HPLC/MS/MS に抽出液の一部を注入し、リルザブルチニブ、PRN834 及び PRN618（必要な場合）、並びに IS である PRN1373（必要な場合、PRN1374 及び PRN1857）を試料抽出液中に存在する妨害物質から分離した。これらの化合物（リルザブルチニブ並びに必要な場合は PRN834 及び PRN618）のプロダクトイオンのピーク面積の、それぞれの IS のプロダクトイオンのピーク面積に対する比に基づいて測定した。ジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解した濃度 1 mg/mL のリルザブルチニブ原液（stock solution）を、エチレンジアミン四酢酸二カリウム塩（EDTA•2K）添加ラット、ウサギ又はイヌブランク血漿に添加して濃度範囲 1.00～1000 ng/mL（8 濃度、二重測定）の標準試料を調製し、検量線を作成することにより、試料中のリルザブルチニブ並びに必要な場合は PRN834 及び PRN618 を定量した。各分析時には、濃度 3.00、50.0 及び 800 ng/mL の品質管理（QC）用試料を含めることとした。いずれの測定結果についても、バリデーション時に使用した標準品ロットの純度%に関する補正を行った。DMSO を用いて調製したリルザブルチニブ原液（1 mg/mL）及び作業溶液（working solution）（1 ng/mL）、並びにアセトニトリルを用いて調製した IS PRN1373 の作業溶液（20 ng/mL）は、室温条件で最長 6 時間安定であることが明らかになった（Module 4.2.2.1-1 [PDV0226]）。また、DMSO を用いて調製した PRN834 及び PRN618 原液（1 mg/mL）は、室温条件で最長 22.3 及び 22.1 時間安定であることが明らかになった（Module 4.2.2.1-2 [DVR0506]）。DMSO を用いて調製したリルザブルチニブ、PRN834 及び PRN618 の混合作業溶液（333 µg/mL 及び 20 ng/mL）は全ての定量対象物質について、室温条件でそれぞれ最長 22.6 時間及び 22.7 時間安定であることが明らかになった（Module 4.2.2.1-2 [DVR0506]）。アセトニトリル：水（1：1）を用いて調製した PRN1373、PRN1374 及び PRN1857（IS）混合溶液（20 ng/mL）のベンチトップ安定性については、PRN1373 及び PRN1374 で最長 21.9 時間、PRN1857 で 4.3 時間安定であることが明らかになった（Module 4.2.2.1-2 [DVR0506]）。

[redacted]は、ヒト及びラットそれぞれについて、EDTA•2K 添加血漿中の不活性代謝物 PRN4400 測定用の HPLC/MS/MS 法（Module 4.2.2.1-3 [AV21-244]）を開発し、バリデーションを行った。ここでこの方法について簡単に説明する。血漿中に内因性チオシアネートが存在するため、2%ウシ血清アルブミンを添加した 5 倍リン酸緩衝生理食塩水を代替マトリックスとして使用し、検量線用

試料及び QC 試料を調製した。アセトニトリルを添加することにより、血漿試料中のタンパク質を沈殿させた後、ブロモビマンを用いて試料を誘導体化した。Discovery HS-C18 HPLC カラムを装着した HPLC/MS/MS トリプル四重極質量分析計（Sciex API5500）に抽出液の一部を注入し、PRN4400 及び IS である SCN13C15N を試料抽出液中に存在する妨害物質から分離した。PRN4400 のプロダクトイオンのピーク面積の、IS のプロダクトイオンのピーク面積に対する比に基づいて測定した。濃度範囲 1000～50000 ng/mL（8 濃度、二重測定）の検量線を用いて、ラット 14 日間ブリッジング PK 試験で得られた試料中の PRN4400 を定量した。

2.3 リルザブルチニブ及び代謝物の安定性

各生体試料分析法について、ラット、イヌ及びウサギのプール又は個別血漿を用いて、様々な濃度でリルザブルチニブ及び代謝物の安定性を評価した（表 2）。

表 2 - Stability of rilzabrutinib in plasma samples for the different bioanalytical assays

Study No.[a]	Species	Matrix	Analytes	Bench-top stability	At around -70°C	Freeze-Thaw Stability
[PDV0226]	Rat	Plasma	rilzabrutinib	up to 5 h at RT	up to 80 days	Stable up to 4 cycles
[DVR0506]	Rat	Plasma	rilzabrutinib, PRN834, PRN618	at RT up to 5 h for rilzabrutinib 6 h for PRN834, 5 h PRN618	up to 185 days	Stable up to 5 cycles
[AV21-244]	Rat	Plasma	PRN4400	up to 7.1 h at RT	up to 64 days	Stable up to 4 cycles
[DVR0508]	Rabbit	Plasma	rilzabrutinib, PRN834, PRN618	up to 4 h on ice	up to 49 days	Stable up to 3 cycles (thawed on ice)
[DVR0161]	Dog	Plasma	rilzabrutinib	up to 4 h at RT	up to 80 days	Stable up to 3 cycles
[DVR0507]	Dog	Plasma	rilzabrutinib, PRN834, PRN618	up to 5 h at RT	up to 185 days	Stable up to 5 cycles

Abbreviations: RT: Room temperature

a Study No. refers to respective assay method validation report of the bioanalytical method used to quantify rilzabrutinib and/or metabolites PRN834, PRN618, PRN4400 in plasma samples.

2.4 GLP 非適用薬物動態試験における血漿中リルザブルチニブ濃度測定法

Principia Biopharma Inc.において、HPLC/MS/MS 法を用いて、GLP 非適用の様々な PK 試験における血漿中リルザブルチニブ濃度を測定した。リルザブルチニブ（1.25～5000 ng/mL）の検量線を作成し、血漿試料に 50 ng/mL の IS（PRN1373、バリデート済みの方法で使用した上記の重水素標識リルザブルチニブ）を含むアセトニトリル 200 µL を添加することにより、除タンパクを行った。得られた混合物をボルテックス攪拌し、毎分 3700 回転で 10 分間遠心分離した。得られた上清の一部を Sciex API4000

QTrap 質量分析計に接続した島津 LC20AD HPLC システムに注入した。試料は温度 40°C の Phenomenex Gemini カラム（2.1 x 50 mm、5 µm）に注入し、流速 400 µL/min で分析した。移動相 A は 0.1%ギ酸水溶液、移動相 B は 0.1%ギ酸-アセトニトリル溶液とし、2.5 分間で移動相 B を 20～98%にするリニアグラジエント溶離を行った。感度を最大化するため、質量分析計はポジティブイオンエレクトロスプレーモードの多重反応モニタリングで操作した。

2.5　放射性標識被験物質を用いる排泄物及び組織中リルザブルチニブ濃度の測定

ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験で採取した血液、血漿及び組織試料中の放射能の分析には、サンプルオキシダイザーと液体シンチレーションカウンター（LSC）を組み合わせた GLP 非準拠の予備的な測定法を用いた。また、代謝物の分析では、LC-MS/MS 及び LSC 法を用い、それぞれ質量電荷比及び放射能を測定した。

GLP 非適用のマスバランス試験（DVR0159 試験 [表 2.6.5.13]及び[表 2.6.5.14]）で得られた排泄物及び体液試料（並びに関連する代謝ケージ試料）は、以下の方法を用いて分析した。ラットの糞は水を加えてホモジナイズし、総放射能量を測定した。各ホモジネートの総重量を測定し、一定分量（約 0.5 g）を 3 検体分採取し、重量を測定した後、Packard 社のサンプルオキシダイザーで燃焼させてから LSC 分析を行った。同様に、一定分量（約 0.100 g）の血液を 3 検体分採取し、重量を測定した後、Packard 社のサンプルオキシダイザーで燃焼させてから LSC 分析を行った。燃焼により遊離した $^{14}CO_2$ を Carbo-Sorb 及び Permafluor 溶液に捕集し、LSC 法により放射能を測定した。尿、胆汁、血漿、ケージ洗液及びケージワイプ抽出液検体は、必要に応じて解凍し、容量単位で 2 検体分を採取した。尿、胆汁、血漿、ケージ洗液及びケージワイプ抽出液の各検体に Ultima Gold シンチレーションカクテル（5 mL、PerkinElmer）を添加し、各検体を入念に混合した後、LSC 法により放射能を測定した。各検体の放射能量［カウント毎分（cpm）］は、外部標準線源法及びクエンチング補正曲線により、壊変毎分（dpm）に変換した。

この同じ試験における組織内分布の QWBA 分析には、以下の方法を使用した。凍結させた各屍体から耳介、四肢遠位部、被毛及び尾部を除去し、約 2%（重量体積比）のカルボキシメチルセルロース水性懸濁液に包埋して、ブロック凍結し、切片を作製するまで約-20°C で保存した。ブロック凍結した各屍体を約-20°C に維持したクライオミクロトームのオブジェクトステージ上に載せ、厚さマーカーとして切片作製前に凍結ブロックに包埋した 1 濃度（約 0.05 µCi/mL）の[^{14}C]-グルコース添加血漿（3 本）を用いて、切片厚に関する品質管理を行った。必要に応じて、主要な組織、臓器及び体液の全てにおける分布を測定可能な複数の矢状断面の全身切片（厚さ約 40 µm）を作製した。これらの切片を粘着テープで採取し、クライオミクロトーム内で 48 時間以上脱水した後に、台紙に載せて露光を行った。各ラットの全身切片一式を厚紙に載せ、薄いプラスチック製ラップで覆い、^{14}C-較正標準とともに ^{14}C-感応性蛍光体イメージングプレートに露光させた。イメージングプレートと切片は暗所、室温で 4 日間露光させた。Typhoon 9410 画像収集システムを用いてイメージングプレートをスキャンし、得られた画像を専用のコンピューターサーバーに保存した。定量は、MCID 画像解析ソフトウェ

ア（v. 7.0, Interfocus Imaging Ltd）を用いた画像デンシトメトリー法により、^{14}C-較正標準の積分応答（MDC/mm^2）及び名目濃度から作成した検量線を用いて行った。放射能濃度は、試料 1 g あたりの[^{14}C]-リルザブルチニブ μg 当量（μg eq./g）として表した。QWBA 法の LLOQ 及び定量上限（ULOQ）はそれぞれ 0.104 及び 4368.647 μg eq./g であった。

3 薬物動態パラメータ

Sprague Dawley ラット（DVR0077 試験 [表 2.6.5.3 B]）、ビーグル犬（DVR0078 試験 [表 2.6.5.3 B]）及びカニクイザル（DVR0080 試験 [表 2.6.5.3 B]）にリルザブルチニブを単回 PO 及び IV 投与したときの PK パラメータを要約して以下の表 3 に示す。ラット、イヌ及びカニクイザルを用いて、単回 IV 投与に続いて、用量 20 又は 100 mg/kg のリルザブルチニブ遊離塩基をクエン酸水溶液を媒体として PO 投与し、バイオアベイラビリティを評価した（表 3）。カニクイザルに PO 投与したときの総曝露量及びバイオアベイラビリティが低かったため、げっ歯類以外の毒性試験用動物種としてイヌを選択した。

表 3 - Summary of mean plasma PK parameters of rilzabrutinib calculated from plasma concentrations following a single oral or intravenous administration of rilzabrutinib in animals

Species	Sex	Route	Dose (mg/kg)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	$t_{1/2z}$ (h)	AUC (ng•h/mL)	V_z (L/kg)	CL (L/h.kg)	%F (%)	Study
Rat	F	IV	2	NA	1608	0.6	505	0.33	65.9	NA	
	F	PO	20	0.5	270	1.5	622			12.3	DVR0077
	F	PO	100	1.0	2795	2.6	13310			52.7	
Dog	M	IV	2	NA	2066	0.7	827	13.31	40.3	NA	
	M	PO	20	0.5	378	2.2	695			7.5	DVR0078
	M	PO	100	4.0	2050	2.0	11667			28.2	
Monkey	M	IV	2	NA	2790	0.4	1464	2.62	22.8	NA	
	M	PO	20	1.0	181	1.0	473			3.2	DVR0080
	M	PO	100	4.0	431	2.5	2772			3.8	

Abbreviations: %F: Bioavailability; AUC: Area under the plasma concentration-time curve extrapolated to infinity; CL: Clearance; C_{max}: Maximum plasma concentration; F: Female; IV: Intravenous; M: Male; NA: Not applicable; PK: Pharmacokinetic; PO: Per os; $t_{1/2z}$: Terminal half-life; t_{max}: First time to reach C_{max}; V_z: Volume of distribution
Note: Values are rounded to 3 significant figures or less.

これらの試験に加えて、毒性試験でラット及びイヌにリルザブルチニブを反復 PO 投与したときの血漿中濃度を測定し、4.2 項に示す。

4　吸収及びバイオアベイラビリティ

4.1　単回投与試験

ラット、イヌ及びサルにヒドロキシプロピル β-シクロデキストリン水溶液を媒体としてリルザブルチニブを用量 2 mg/kg で単回 IV 投与又はクエン酸水溶液を媒体としてリルザブルチニブ遊離塩基を用量 20 及び 100 mg/kg で単回 PO 投与したときの主要 PK パラメータ（バイオアベイラビリティを含む）を要約して表 3 に示す（DVR0077 試験、DVR0078 試験、DVR0080 試験 [表 2.6.5.3 B]）。さらに、CD-1 マウスを用いたリルザブルチニブの単回 PO 投与試験（DVR0406 試験 [表 2.6.5.3 A]）、並びにラット（DVR0178 試験 [表 2.6.5.3 C]）及びイヌ（DVR0179 試験 [表 2.6.5.3 C]）を用いた GLP 適用のリルザブルチニブ単回強制 PO 投与毒性試験からも PK パラメータが得られた。

4.1.1　マウス

DVR0406 試験（Module [4.2.2.2-4]）

CD-1 マウスを用いた PK 試験（18 匹／群）では、0.5%メチルセルロース水性懸濁液としてリルザブルチニブを単回強制 PO 投与した（DVR0406 試験 [表 2.6.5.3 A]）。リルザブルチニブ（[redacted]又は[redacted]製剤）を用量 100、300 又は 600 mg/kg で投与した。単回 PO 投与後、リルザブルチニブは速やかに吸収され、代謝物 PRN618 及び PRN834 が急速に生成した。全用量群を通して、各定量対象物質の最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は 0.25～1 時間の範囲であったが、例外として、300 及び 600 mg/kg 群の PRN834 の t_{max} はそれぞれ 4 及び 6 時間であった。リルザブルチニブ及び代謝物の C_{max} が用量比を下回る増加を示したことから、吸収過程における飽和の可能性が示唆された。しかし、リルザブルチニブ及び代謝物の AUC_{last} には、おおむね用量比例性が認められた。リルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の曝露量は[redacted]製剤と[redacted]製剤の間でおおむね同等であったため、[redacted]製剤の投与は困難であるという理由から、その後のマウス試験では[redacted]製剤を使用した（Module [2.6.6]）。

4.1.2　ラット

DVR0077 試験及び DVR0178 試験（Module [4.2.2.2-1]及び Module [4.2.3.1-1]）

PK 試験（DVR0077 試験 [表 2.6.5.3 B]）（表 3）では、Sprague Dawley 雌ラットにリルザブルチニブを用量 2 mg/kg で単回 IV 投与又は用量 20 及び 100 mg/kg で単回 PO 投与した。IV 投与したリルザブルチニブは速やかに消失し、CL は 66 mL/min/kg、$t_{1/2}$ は 0.6 時間、V_z は 325 mL であった（表 3）。用量 20 mg/kg を PO 投与したときのバイオアベイラビリティは中程度（12.3%）であり、t_{max} は 0.5 時間、C_{max} は 270 ng/mL と中程度、投与開始（時間 0）から無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{inf}）は 622 ng•h/mL、$t_{1/2}$ は 1.5 時間であった。また、用量 100 mg/kg を PO 投与したとき

には、C_{max}（2795 ng/mL）及び AUC_{inf}（13310 ng•h/mL）の両方で用量比を上回る増加が認められ、バイオアベイラビリティは高く（52.7%）、t_{max} は 1.0 時間、$t_{1/2}$ は 2.6 時間であった（表 3）。

雌雄の Wistar Han ラットを用いた GLP 適用の単回投与毒性試験では、TK 評価用のサテライト群動物に用量 50、150 及び 500 mg/kg のリルザブルチニブを単回強制 PO 投与した（DVR0178 試験 [表 2.6.5.3 C]）。概して、t_{max} は用量に依存せず、0.5～1 時間の範囲であった（表 4）。リルザブルチニブの血漿中曝露量に関して、検討した 10 倍の用量増加に対して、C_{max} は用量比を下回る増加を示し、AUC_{last} は用量に比例して増加した。概して、検討した全用量群で、曝露量は雄に比べて雌の方が高い傾向があり、C_{max} 平均値及び AUC_{last} 平均値はそれぞれ雄に比べて雌で 2.8～4.1 倍及び 2.0～3.3 倍高かった（表 4）。

表 4 - Toxicokinetic parameters for rilzabrutinib after a single oral dose in rats (Study DVR0178)

rilzabrutinib Dose (mg/kg)	50		150		500	
Gender	M	F	M	F	M	F
t_{max} (h)	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5	1.0
C_{max} (ng/mL)	345	1400	828	2300	812	3350
AUC_{last} (ng•h/mL)	1070	3510	5860	11900	10300	32000
$t_{1/2}$ (h)	2.58	2.98	3.14	8.38	17.3[a]	NR

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the plasma concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; M: Male; NR: Not reportable; $t_{1/2}$: Half-life; t_{max}: First time to reach C_{max}

a Half-life value should be interpreted with caution due to limited terminal phase time points.

4.1.3 イヌ

DVR0078 試験及び DVR0179 試験（Module [4.2.2.2-2]及び Module [4.2.3.1-2]）

PK 試験（DVR0078 試験 [表 2.6.5.3 B]）では、雄ビーグル犬にリルザブルチニブを用量 2 mg/kg で単回 IV 投与又は用量約 20 及び 100 mg/kg で単回 PO 投与した。IV 投与したリルザブルチニブは速やかに消失し（CL = 40.3 mL/min/kg）、$t_{1/2}$ は 0.66 時間、V_z は大きく 13313 mL であり、投与後 0 時間濃度（C_0）は 2066 ng/mL であった。用量 20 mg/kg を PO 投与したときのバイオアベイラビリティは低く（7.5%）、t_{max} は 30 分、C_{max} は 378 ng/mL、$t_{1/2}$ は 2.2 時間あった。用量 100 mg/kg を PO 投与したときには、バイオアベイラビリティは高くなり（28.2%）、t_{max} は 4 時間、C_{max} は 2050 ng/mL、$t_{1/2}$ は 2.0 時間であった（表 3）。

雌雄のビーグル犬を用いた GLP 適用の単回投与毒性試験では、用量 50、150 及び 500 mg/kg のリルザブルチニブを単回 PO 投与した（DVR0179 試験 [表 2.6.5.3 C]）。t_{max} 値にばらつきが認められ、雄では 0.3～1.0 時間、雌では 0.55～3 時間であった。リルザブルチニブの血漿中曝露量（C_{max} 及び AUC_{last} 平均値）は、検討した 10 倍の用量範囲で、用量比を下回る増加を示した。しかし、低用量 2 群（50 及び 150 mg/kg）の雌では、曝露量は用量比を上回る増加を示した。平均 $t_{1/2}$ は低用量～中用量群で僅かに延長したが、高用量群でさらに大きく延長することはなかった。高用量 2 群（150 及び 500 mg/kg）

の血漿中曝露量を比較したとき、性差が認められ、雄に比べて雌で曝露量が高い傾向があり、C_{max} 平均値及び AUC_{last} 平均値は雄に比べて雌でそれぞれ 1.6～4.1 倍及び 3.5～6.9 倍高かった（表 5）。

表 5 - Toxicokinetic parameters for rilzabrutinib after a single oral dose in dogs (Study DVR0179)

rilzabrutinib Dose (mg/kg)	50		150		500	
Gender	M	F	M	F	M	F
t_{max} (h)	0.95	0.55	0.30	1.4	0.95	3.0
C_{max} (ng/mL)	566	448	485	1990	606	998
AUC_{last} (ng•h/mL)	1460	902	1250	8580	1770	6120
$t_{1/2}$ (h)	1.23	1.43	1.80	2.48	1.89	2.51

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the plasma concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; M: Male; $t_{1/2}$: Half-life; t_{max}: First time to reach C_{max}

4.1.4 カニクイザル

DVR0080 試験（Module [4.2.2.2-3]）

PK 試験（DVR0080 試験 [表 2.6.5.3 B]）では、雄カニクイザルに用量 2 mg/kg のリルザブルチニブを IV ボーラス投与した。1 週間のウォッシュアウト期間後、これらのサルに用量 20 mg/kg のリルザブルチニブを単回強制 PO 投与した。用量 100 mg/kg を PO 投与したときの評価を行うため、別途試験を実施した。カニクイザルに IV 投与（2 mg/kg）したリルザブルチニブは速やかに消失し、消失速度は肝血流量の約半分（CL = 23 mL/min/kg）、$t_{1/2}$ は 0.4 時間、V_z は中程度（2618 mL）であり、C_0 は 2790 ng/mL であった。リルザブルチニブ（20 及び 100 mg/kg）を PO 投与したときのバイオアベイラビリティは低く（それぞれ 3.2%及び 3.8%）、t_{max} はそれぞれ 1 及び 4 時間であった。また、20 及び 100 mg/kg 投与時それぞれで、C_{max} は 181 及び 431 ng/mL、AUC_{inf} は 473 及び 2772 ng•h/mL であった（表 3）。

4.2 反復投与試験

4.2.1 ラット

GLP 適用のラット毒性試験で得られた TK パラメータ（表 6）に加えて、リルザブルチニブの ADME 特性について理解を深めるため、2 件の PK 試験を実施した。すなわち、リルザブルチニブの初回通過効果についてさらに理解するため、強制 PO 投与と空腸内（IJ）投与を比較した試験（DVR0219 試験 [表 2.6.5.4 A]）、並びに単回投与後及び定常状態における代謝物（PRN4400）の曝露情報を得ることを目的としたブリッジング PK 試験であった（1281-21219 試験 [表 2.6.5.4 B]）。また、GLP 適用のラット 28 日間、13 週間及び 6 か月間反復投与毒性試験でリルザブルチニブを 1 日 1 回 PO 投与したときの TK を評価した（DVR0174 試験 [表 2.6.5.4 C]、DVR0207 試験 [表 2.6.5.4 D]及び DVR0376 試験 [表 2.6.5.4 E]）。

全ての試験において、リルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の曝露量は雄ラットに比べて雌ラットで高かった。概して、リルザブルチニブの t_{max} は用量及び投与日に関係なく、0.5～2 時間の範囲であった。リルザブルチニブを単回及び反復 PO 投与した全てのラットで、リルザブルチニブ並びに

代謝物 PRN618 及び PRN834 の全身曝露が確認された。連日反復投与したとき、蓄積は限定的であった（おおむね 2 倍未満）。さらに、C_{max} 平均値は用量比を下回る増加を示したが（10 倍の用量増加で 4 倍未満～5 倍の増加）、AUC_{last} 値は用量にほぼ比例して増加した。

4.2.1.1 3 日間空腸内投与 PK－薬力学試験

DVR0219 試験（Module [4.2.1.2-5]）

この PK 試験では、Wistar Han 雌ラットに用量 50 及び 100 mg/kg/日のリルザブルチニブを 1 日 1 回 3 日間 PO 又は IJ 投与した（DVR0219 試験 [表 2.6.5.4 A]）。IJ 投与経路は、胃酸曝露を避けたときの影響を理解するために実施した。3 回目の投与後、PK 評価のため血液試料を採取した。50 mg/kg/日群の t_{max} は、PO 及び IJ 投与後でそれぞれ 0.5 及び 1 時間であった。50 mg/kg/日投与群の C_{max} 値は、PO 及び IJ 投与後でそれぞれ 461 及び 1310 ng/mL、AUC_{inf} 値は 1490 及び 2910 ng•h/mL であった。また、100 mg/kg/日投与群の t_{max} は、PO 及び IJ 投与後でそれぞれ 0.5 及び 2 時間であった。C_{max} 値は、PO 及び IJ 投与後でそれぞれ 978 及び 5570 ng/mL、AUC_{inf} 値は 3730 及び 26600 ng•h/mL であった。全体として、50 及び 100 mg/kg/日投与群の曝露量は PO 投与後に比べて IJ 投与後で高く、C_{max} 及び AUC_{inf} 値はそれぞれ 2.84～5.70 倍及び 1.95～7.13 倍高値を示した。

4.2.1.2 GLP 適用 2 週間経口投与ブリッジング薬物動態試験

1281-21219 試験（Module [4.2.2.2-5]）

この GLP 適用のブリッジング PK 試験（1281-21219 試験 [表 2.6.5.4 B]）の目的は、毒性試験用動物種において PRN4400 が in vivo 生成することを立証し、ヒトで認められた曝露量データと比較するための曝露量データを収集することであった。そのため、雌雄の Wistar Han ラットに用量 150 及び 500 mg/kg/日のリルザブルチニブを 1 日 1 回 14 日間強制 PO 投与し、リルザブルチニブ並びにその代謝物 PRN4400、PRN834 及び PRN618 の全身曝露量を評価した。

リルザブルチニブ並びに代謝物 PRN834 及び PRN618 に関するこの試験の結果は、これらの用量で過去に実施した GLP 適用試験の結果とおおむね非常に類似していた（表 6）。不活性代謝物である PRN4400（チオシアネート）は、環境的要因（すなわち、タバコの煙の曝露）によって生じる可能性がある通常の生理学的血清成分でもあり、ベースライン試料中にチオシアネートが存在していた。

1 日目における PRN4400 のベースライン濃度範囲は 1130～2660 ng/mL であった。リルザブルチニブ投与後の t_{max} 値は全ての用量群を通して 0.5～24 時間の範囲であった。雌雄の 1 日目及び 14 日目の PRN4400 の曝露量は、両用量でおおむね類似していた（差は 2 倍未満）。雌雄を通して、150 mg/kg/日群で PRN4400 の全身蓄積は認められなかったが、500 mg/kg/日群では蓄積が認められた。C_{max} 及び AUC_{last} に基づく蓄積比（ベースライン補正なし）は、150 mg/kg/日群で 2.0 未満、500 mg/kg/日群では 2.0 超であった。

定常状態（14 日目）における雌及び雄の PRN4400 の C_{max} 平均値（ベースライン補正なし）はそれぞれ 150 mg/kg/日群で 3170 及び 4860 ng/mL、500 mg/kg/日群で 7160 及び 8020 ng/mL であった。14 日目の雌及び雄の PRN4400 の AUC_{last} 値はそれぞれ 150 mg/kg/日群で 58100 及び 96200 ng•h/mL、500 mg/kg/

日群で 149000 及び 184000 ng•h/mL であった。代謝物／未変化体比が 5.61～125 の範囲であることに基づき、PRN4400 は PRN834 及び PRN618 に比べて非常に速い速度で生成すると考えられた。

4.2.1.3 GLP 適用 4 週間経口投与毒性試験

DVR0174 試験（Module [4.2.3.2-3]）

この GLP 適用の 4 週間毒性試験では、TK 解析用のサテライト群動物に用量 50、150 及び 500 mg/kg/日のリルザブルチニブを 26 日間連日強制 PO 投与した（DVR0174 試験 [表 2.6.5.4 C]）。概して、t_{max} 値は用量及び性別に依存しないと考えられ、0.5～1.0 時間の範囲であった。同様に $t_{1/2}$ 値は 1.5～10 時間の範囲であり、用量に依存しないと考えられた。

概して、リルザブルチニブの C_{max} 値は、検討した 10 倍の用量範囲に対して 4 倍以下という用量比を下回る増加を示し（表 6）、AUC_{last} 値は用量に比例して増加した。26 日目の曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）を 1 日目と比較した結果、リルザブルチニブの蓄積はないか、又は限定的であったが、例外として、500 mg/kg/日群の雄では AUC_{last} が 1.9 倍増加した。両試料採取日において、全ての用量を通して、雄に比べて雌で高い血漿中曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）が認められ、雄に比べて C_{max} 値は 1.7～3.1 倍高く、AUC_{last} 値は 1.7～2.5 倍高かった（表 6）。

この試験で決定した無毒性量（NOAEL：500 mg/kg/日）における 26 日目の C_{max} 値は雄及び雌でそれぞれ 2350 及び 4270 ng/mL、AUC_{last} 値は 23200 及び 39900 ng•h/mL であった。

4.2.1.4 GLP 適用 13 週間経口投与毒性試験

DVR0207 試験（Module [4.2.3.2-4]）

この GLP 適用の 13 週間毒性試験では、TK 解析用のサテライト群動物に用量 50、150 及び 500 mg/kg/日のリルザブルチニブを強制 PO 投与した（DVR0207 試験 [表 2.6.5.4 D]）。リルザブルチニブを単回及び反復 PO 投与した全てのラットで、リルザブルチニブ並びにその代謝物 PRN618 及び PRN834 の全身曝露が確認された。コンポジット解析で得られたリルザブルチニブ及び PRN618 の t_{max} 平均値は 0.25～1.0 時間の範囲であり、用量及び投与日に依存しないと考えられたが、PRN834 の t_{max} 値は 1.0～4.0 時間の範囲であった。

概して、リルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の C_{max} 平均値は用量増加に伴って、用量比を下回る増加を示したが（10 倍の用量増加に対して 5 倍未満の増加）、AUC_{last} 値は 10 倍の用量範囲全体でほぼ用量に比例して増加（4.2～14 倍）した（表 6）。

雄に比べて雌で C_{max} 平均値は 0.9～3.8 倍高く、AUC_{last} 平均値は 1.0～4.3 倍高かった（表 6）。91/92 日目と 1 日目を比較した結果、全用量で性別に関係なく、リルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の C_{max} 値はそれぞれ 2.3、3.7 及び 1.9 倍以内であり、AUC_{last} 値は 2.2、2.5 及び 2.4 倍以内であった。

この試験で決定した NOAEL（150 mg/kg/日）における 91/92 日目の曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）は、雄でそれぞれ 1400 ng/mL 及び 8450 ng•h/mL、雌で 3220 ng/mL 及び 17000 ng•h/mL であった（表 6）。

4.2.1.5 GLP 適用 6 か月間経口投与毒性試験

DVR0376 試験（Module [4.2.3.2-5]）

この GLP 適用の 6 か月間毒性試験では、用量 15、50、150 及び 300 mg/kg/日のリルザブルチニブを強制 PO 投与した（DVR0376 試験 [表 2.6.5.4 E]）。全ての用量、全ての試料採取日で、投与したリルザブルチニブは速やかに吸収され、雌雄両方で t_{max} 平均値は 0.50～1.0 時間の範囲であった。代謝物 PRN618 及び PRN834 が血漿中に速やかに出現し、雄及び雌の t_{max} 平均値は概して 0.50～8.0 時間の範囲であり、PRN834 の t_{max} 値は、高用量ほど高値を示した。

リルザブルチニブの $t_{1/2}$ は概して短く、全群を通して平均で約 3 時間（範囲：1.43～7.74 時間）であり、性別、用量及び投与日による明白な影響はなかった。代謝物の平均 $t_{1/2}$ 値は、PRN618 で 5.78 時間（範囲：1.62～10.8 時間）、PRN834 で 4.31 時間（範囲：2.46～6.53 時間）であった。6 か月間反復投与しても、リルザブルチニブ並びにその代謝物 PRN618 及び PRN834 に一貫した蓄積はほとんど又は全く認められなかった。用量増加及び反復投与により、両代謝物の代謝物／未変化体比が顕著に変化することはなかった。蓄積に関して、明らかな性別及び用量依存性は認められなかった。

全体的に、リルザブルチニブの単回又は反復投与後の全身曝露量は用量依存的に増加することがデータから明らかになったが、用量範囲全体を通して、リルザブルチニブ及びその代謝物の C_{max} 及び投与開始（時間 0）から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-24}）の増加に厳密な用量比例性は認められなかった（表 6）。

この試験で決定した雄の NOAEL（150 mg/kg/日）における 182 日目の全身曝露量は、C_{max} が 1170 ng/mL、AUC_{0-24} が 6860 ng•h/mL であり、雌の NOAEL（50 mg/kg/日）における 182 日目の全身曝露量は、C_{max} が 2010 ng/mL、AUC_{0-24} が 5760 ng•h/mL であった（表 6）。

表 6 - Pharmacokinetic/Toxicokinetic parameters of rilzabrutinib in GLP repeat-dose rat studies

Study Number	Treatment Duration	Route	PK/TK Parameter	Dose (mg/kg/day)										NOAEL (mg/kg/day)	
				15		50		150		300		500			
				M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
1281-21219 [表 2.6.5.4 B]	14-day	PO (gavage)	C_{max} (ng/mL)	NA	NA	NA	NA	801	1730	NA	NA	1720	4070	NA	NA
			AUC_{last} (ng•h/mL)	NA	NA	NA	NA	5250	13200	NA	NA	18200	37300		
DVR0174 [表 2.6.5.4 C]	4-week	PO (gavage)	C_{max} (ng/mL)	NA	NA	602	1650	1450	3460	NA	NA	2350	4270	500	500
			AUC_{last} (ng•h/mL)	NA	NA	1540	3490	5420	13600	NA	NA	23200	39900		
DVR0207 [表 2.6.5.4 D]	13-week	PO (gavage)	C_{max} (ng/mL)	NA	NA	715	2690	1400	3220	NA	NA	2350	5730	150	150
			AUC_{last} (ng•h/mL)	NA	NA	2170	3120	8450	17000	NA	NA	21300	34700		
DVR0376 [表 2.6.5.4 E]	6-month	PO (gavage)	C_{max} (ng/mL)	258	304	606	2010	1170	3440	2300	4950	NA	NA	150	50
			AUC_{last} (ng•h/mL)	394	721	2060	5760	6860	14100	17800	27200	NA	NA		

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the plasma concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; M: Male; NA: Not applicable; NOAEL: No-observed adverse effect level; PK: Pharmacokinetic; PO: Oral; TK: Toxicokinetics

Note: Values shown here represent means on last PK/TK sampling on Day 14, Day 26, Day 91/92, and Day 182 for studies 1281-21219, DVR0174, DVR0207, and DVR0376, respectively.

4.2.2 イヌ

GLP 適用の 28 日間、13 週間及び 9 か月間反復投与毒性試験において、ビーグル犬にリルザブルチニブを 1 日 1 回反復 PO 投与したときの TK を評価した（DVR0184 試験 [表 2.6.5.4 F]、DVR0206 試験 [表 2.6.5.4 G]及び DVR0377 試験 [表 2.6.5.4 H]）。

4.2.2.1 GLP 適用 4 週間経口投与毒性試験

DVR0184 試験（Module [4.2.3.2-9]）

この GLP 適用の 4 週間毒性試験では、ビーグル犬に用量 30、100 及び 300 mg/kg/日のリルザブルチニブを 28 日間（雄）又は 29 日間（雌）1 日 1 回強制 PO 投与した（DVR0184 試験 [表 2.6.5.4 F]）。単回及び反復投与した全てのイヌでリルザブルチニブの全身曝露が確認された。全体として、t_{max} 値は 0.25～2.0 時間の範囲であり、用量及び投与日に依存しないと考えられた。$t_{1/2}$ 平均値は雄と雌及び 1 日目と 25 日目で類似し、1.03～3.58 時間の範囲であった。

用量範囲全体を通して、リルザブルチニブの C_{max} 及び AUC_{last} 平均値は概して用量比を下回る増加を示し、100 及び 300 mg/kg/日群間で C_{max} が顕著に増加することはなかった。用量 100 及び 300 mg/kg/日の反復投与により、曝露量は僅かに増加すると考えられ、C_{max} に基づく蓄積比は、雌で 0.85～1.6 倍、雄で 0.96～2.5 倍であり、AUC_{last} に基づく蓄積比は、雌で 0.46～3.1 倍、雄で 1.0～2.9 倍であった。C_{max} 値に一貫した性差はみられなかった。ただし、概して雄に比べて雌で AUC_{last} 平均値は高かったが、その差はおおむね 2 倍未満であった（表 7）。

この試験で決定した NOAEL（300 mg/kg/日）における 25 日目の C_{max} 値は雄及び雌でそれぞれ 1440 及び 1380 ng/mL、AUC_{last} 値は 4550 及び 7480 ng•h/mL であった。

4.2.2.2 GLP 適用 13 週間経口投与毒性試験

DVR0206 試験（Module [4.2.3.2-11]）

この GLP 適用の 13 週間毒性試験では、ビーグル犬に用量 30、100 及び 300 mg/kg/日のリルザブルチニブを 13 週間にわたり 1 日 1 回強制 PO 投与した（DVR0206 試験 [表 2.6.5.4 G]）。単回及び反復投与した全てのイヌでリルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の全身曝露が確認された。300 mg/kg/日群では、摂餌低下及び顕著な体重減少が認められたため、予定外の安楽殺処置を行ったことから、この群の雄の 91 日目の TK パラメータは算出しなかった。また、高用量群の雌 3 匹を早期に安楽殺処置したため、37 日目及び 92 日目採取時の雌動物数はそれぞれ 4 匹及び 2 匹であった。

単回又は反復投与後のリルザブルチニブ及び PRN618 の t_{max} 平均値は、雌で 0.25～4.9 時間、雄で 0.3～3.3 時間であったのに対して、PRN834 の t_{max} 平均値はこれより僅かに遅く、雌及び雄で 1.6～7.4 時間の範囲であった。概して、リルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の t_{max} 値は、用量及び投与日に依存しないと考えられた。

C_{max} 及び AUC_{last} 平均値により評価されるリルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の血漿中曝露量は、検討した用量範囲で、概して用量増加に伴って用量比を下回る増加を示した。雌雄両方において、

91/92 日目のリルザブルチニブ及びその代謝物の C_{max} 及び AUC_{last} 値は、1 日目の 2.2 倍以下であった。リルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の血漿中曝露量は概して雄に比べて雌で高く、3 つの定量対象物質全てについて、C_{max} 平均値は雄に比べて雌で 0.5～3.1 倍高く、AUC_{last} 値は 0.29～5.6 倍高かった（表 7）。

この試験で決定した雄の NOAEL（30 mg/kg/日）における 91 日目の C_{max} 平均値は 592 ng/mL、AUC_{last} 平均値は 1070 ng•h/mL であった。雌では、30 mg/kg/日群で飼料補充及び休薬が必要となる 20%近い体重減少が認められたため、NOAEL を決定することはできなかった（表 7）。

4.2.2.3 GLP 適用 9 か月間経口投与毒性試験

DVR0377 試験（Module [4.2.3.2-12]）

この GLP 適用の 9 か月間毒性試験では、ビーグル犬に用量 15、30 及び 50 mg/kg/日のリルザブルチニブをカプセル剤として 274 日間（雄）又は 275 日間（雌）にわたり 1 日 1 回 PO 投与した（DVR0377 試験 [表 2.6.5.4 H]）。概して、投与した全てのイヌでリルザブルチニブ及び代謝物の全身曝露が認められたが、動物間で大きなばらつきが認められた。

PO 投与したリルザブルチニブは速やかに吸収され、t_{max} 平均値は 0.84～3.3 時間の範囲であった。投与後、両代謝物が速やかに血漿中に出現し、t_{max} 平均値は、PRN618 で 0.93～3.8 時間、PRN834 で 2.7～5.0 時間の範囲であった。血漿中リルザブルチニブ濃度は、C_{max} に達した後、徐々に低下し、24 時間後までに大部分の動物で LLOQ 未満となった。単回及び反復投与後のリルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の全身曝露量は、概して用量依存的に増加した。全ての用量で、リルザブルチニブ並びに代謝物 PRN618 及び PRN834 の蓄積はほとんど又は全く認められなかった（2 倍未満）。リルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の曝露量は雄に比べて雌で高かったが、概して 2 倍未満であった（表 7）。用量増加及び反復投与により、両代謝物の代謝物／未変化体比が顕著に変化することはなかった。

この試験で決定した NOAEL（30 mg/kg/日）における 273 日目の C_{max} 値は、雄及び雌でそれぞれ 257 及び 339 ng/mL、AUC_{last} 値は 689 及び 751 ng•h/mL であった（表 7）。

表 7 - Toxicokinetic parameters of rilzabrutinib in GLP repeat-dose dog studies

Study	Duration	Route of Administration	Dose (mg/kg/day)	15		30		50		100		300	
			TK Parameter	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
DVR0184 [表 2.6.5.4 F]	4-week	PO (gavage)	C_{max} (ng/mL)	NA	NA	514	486	NA	NA	1500	1450	**1440**	**1380**
			AUC_{last} (ng•h/mL)	NA	NA	870	942	NA	NA	5040	3210	**4550**	**7480**
DVR0206 [表 2.6.5.4 G]	13-week	PO (gavage)	C_{max} (ng/mL)	NA	NA	**592**	484	NA	NA	736	1670	NA[a]	1780
			AUC_{last} (ng•h/mL)	NA	NA	**1070**	1040	NA	NA	1980	4410	NA[a]	7350
DVR0377 [表 2.6.5.4 H]	9-month	PO (capsule)	C_{max} (ng/mL)	65.7	202	**257**	**339**	593	940	NA	NA	NA	NA
			AUC_{last} (ng•h/mL)	248	377	**689**	**751**	2410	3250	NA	NA	NA	NA

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the plasma concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; M: Male; NA: Not applicable; NOAEL: No-observed adverse effect level; PO: Oral; TK: Toxicokinetics

a High-dose males were euthanized prior to Day 91 due to clinical signs of toxicity.

Note:

- Values shown here represent those measured on Day 25, Day 91/92, and Day 273 for studies DVR0184, DVR0206, and DVR0377, respectively.
- **In bold**: NOAELs: in 4-week study 300 mg/kg/day for both, male and female dogs
  in 13-week study 30 mg/kg/day for male dogs (not determined in females)
  in 9-month study 30 mg/kg/day for both, male and female dogs

4.2.3 妊娠ラット及びウサギを用いた反復投与試験

GLP 非適用のウサギ試験（DVR0299 試験 [表 2.6.5.7 B]）並びに GLP 適用のラット及びウサギ試験（それぞれ DVR0378 試験 [表 2.6.5.7 A]及び DVR0379 試験 [表 2.6.5.7 C]）において、妊娠ラット及びウサギに器官形成期中、リルザブルチニブを投与したときの TK パラメータを評価した。これらの胚・胎児発生に関する試験では、母動物の TK のみを評価し、胎児の TK は評価しなかったことから、これらの試験については、分布に関する 5 項ではなく、本項で考察する。

4.2.3.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

DVR0378 試験（Module [4.2.3.5.2-3]）

GLP 適用の胚・胎児発生に関する本試験では、TK 評価用のサテライト群に Wistar Han 妊娠動物が含まれ、これらの動物に妊娠 7 日（GD 7）から GD 17 まで、用量 50、150 及び 300 mg/kg/日のリルザブルチニブを強制 PO 投与した（DVR0378 試験 [表 2.6.5.7 A]）。リルザブルチニブを投与した全ての母動物でリルザブルチニブ、PRN618 及び PRN834 の全身曝露が確認された。

リルザブルチニブ及び PRN618 の t_{max} 平均値は 0.5～1 時間の範囲である一方、PRN834 の t_{max} 平均値はばらつきが大きかった（範囲：0.5～8 時間）。いずれにしても、t_{max} は用量及び投与日に依存しないと考えられた。用量増加に伴って C_{max} 平均値は用量比を下回る増加を示した（6 倍の用量範囲でリルザブルチニブは約 1 倍の増加、PRN618 及び PRN834 は 3 倍未満の増加）。用量増加に伴ってリルザブルチニブの GD 7 における AUC_{last} 平均値は用量にほぼ比例して増加し、GD 17 では用量比を下回る増加を示した（6 倍の用量増加で 4 倍の増加）。PRN618 及び PRN834 の血漿中曝露量（AUC_{last}）は、いずれの定量対象物質についても、GD 7 では用量増加に伴って用量比を僅かに上回る増加を示し（6 倍の用量増加で 8～11 倍の増加）、GD 17 では用量にほぼ比例して増加した。

3 つの定量対象物質いずれについても、GD 7 から GD 17 まで反復投与しても、蓄積は認められなかった。GD 7 及び GD 17 における AUC_{last} の代謝物／未変化体比は、全用量を通して、PRN618 で 0.08～0.12、PRN834 で 0.48～0.74 の範囲であった。

この試験で決定した NOAEL（300 mg/kg/日）における GD 17 の全身曝露量は、C_{max} 値で 3260 ng/mL、AUC_{last} 値で 15800 ng•h/mL であった。

4.2.3.2 妊娠ウサギを用いた用量設定試験

DVR0299 試験（Module [4.2.3.5.2-2]）

妊娠ニュージーランドホワイト種ウサギを用いた GLP 非適用の胚・胎児発生に関する用量設定試験の一部として、TK 評価を実施した（DVR0299 試験 [表 2.6.5.7 B]）。動物には、GD 6 から GD 19 まで、用量 50、100 及び 150 mg/kg/日のリルザブルチニブを連日強制 PO 投与した。交配日を GD 0 とした。反復 PO 投与した全てのウサギでリルザブルチニブの全身曝露が確認された。t_{max} 平均値は 0.25～1.0 時間の範囲であった。概して、t_{max} 値は用量及び投与日に依存しないと考えられた。概して、リルザブルチニブの血漿中曝露量（C_{max} 及び AUC_{last} 平均値）は、50～150 mg/kg/日の範囲で用量に比例して

増加し、いずれの用量においても、GD 6 から GD 19 にかけて、C_{max} 及び AUC_{last} に顕著な変化（2 倍超）はみられなかった。

4.2.3.3 ウサギを用いた強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験

DVR0379 試験（Module [4.2.3.5.2-4]）

GLP 適用の胚・胎児発生に関する本試験では、TK 評価群に含めた妊娠ニュージーランドホワイト種ウサギに用量 10、30 及び 100 mg/kg/日のリルザブルチニブを GD 7 から GD 19 まで連日強制 PO 投与した（DVR0379 試験 [表 2.6.5.7 C]）。リルザブルチニブ及び PRN618 の t_{max} 平均値は 0.5～1 時間の範囲であった一方、PRN834 の t_{max} 値は 1.3～2.0 時間であった。3 つの定量対象物質全てで、t_{max} 値は用量及び投与日に依存しないと考えられた。両評価日において、AUC_{0-t} 及び C_{max} 平均値は用量増加に伴って用量比を上回る増加を示した（10 倍の用量増加で、リルザブルチニブは 146～416 倍、PRN618 は 54～325 倍、PRN834 は 22～61 倍）。

両評価日及び全用量を通して、算出可能な場合の $t_{1/2}$ は、リルザブルチニブで 0.6～0.8 時間、PRN618 で 1.4～3.9 時間、PRN834 で 3.5～6.5 時間の範囲であった。用量 10、30 及び 100 mg/kg/日におけるリルザブルチニブの蓄積比はそれぞれ 3.23、2.94 及び 1.76 であり、GD 7 から GD 19 まで反復投与したとき、リルザブルチニブが蓄積し、用量増加に伴って蓄積の程度が減少する可能性が示唆された。代謝物 PRN618 でも同様の蓄積パターンが認められたが、PRN834 では蓄積はみられなかった。全用量を通して、PRN618 の代謝物／未変化体比は、GD 7 及び GD 19 でそれぞれ 0.74～1.01 及び 0.86～1.47 の範囲であったのに対して、PRN834 の代謝物／未変化体比は、GD 7 及び GD 19 でそれぞれ 1.74～31.0 及び 0.95～4.31 の範囲であった。

5　分布

5.1　タンパク結合及び血球中への移行

5.1.1　平衡透析法を用いたタンパク結合率の測定

DVR0093 試験及び DVR0094 試験（Module [4.2.2.3-1]及び Module [4.2.2.3-2]）

ヒト及びラット血漿（DVR0093 試験 [表 2.6.5.6 A]）並びにイヌ及びマウス血漿（DVR0094 試験 [表 2.6.5.6 A]）中でのリルザブルチニブの in vitro タンパク結合率を、非放射性標識体を用いる平衡透析法により最終濃度 1 µmol/L（0.667 µg/mL）、37°C で測定した。陽性対照として、高い血漿タンパク結合率を有するケトコナゾールを使用した。緩衝液に対して血漿試料を 6 時間透析した。

リルザブルチニブの平均血漿タンパク結合率は、ヒトで 97.51%、ラットで 98.69%、イヌで 95.94%、マウスで 99.21%であった。しかし、ラット血漿及びマウス血漿でのリルザブルチニブ回収率はそれぞれ 45.65%及び 30.92%と低く、これはラット及びマウス血漿中でリルザブルチニブが不安定であることが原因と考えられた。事実、安定性試験で 6 時間インキュベーション後の血漿中リルザブルチニブ残存率は、ヒト血漿で 76.71%であったのに対してラット血漿では僅か 43.87%であり、また、イヌ血漿では 75.85%であったのに対してマウス血漿では僅か 35.74%であった。

5.1.2　In vitro ヒト肝ミクロソームタンパク結合率

ヒト肝ミクロソーム画分を用いて、リルザブルチニブ及びその代謝物 PRN834 のヒト肝ミクロソームタンパク質に対する結合率を平衡透析法により測定した（LRP1199 試験［Module [5.3.2.1-1]］）。詳細は Module 2.7.2 [2.2.1 項]に記載する。

5.1.3　ヒト、イヌ及びラット血球中への移行

DVR0083 試験（Module [4.2.2.3-3]）

ラット、イヌ及びヒトの血球と血漿の間での分布を測定するため、血球移行試験を実施した（DVR0083 試験 [表 2.6.5.6 B]）。ヒト、イヌ又はラット全血又は血漿中で、最終リルザブルチニブ濃度 5 µmol/L、37°C で検討した。

リルザブルチニブの血球／血漿中分布比は、ラットで 0.27、イヌで 0.40、ヒトで 0.47 であった。対照物質であるクロロキンの血球／血漿比は 10 倍以上高かった（5.07～8.19）。

5.2　QWBA 法によるラットマスバランス試験

DVR0159 試験（Module [4.2.2.5-1]）

QWBA 法によるラットマスバランス試験において、[^{14}C]-リルザブルチニブ（40 mg/kg）を単回 PO 投与後の組織（及び組織内容物）内分布挙動を評価した。QWBA 法による評価に続いて、尿、糞、胆

汁、血漿及び組織中のリルザブルチニブ由来放射能を測定した（DVR0159 試験 [表 2.6.5.5]）。この試験の排泄に関する結果は 7 項で考察する。QWBA 試験では、LE ラット（有色）及び Sprague Dawley ラット（白色）を用いた。

両ラット群の血液／血漿中濃度比から、試験の早い時点（1 及び 4 時間後）では、[^{14}C]-リルザブルチニブ由来放射能が血漿及び血液細胞画分に均等に分配され、その後、24 時間後には細胞画分への分布が増加することが明らかになった。最終時点（168 時間後）で血液／血漿中濃度比は最高値 1.55 になった。

Sprague Dawley 雄ラットにおける血漿中総放射能の C_{max} 平均値は 2.407 µg eq./mL であり、t_{max} 平均値は 4 時間であった（表 8）。平均放射能濃度は投与後 72 時間には 0.691 µg eq./mL まで減少した。血漿 AUC_{last} 平均値は 96.862 µg eq.•h/mL、総放射能の血漿中からの $t_{1/2}$ 平均値は 42.4 時間であった。

QWBA 解析から、[^{14}C]-リルザブルチニブ由来放射能の組織移行は良好であることが明らかになり、全ての時点において、両ラット系統の大部分の組織中放射能濃度は血液中濃度と同等又は僅かに低い程度であった（表 8）。両ラット系統の大部分の組織で[^{14}C]-リルザブルチニブ由来放射能の C_{max} 値は投与後 4 時間に認められ、その時点での大部分の組織中濃度は 1.0 µg eq./g 以上であった。有色 LE ラットで組織中濃度が高かった組織（最高濃度が 10.0 µg eq./g 超）は、胃、小腸、食道及び肝臓であり、低かった組織（最高濃度が 0.6 µg eq./g 未満）は、乳腺領域、骨、白色脂肪、脊髄、脳及び眼の水晶体であった。消化管内容物、膀胱内容物及び胆汁中に高い濃度が認められ、[^{14}C]-リルザブルチニブの排泄経路を反映していた（7 項）。

大部分の組織で放射能濃度は徐々に減少し、投与後 168 時間において、有色 LE ラットの 40 組織中 16 組織で LLOQ 未満であった（表 8）。試験期間中、皮膚有色部の濃度は比較的安定していたが、眼の有色組織中濃度は最後の 2 時点で約 50%減少したことから、消失が進行中であることが示唆された。LE ラットの脳及び脊髄中放射能濃度は、いずれの時点においても LLOQ 未満であり、Sprague Dawley ラットの脳又は脊髄組織では、低濃度の放射能が点在的に認められた。

非有色 Wistar Han ラットを用いて非放射性標識体による追加試験を実施し、血漿及び CSF 中濃度を測定することにより、リルザブルチニブの血液脳関門透過性を評価した。全ての時点でリルザブルチニブ及び 5 種類の代謝物（PRN618、PRN834、PRN1186、PRN835 及び PRN438）の CSF 中濃度は LLOQ 未満であった（詳細は 5.3 項）。

有色組織（すなわち、眼のブドウ膜及び皮膚有色部）中濃度は、非有色組織に比べて高く、持続性が認められたことから、[^{14}C]-リルザブルチニブ由来放射能のメラニンとの結合が示唆された。

表 8 - [^{14}C]-rilzabrutinib-derived radioactivity in the tissues (and/or contents) of rats after a single oral dose of [^{14}C]-rilzabrutinib at 40 mg/kg

Tissue Type	Tissue (or contents)	Concentrations (µg eq./g tissue)								
		Group 4: Long-Evans						Group 5: Sprague Dawley		
		Rat # 14	Rat # 15	Rat # 16	Rat # 17	Rat # 18	Rat # 19	Rat # 20	Rat # 21	Rat # 22
		0.5 h	4 h	24 h	72 h	120 h	168 h	0.5 h	4 h	24 h
Vascular/ Lymphatic	Blood (cardiac)	0.648	1.927	1.365	0.732	0.510	0.247	0.938	2.371	1.301
	Bone Marrow	0.618	1.662	0.556	0.348	0.291	0.133	0.843	2.310	0.704
	Lymph Node	0.558	1.144	0.614	0.204	0.154	BQL	0.902	1.403	0.622
	Spleen	1.123	1.925	1.113	0.414	0.293	0.197	1.677	2.577	0.998
	Thymus	0.286	0.757	0.382	0.176	0.125	BQL	0.447	0.839	0.291
Excretory/ Metabolic	Bile (in duct)	614.962	375.900	2.825	0.745	0.299	0.325	484.401	209.208	4.596
	Kidney (cortex)	2.392	2.870	1.178	0.592	0.386	0.299	2.777	5.025	1.481
	Kidney (medulla)	2.313	3.143	1.038	0.460	0.345	0.228	3.905	5.395	1.214
	Liver	19.721	29.717	5.467	3.276	2.078	1.186	33.029	38.432	6.566
	Urinary Bladder	0.578	1.577	0.982	1.053	0.328	0.212	7.600	2.359	1.551
	Urinary Bladder (contents)	1.885	4.021	0.422	0.252	0.107	0.160	2.418	18.669	0.293
Central Nervous System	Brain (cerebellum)	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.187	BQL
	Brain (cerebrum)	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.112	BQL
	Brain (medulla)	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.105	BQL
	Spinal Cord	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.108	0.154	BQL
Endocrine	Adrenal Gland	2.771	2.986	1.491	0.359	0.247	0.161	5.305	3.654	1.073
	Pituitary Gland	0.949	1.754	1.059	0.199	0.362	0.214	1.203	2.314	0.866
	Thyroid	1.400	2.879	0.983	0.501	0.295	0.314	1.598	2.192	0.984
Secretory	Harderian Gland	0.562	1.578	0.488	0.253	0.122	BQL	0.503	2.695	0.584
	Mammary Gland Region	0.354	0.597	0.567	BQL	BQL	BQL	0.787	1.451	0.605

Tissue Type	Tissue (or contents)	Concentrations (µg eq./g tissue)								
		Group 4: Long-Evans						Group 5: Sprague Dawley		
		Rat # 14	Rat # 15	Rat # 16	Rat # 17	Rat # 18	Rat # 19	Rat # 20	Rat # 21	Rat # 22
		0.5 h	4 h	24 h	72 h	120 h	168 h	0.5 h	4 h	24 h
	Pancreas	1.115	2.196	0.779	0.307	0.170	0.156	1.972	3.528	0.796
	Salivary Gland	0.980	1.478	0.529	0.260	0.154	BQL	1.220	2.183	0.537
Fatty	Adipose (brown)	0.707	3.267	0.742	0.225	0.151	BQL	2.212	5.903	0.859
	Adipose (white)	0.250	0.371	BQL	BQL	BQL	BQL	0.633	0.854	0.195
Dermal	Skin (non-pigmented)	0.330	1.240	1.114	0.153	0.337	0.122	0.440	2.504	1.397
	Skin (pigmented)	0.279	2.635	1.122	0.297	0.763	0.878	NA	NA	NA
Reproductive	Epididymis	0.195	0.908	0.609	0.194	0.127	BQL	0.229	0.990	0.353
	Prostate	0.257	0.923	0.489	0.312	0.165	0.189	0.557	1.488	0.815
	Seminal Vesicle	0.164	0.803	0.733	0.483	0.353	0.214	0.218	0.769	0.800
	Testis	BQL	0.647	0.439	0.129	0.146	0.146	BQL	0.631	0.392
Skeletal/Muscular	Bone	BQL	0.228	0.493	BQL	BQL	BQL	0.149	0.561	0.352
	Heart	0.995	1.800	0.752	0.297	0.151	0.117	1.423	2.695	0.704
	Skeletal Muscle	0.258	0.619	0.250	0.114	BQL	BQL	0.514	0.887	0.247
Respiratory	Lung	1.160	2.308	1.264	0.575	0.351	0.199	1.528	2.874	0.842
Alimentary Canal	Cecum	0.791	1.843	1.036	0.221	0.119	BQL	1.540	3.976	2.376
	Cecum (contents)	BQL	3.802	25.256	0.650	0.365	0.257	0.380	1324.023	42.052
	Colon	0.768	2.213	1.208	0.351	0.224	0.204	1.462	3.176	1.502
	Colon (contents)	NI	3.962	17.510	1.336	0.528	0.226	0.402	0.863	65.585
	Esophagus	31.908	3.972	20.684	0.426	0.491	0.839	19.765	2.018	1.076
	Oral Mucosa	1.030	0.524	1.136	0.201	0.237	BQL	7.990	1.187	0.679
	Small Intestine	232.392	33.643	2.034	0.397	0.350	0.167	104.987	212.797	3.243
	Small Intestine (contents)	1646.110	257.452	3.969	1.900	0.370	0.245	753.058	*5495.888	30.801
	Stomach (gastric mucosa)	1982.522	12.345	14.381	1.205	1.306	0.465	1105.752	23.658	6.025

Tissue Type	Tissue (or contents)	Concentrations (µg eq./g tissue)								
		Group 4: Long-Evans						Group 5: Sprague Dawley		
		Rat # 14	Rat # 15	Rat # 16	Rat # 17	Rat # 18	Rat # 19	Rat # 20	Rat # 21	Rat # 22
		0.5 h	4 h	24 h	72 h	120 h	168 h	0.5 h	4 h	24 h
	Stomach (contents)	*4447.790	136.465	29.085	6.761	6.571	4.069	4089.605	1056.749	60.209
Ocular	Eye (lens)	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Eye (uvea)	0.607	2.665	1.687	1.662	2.038	1.114	0.375	0.641	0.171

Abbreviations: BQL: Below the LLOQ; LLOQ: Lower limit of quantification; NA: Not applicable; NI: Tissue not identified during sectioning; ULOQ: Upper limit of quantification
* = value is above the ULOQ
Note: LLOQ = 0.000500 µCi/g / 0.0048008 µCi/µg = 0.104 µg eq./g tissue; ULOQ = 20.973 µCi/g / 0.0048008 µCi/µg = 4368.647 µg eq./g tissue

5.3 Wistar Han 雌ラットに経口投与後の脳脊髄液中濃度

DVR0212 試験（Module [4.2.2.7-1]）

5.2 項で説明したように、QWBA 法による組織内分布試験において、検討した非有色ラット 3 匹中 2 匹及び有色ラット 6 匹中 0 匹で脳及び／又は脊髄液中に低濃度（0.2 µg eq./g 未満）のリルザブルチニブが点在的に認められた。非有色 Wistar Han ラットを用いた追加試験を実施し、リルザブルチニブの血液脳関門透過性を評価した。この試験では、Wistar Han 雌ラット 9 匹に用量 50 mg/kg のリルザブルチニブを単回強制 PO 投与し、CSF 移行を評価した（DVR0212 試験 [表 2.6.5.17]）。ラット系統、用量及び投与製剤は、13 週間反復投与毒性試験（DVR0207 試験 [表 2.6.5.4 D]）と全く同じであった。

選択した全ての時点において、リルザブルチニブ及び 5 種類の代謝物（PRN618、PRN834、PRN1186、PRN835 及び PRN438）の CSF 中濃度は LLOQ（1.25 ng/mL）未満であった。この試験におけるリルザブルチニブの血漿中曝露量は、ラット 13 週間及び 6 か月間反復投与毒性試験（それぞれ DVR0207 試験 [表 2.6.5.4 D]及び DVR0376 試験 [表 2.6.5.4 E]）の 1 日目に認められた曝露量とおおむね類似していた（表 9）。したがって、13 週間及び 6 か月間反復投与毒性試験で 50 mg/kg 投与時に達成された曝露量と同程度の曝露量では、PRN4400 を除いて、リルザブルチニブ及びその代謝物は定量可能な濃度まで CSF へ移行しないことが明らかになった。

表 9 - Concentration of rilzabrutinib in CSF and plasma of female Wistar Han rats following oral dosing at 50 mg/kg

Study	Day	Plasma (ng/mL) [a]			CSF (ng/mL)		
		1 hour	4 hours	24 hours	1 hour	4 hours	24 hours
DVR0212 [表 2.6.5.17]	1	894 (386)	320 (61)	0.6 (1)	BLOQ	BLOQ	BLOQ
DVR0207 [表 2.6.5.4 D]	1	1010 (124)	142 (8.5)	1.5 (0.2)	-	-	-
	92	705 (203)	155 (69.6)	0 (0)	-	-	-
DVR0376 [表 2.6.5.4 E]	1	842 (96)	396 (68)	0.4 (0.6)	-	-	-
	182	1640 (NA)	312 (218)	2.4 (NA)	-	-	-

Abbreviations: BLOQ: Below limit of quantification; CSF: Cerebrospinal fluid; NA: Not applicable; SD: Standard deviation

a Means (SD)

- = not measured; BLOQ: <1.25 ng/mL

6　代謝（動物種間の比較）

6.1　推定代謝経路

様々な動物種（ラット及びイヌ）並びにヒトにおけるリルザブルチニブの代謝について、in vitro 及び in vivo で評価した。ラット、イヌ及びヒトで認められた全般的 in vivo 代謝経路の概要を図 1 に示す。さらに、様々な試験で代謝物に使用した種々の識別コードを表 10 に示す。全体として、認められたリルザブルチニブの代謝経路には、酸化、還元、加水分解、脱アルキル化及び硫酸化が含まれる。

肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた in vitro 代謝試験では、非標識リルザブルチニブを使用した。In vivo 代謝試験では、非標識リルザブルチニブ及び[^{14}C]-リルザブルチニブを使用した。動物に単回 PO 及び／又は IV 投与したときのリルザブルチニブの生体内運命を検討することに加えて、ヒト血液中の特異的／不均衡代謝物を特定することもこれらの試験の重要な目的であった。

ラット S9 画分、ミクロソーム及び肝細胞とのインキュベーションでは、加水分解生成物である代謝物 M16（PRN834）が認められなかったことから（DVR0189 試験 [表 2.6.5.9 B]）、ラットにおいて、この加水分解生成物は肝臓以外で生成するシトクロム P450 を介さない代謝物であることが示された。ラット、イヌ及びヒトで認められた in vitro 及び in vivo 代謝物を図 1 に示す。

ヒトにおいてリルザブルチニブの代謝に関与する主要分子種は CYP3A4 であることが明らかになった。シトクロム 450 に関連する情報及びヒトのみで実施された薬物相互作用（DDI）に関連する情報については、Module 2.7.2 [2.2 項]で詳細に示す。

図 1 - Proposed metabolic scheme of rilzabrutinib in animal species and in humans in vivo and in vitro

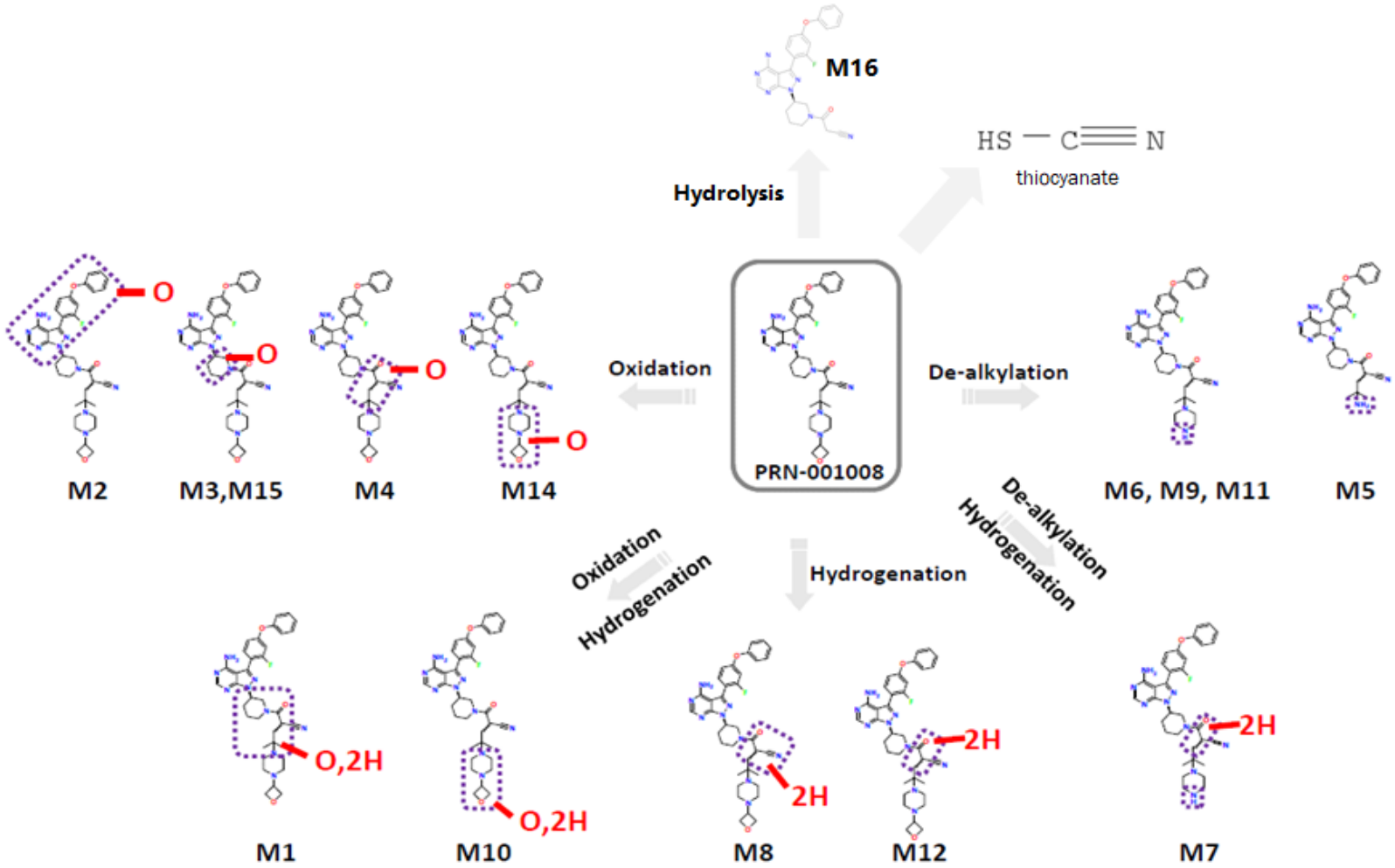


表 10 - Summary of key radiolabeled metabolites detected in human plasma of mass balance study with corresponding alternative identifier used in other studies

Code in in vivo [^{14}C] Mass balance study in human	Proposed biotransformation	Compound Identifier (Principia code)	Alternative identification	Code in in vitro studies	Code in in vivo [^{14}C] Mass balance study in rat
M1	Hydrolysis leading to thiocyanate (retro-knoevenagel)	PRN4400	Thiocyanate	-	-
M15	Sulfo-conjugation of oxy-PRN834	-	Oxy-PRN834 sulfate	-	-
M28	Dihydroxylation of PRN834	-	Dihydroxy-PRN834	-	-
M41	Hydration of PRN1008		Oxy-dihydro-PRN1008	-	-
M42	N-dealkylation on piperazine	PRN618	PRN618	M6, M9 or M11	M10, M10a or M10b
M45	Hydrolysis leading to dealkylation	PRN834	PRN834	M16	M11
PRN1008/ rilzabrutinib	Parent Drug	PRN1008	rilzabrutinib	PRN-001008	PRN1008

Note: M16 (PRN834) and thiocyanate (PRN4400) are only observed in vivo.

6.2 In vitro 代謝

ラット、イヌ及びヒトから得られた肝 S9 画分、肝ミクロソーム、肝細胞及び血漿を用いて、in vitro でのリルザブルチニブの代謝安定性を評価した。全ての動物種において、リルザブルチニブの代謝クリアランスは肝血流量を上回る値に相当することが明らかになった（表 11）。肝細胞内へのリルザブルチニブの取り込みに肝トランスポーターは関与しない。

表 11 - In vitro metabolic stability of rilzabrutinib in liver microsomes, S9 liver fractions, and cryopreserved hepatocytes from several species

Study	Species	Test System	Intrinsic Clearance	Rat	Dog	Human
DVR0089 DVR0090	human dog and rat	Liver Microsomes	µL/min/mg protein	189.74	163.79	177.73
DVR0096		Liver S9 Fractions	µL/min/mg protein	83.90	44.77	23.48
DVR0086 DVR0180	human dog and rat	Hepatocytes	µL/min/10^6 cells	89.89	76.16	53.45

See 2.6.5, [表 2.6.5.10 B]

6.2.1 様々な動物種の血漿及び肝 S9 画分中での代謝安定性

DVR0092 試験、DVR0096 試験及び DVR0105 試験（Module [4.2.2.4-6]、Module [4.2.2.4-3]及び Module [4.2.2.4-7]）

ラット、イヌ及びヒト血漿中でのリルザブルチニブの安定性を in vitro で評価した（DVR0092 試験 [表 2.6.5.10 C]）。血漿試料にリルザブルチニブ（5 µmol/L）又は対照物質（プロパンテリン）を添加し、振盪しながら 37°C でインキュベートした。120 分後の血漿中リルザブルチニブ残存率は、ヒト、イヌ及びラット血漿でそれぞれ 82.69%、67.36%及び 68.94%であった。

ヒト、雄ラット及び雄イヌ由来のプール肝 S9 画分（濃度 1 mg/mL）中でのリルザブルチニブの安定性を in vitro で評価した（DVR0096 試験 [表 2.6.5.10 B]）。ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）存在下、60 分間インキュベート後のリルザブルチニブ残存率は、ヒト、イヌ及びラット肝 S9 画分でそれぞれ 25.30%、12.17%及び 5.15%であった。各動物種の肝ミクロソームを用いて測定した場合に比べて、in vitro 固有 CL 値（ヒト、イヌ及びラットでそれぞれ 23.48、44.77 及び 83.90 µL/min/mg protein）は小さく、$t_{1/2}$ は長かった（29.51、15.48 及び 8.26 分）（表 11）。

さらに、ヒト肝臓、肺及び腸 S9 画分、並びにヒト腸内細菌叢中でのリルザブルチニブの安定性及び代謝物生成についても検討した（DVR0105 試験 [表 2.6.5.10 A]）。使用した試験条件下、2 時間インキュベーション後、濃度 1 及び 10 µmol/L のリルザブルチニブは中程度から速やかな分解を示し、シトクロム P450、フラビン含有タンパク質、又はその他の代謝酵素による代謝が示唆され、コファクター存在下での S9 画分中でみられた分解が化学的分解ではなく、主に生体内変換によって起こったこ

とが裏付けられた。ヒト肝臓、肺及び腸 S9 画分中、高濃度（10 µmol/L）でインキュベートしたときの方が分解速度が遅かったことから、この濃度で飽和が起こった可能性が示された。

コファクター存在下でのヒト肝 S9 画分中でのリルザブルチニブの $t_{1/2}$ は、濃度 1 及び 10 µmol/L でそれぞれ 0.13 及び 0.83 時間であった。ヒト肺 S9 画分中での分解速度はこれより遅く、1 µmol/L での $t_{1/2}$ は 2.31 時間であった。

ヒト肝 S9 画分及び腸 S9 画分とともにインキュベートしたときの主要代謝物は PRN618（M6、M9 又は M11）及び PRN834（M16）であったが、未変化体及びこれら 3 種類の代謝物の回収濃度が低かったことから（リルザブルチニブ初濃度の 57%以下に相当）、他の代謝物が生成していることが明らかになった。リルザブルチニブ濃度 1 µmol/L では、リルザブルチニブ初濃度に対する PRN618 及び PRN834 の割合は、肝 S9 画分でそれぞれ 2.3%及び 13.2%、腸 S9 画分でそれぞれ 5.2%及び 14.1%であった。

ヒト腸内細菌叢存在下、リルザブルチニブは中程度の分解を示し（DVR0105 試験 [表 2.6.5.10 A]）、24 時間後のリルザブルチニブ初濃度に対する残存率は、濃度 1 及び 10 µmol/L でそれぞれ 56.7%及び 61.8%であった。この条件での主要代謝物は PRN834 であり、24 時間のインキュベーション終了時のリルザブルチニブ初濃度に対する割合は、濃度 1 及び 10 µmol/L でそれぞれ 44.0%及び 44.4%であった。更なる情報については、Module 2.7.2 [2.2 項]を参照のこと。

6.2.2 肝ミクロソーム中での代謝安定性

DVR0089 試験及び DVR0090 試験（Module [4.2.2.4-1]及び Module [4.2.2.4-2]）

雄ラット及びイヌ由来のプール肝ミクロソーム中でのリルザブルチニブの代謝安定性を in vitro で評価した（DVR0090 試験 [表 2.6.5.10 B]）。NADPH 存在下、肝ミクロソーム中でリルザブルチニブは速やかに代謝され、60 分間インキュベート後の試料中リルザブルチニブ残存率は、イヌ及びラット肝ミクロソーム中でそれぞれ僅か 7.06%及び 4.51%であった。In vitro 固有 CL 値は、イヌ及びラットでそれぞれ 163.79 及び 189.74 µL/min/mg protein、$t_{1/2}$ は 8.46 及び 7.30 分であった（表 11）。

プールヒト肝ミクロソーム中でのリルザブルチニブの in vitro 代謝安定性についても、ラット及びイヌ肝ミクロソームと同じ方法を用いて評価した（DVR0089 試験 [表 2.6.5.10 B]）。イヌ及びラット肝ミクロソーム同様、NADPH 存在下、ヒト肝ミクロソーム中でリルザブルチニブは速やかに代謝され、60 分後のリルザブルチニブ残存率は初濃度の 3.05%に過ぎなかった。In vitro 固有 CL 値及び $t_{1/2}$ はそれぞれ 177.73 µL/min/mg protein 及び 7.80 分であった（表 11）。

6.2.3 肝細胞中での代謝安定性

DVR0180 試験（Module [4.2.2.4-5]）

イヌ及びラット肝細胞（0.5 x 10^6 cells/mL）中での 37°C におけるリルザブルチニブ（1 µmol/L）の代謝安定性を in vitro で評価した（DVR0180 試験 [表 2.6.5.10 B]）。90 分間インキュベート後のリルザブルチニブ残存率は、イヌ及びラットでそれぞれ 3.21%及び 1.73%であり、固有 CL 値は、イヌ及びラットでそれぞれ 76.16 及び 89.89 µL/min/10^6 cells であった（表 11）。また、ヒト肝細胞中でのリルザ

ブルチニブの in vitro 代謝安定性（DVR0086 試験 [表 2.6.5.10 B]）から、90 分間インキュベート後のリルザブルチニブ残存率は 7.95%であり、固有 CL 値は 53.45 µL/min/10^6 cells であった（表 11）。

6.2.4 ヒト肝細胞内への取り込み

Module 2.7.2 [2.2 項]を参照のこと。

6.2.5 シトクロム P450 分子種のフェノタイピング

Module 2.7.2 [2.2 項]を参照のこと。

6.2.6 ヒト肝細胞中での in vitro 固有クリアランス

Module 2.7.2 [2.2 項]を参照のこと。

6.3 In vitro 及び in vivo 代謝プロファイリング

6.3.1 ヒト、イヌ及びラット肝 S9 画分中の代謝物の同定

DVR0088 試験（Module [4.2.2.4-8]）

ラット、イヌ及びヒト由来の肝 S9 画分（1 mg/mL）を用いて、リルザブルチニブの in vitro 代謝プロファイリングを実施した（DVR0088 試験 [表 2.6.5.10 D]）。イヌ及びヒトで合計 14 種類、ラットで 11 種類の潜在的代謝物が同定された。これらの代謝物の大部分が微量代謝物であった（質量分析で相対ピーク面積 1～10%）。ヒト特異的代謝物は特定されなかったが、イヌ及びヒト S9 画分で特定された代謝物のうち 3 種類は、ラットでは認められなかった。酸化、脱アルキル化及び還元を介したリルザブルチニブの生体内変換が認められた。

6.3.2 ラットにおける[^{14}C]-リルザブルチニブの in vivo 代謝プロファイリング

DVR0527 試験（Module [4.2.2.4-13]）

[^{14}C]-リルザブルチニブを単回 PO 投与した Sprague Dawley ラットから採取した血漿、尿、胆汁及び糞試料を分析することにより、[^{14}C]-リルザブルチニブの代謝プロファイリングを実施した（DVR0527 試験 [表 2.6.5.9 A]）。目標総投与量は[^{14}C]-リルザブルチニブ 40 mg/kg、放射能量として約 200 µCi/kg であった。尿及び糞試料は、グループ 1（無処置ラット）では、投与後 168 時間まで、グループ 2（胆管カニュレーション処置ラット）では、投与後 96 時間まで採取した。血漿試料は、グループ 3（頸静脈カニュレーション処置ラット）から採取した。

ラット血漿、尿、胆汁及び糞中に合計 11 種類の[^{14}C]-リルザブルチニブ代謝物（M1～M11）が認められた（図 1、表 10）。リルザブルチニブの代謝経路には、N-脱アルキル化、酸化及び硫酸化が含まれていた。未変化体[^{14}C]-リルザブルチニブは糞中にのみ認められた。血漿中で定量可能な 2 種類の代謝物のうち、PRN834（0.1 µg eq./mL）は血漿中総薬物関連曝露量の約 6%を占め、これは非臨床試験で詳細に特性評価された加水分解生成物であった。2 番目の代謝物は M1 であり（図 1、表 10）、シ

アノ酢酸と共溶出されると報告された。その後、ヒト ADME 試験（PRN1008-015 試験 [表 2.6.5.9 B]）において、この M1 代謝物は PRN4400 と同定された。ラットにおける PRN4400 の曝露量は 1.6 µg eq./mL であり、血漿中総薬物関連曝露量の約 94%に相当した。無処置ラット及び胆管カニュレーション処置ラットのプール尿（投与後 0-72 時間）中に投与量の 1～2%に相当する PRN4400 が排泄された。PRN4400 は、おそらくその物理化学的特性及びベースライン試料中に存在する（内因性化合物）という理由により、主要代謝物が予測されるサイズ範囲で検出及び特定できないことから、初期の肝 S9 画分を用いた in vitro 試験及び非標識リルザブルチニブを用いた毒性試験において、リルザブルチニブの代謝物として PRN4400 は同定されなかった。4.2.1.2 項で考察したように、ラットに用量 150 及び 500 mg/kg/日を 14 日間反復強制 PO 投与した GLP 適用のブリッジング PK 試験において、この代謝物が非臨床試験用動物種でも生成することが確認された。チオシアネートは哺乳動物の細胞外液中に普遍的に存在する擬ハロゲン化物であり、その濃度は生理学的及び環境的状況に応じて、0.1 µmol/L～2 mmol/L 超の範囲である(4)。その安全性及び毒性は文献で詳細に規定されており、その概要は「毒性試験の概要文」（Module 2.6.6 [8.4 項]及び[8.5 項]）に記載されている。

代謝物 M3（PRN618 の硫酸抱合体）、M4（PRN834 の酸化＋硫酸抱合体）及び M11（PRN834）は、ラットプール胆汁（投与後 0-72 時間）中の主要代謝物であり、それぞれ投与量の 9～26%を占めていた。

無処置ラットから採取したプール糞（投与後 0-24 時間）抽出物中に、未変化体であるリルザブルチニブ及び 7 種類の代謝物［M3（PRN618 の硫酸抱合体）、M5（リルザブルチニブの水素付加体）、M6（リルザブルチニブのオキシド体）、M8（PRN834 のジオキシド体）、M9（PRN834 のオキシド体）、M10（PRN618）及び M11（PRN834）］が認められた。代謝物 M3、M5、M6 及び M9 はそれぞれ投与量の 8～16%を占めていた。未変化体リルザブルチニブ、M8、M10 及び M11 はそれぞれ投与量の 3～6%を占めていた。胆管カニュレーション処置ラットから採取したプール糞（投与後 0-24 時間）抽出物中では、未変化体リルザブルチニブ及び M10 が主要放射性成分であり、それぞれ投与量の 7～9%を占めていた。胆管カニュレーション処置ラットにおいて、微量代謝物である M11 は投与量の 1%未満を占めていた。

6.3.3　ラット TK 試験における代謝物の同定

DVR0189 試験（Module [4.2.2.4-12]）

ラット 2 週間反復 PO 投与用量設定毒性試験で得られた血漿試料を用いて代謝物を同定した（DVR0189 試験 [表 2.6.5.9 B]）。この試験では、Wistar Han ラットに用量 50、150 及び 500 mg/kg/日のリルザブルチニブを投与した（Module 2.6.6 [3.1.2 項]）。

ラットでは、2 種類の主要代謝物、すなわち、脱アルキル化体（PRN618：M6、M9 又は M11）及び加水分解生成物（PRN834/M16）が存在していた。これらの代謝物が各用量の総薬物血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）に占める割合は、10%超（脱アルキル化体）及び 80%超（加水分解生成物）であった。加水分解生成物（PRN834/M16）はラット S9 画分、ミクロソーム及び肝細胞との in vitro イン

キュベーションでは認められなかったことから、この代謝物の生成には肝外代謝が関与していることが示された。加水分解生成物 M16 は本化合物の消失の相当割合を占めていた。

6.3.4 イヌ TK 試験における代謝物の同定

DVR0188 試験（Module [4.2.2.4-11]）

イヌ 2 週間反復強制 PO 投与用量設定毒性試験で得られた血漿試料を用いて代謝物を同定した（DVR0188 試験 [表 2.6.5.9 B]）。この試験では、動物に用量 50、150 及び 500 mg/kg/日のリルザブルチニブを投与した（Module 2.6.6 [3.2.1 項]）。

ラット同様、イヌにおける 2 種類の主要代謝物は、脱アルキル化体（PRN618：M6、M9 又は M11）及び加水分解生成物（PRN834/M16）であった。脱アルキル化体に比べて加水分解生成物が多かったラットとの比較で、イヌ血漿でもこれらの代謝物が多く存在し、概して未変化体に比べて血漿中総薬物関連曝露量（AUC_{last}）の高い割合を占めていた。ラット同様、イヌ S9 画分、ミクロソーム及び肝細胞との in vitro インキュベーションでは、加水分解生成物は認められなかった。

ラット、イヌ及びヒトで認められた in vitro 及び in vivo 代謝物を図 1 に示す。重要なのは、いずれの in vitro 試験においても、代謝物 M16（PRN834）は認められなかったが、この代謝物は全ての in vivo 試料で認められた重要な代謝物であるということである。このことから、代謝物 M16（PRN834）はシトクロム P450 が関与しない代謝物であり、アルデヒドオキシダーゼにより生成するものではなく、加水分解の結果として生成することが示唆された。

6.4 異性体相互変換

リルザブルチニブは、主に R 体の幾何異性体（[redacted]体［主要成分、[redacted]%以上］と[redacted]体［副次的成分］）混合物である。これらの異性体の安定性及びその相互変換の可能性について理解するための試験を実施した。E 体及び Z 体の両方に同等の薬理活性がある（Module 2.6.2 [2.1.6.3 項]）。

6.4.1 In vivo ラットにおける E/Z 異性体相互変換

DVR0186 試験（Module [4.2.2.4-9]）

リルザブルチニブの[redacted]体（主要成分）又は[redacted]体（副次的成分）の in vivo 相互変換について評価するため、Wistar Han ラットに E 体又は Z 体いずれかのみを 50 mg/kg の用量で単回 PO 投与し（DVR0186 試験 [表 2.6.5.9 C]）、その後、各異性体の血漿中濃度を測定した。

[redacted]体を投与したときの結果として、化合物の大部分は[redacted]体のままであった。しかし、AUC による評価で[redacted]体の[redacted]%が[redacted]体に変換されたことが明らかになった。[redacted]体の場合、変換の程度は大きく、in vivo で[redacted]体の[redacted]%が E 体に変換された。したがって、ラットにリルザブルチニブを PO 投与すると、in vivo において E:Z 異性体比＝約[redacted]:[redacted]で平衡化すると考えられた。

6.4.2 リルザブルチニブ投与後の E/Z 異性体相互変換

DVR0162 試験（Module [4.2.2.4-10]）

ラット及びイヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験（DVR0174 試験 [表 2.6.5.4 C]及び DVR0184 試験 [表 2.6.5.4 F]）並びに健康被験者を対象とした試験（PRN1008-001 試験）で得られた試料を用いて、リルザブルチニブ（E:Z 異性体比[redacted]）を投与した後の E 体及び Z 体の血漿中濃度を測定した（DVR0162 試験 [表 2.6.5.9 D]）。

ラットの場合、C_{max} 及び AUC による評価で、血漿中の[redacted]体の割合が開始時の[redacted]%から約[redacted]%に増加したことから、相互変換の程度が最も高いことが明らかになった。相互変換の程度は、性別及び用量に依存せず、定常状態でも大きく変化しなかった。イヌの場合、C_{max} 及び AUC による評価で、血漿中の[redacted]体の割合は[redacted]%であることが明らかになった。相互変換の程度は、性別及び用量により大きく変化することはなく、C_{max} 及び AUC による評価で、[redacted]体の割合は、1 日目（[redacted]%）に比べて定常状態（25 日目、[redacted]%）で僅かに増加した。健康被験者に用量 300 mg を単回投与した後に得られた血漿試料中の[redacted]体の割合は、C_{max} 及び AUC による評価でそれぞれ[redacted]%及び[redacted]%であった。

E/Z 異性体プロファイリングから、毒性試験用動物種では、E/Z 異性体がヒトでの曝露量範囲を上回る曝露量で認められることが明らかになった。毒性試験で最高用量を投与したラットの AUC は 12000 ng•h/mL～30000 ng•h/mL 超の範囲であったが、ヒトに用量 300 mg を投与したときの AUC は 300 ng•h/mL であり、したがって、総 AUC に基づくカバー率は 40～100 倍となる。[redacted]体（割合）の差を考慮すると、ラットの毒性試験では[redacted]倍の追加カバー率となり、[redacted]体に関して合計[redacted]～[redacted]倍の安全域（safety margin）が得られる。

6.4.3 ラットに投与後の R/S 異性体相互変換

探索的試験（報告書なし）において、ラットに用量 150 mg/kg のリルザブルチニブ（R 体）又は PRN1418（S 体）のみを投与したときの相互変換を評価した。

リルザブルチニブ及び PRN1418 を別々に投与したとき、両化合物の t_{max} は非常に短く、0.26～1 時間の範囲であった。リルザブルチニブ（R 体）を投与したときの C_{max} 及び AUC_{last} 平均値は、R 体でそれぞれ 1505.8 ng/mL 及び 10526.8 ng•h/mL、S 体でそれぞれ 3.5 ng/mL 及び 10.8 ng•h/mL であった。また、PRN1418（S 体）を投与したときの C_{max} 及び AUC_{last} 平均値は、S 体でそれぞれ 1450.0 ng/mL 及び 11969.1 ng•h/mL、R 体でそれぞれ 330.5 ng/mL 及び 2074.5 ng•h/mL であった。リルザブルチニブ（R 体）投与後の S/R 比は非常に小さかった（C_{max} で 0.23%、AUC_{last} で 0.10%）。一方、PRN1418（S 体）を投与したときの R/S 比はやや高かった（C_{max} で 23%、AUC_{last} で 17%）

これらの結果から、動物に純粋な R 体を投与した場合、R 体から S 体への in vivo 変換が起こる可能性は低いことが確認された。認められた少量の S 体は、設定された規格限界（Module 2.3）によって厳密に管理されている医薬品有効成分中に不純物として存在していた S 体によるものである可能性が高い。動物に純粋な S 体を投与した場合、最大 23%（C_{max} に基づく）の S 体から R 体への変換が認められたが、R 体及び S 体の有効性は同じであり、R 体の方が S 体に比べて持続性が高いことから、大きな影響ではないと考えられた。

R 体はリルザブルチニブの主要成分であり、Module 2.6.2 [2.1.6.3 項]で考察したように、BTK を長時間にわたり阻害する（薬力学的効果の持続）ために必要である。

6.5 酵素誘導及び阻害

リルザブルチニブの代謝酵素阻害及び誘導作用を評価するための動物を用いた in vitro 及び in vivo 試験は実施していない。ヒト生体試料を用いた代謝酵素阻害及び誘導作用に関する in vitro 試験の結果は、Module 2.7.2 [2.2 項]に詳細に記載されている。

7 消失及び排泄

7.1 消失半減期

ラット及びイヌに用量 20 及び 100 mg/kg のリルザブルチニブを単回 PO 投与したときの $t_{1/2}$ は短いことが確認された。ラット PK 試験（DVR0077 試験 [表 2.6.5.3 B]）でリルザブルチニブを単回投与したときの最終相での平均 $t_{1/2}$ は、20 及び 100 mg/kg 投与でそれぞれ 1.5 及び 2.6 時間であった。イヌ試験（DVR0078 試験 [表 2.6.5.3 B]）で単回投与したときの最終相における平均 $t_{1/2}$ は、それぞれの用量で 2.2 及び 2.0 時間であった。

更なる高用量を投与した GLP 適用のイヌ毒性試験（DVR0179 試験 [表 2.6.5.3 C]）では、低用量（50 mg/kg）群に比べて中用量（150 mg/kg）群で平均 $t_{1/2}$ は僅かに延長したが、高用量（500 mg/kg）群でさらに延長することはなかった。GLP 適用のラット毒性試験（DVR0178 試験 [表 2.6.5.3 C]）でも同様の傾向が認められた。

7.2 マスバランス試験

DVR0159 試験（Module [4.2.2.5-1]）

ラットマスバランス試験では、用量 40 mg/kg（約 200 µCi/kg）の[^{14}C]-リルザブルチニブを単回強制 PO 投与し、尿、胆汁及び糞中の放射能を測定した（DVR0159 試験 [表 2.6.5.13]及び[表 2.6.5.14]）。結果を表 12 に記す。

カニュレーションを行っていないラット（無処置ラット）に[^{14}C]-リルザブルチニブを PO 投与したときの放射能の主要排泄経路は糞中排泄であり、投与後 24 時間までの糞中での平均回収率は 85%超で、最終的には 90.3%であった。尿中での平均回収率は 1.9%であり、総放射能回収率は平均 92.5%であった。

胆管カニュレーション処置ラットに[^{14}C]-リルザブルチニブを PO 投与したときの放射能の主要排泄経路は胆汁中排泄であり、投与後 24 時間までの胆汁中での平均回収率は 65%超で、最終的には 67.4%であった。糞中及び尿中での平均回収率はそれぞれ 22.1%及び 3.5%であり、総放射能回収率は平均 93.2%であった。

表 12 - Excretion of radioactive material after a single oral dose of [^{14}C]-rilzabrutinib to rats

rilzabrutinib Dose (mg/kg)	Rat Group	Percentage of Administered Dose[a]			
		Urine	Feces	Bile	Total*
40	1 (non-cannulated)	1.9 (0.3)	90.3 (3.0)	NA	92.5 (2.6)
40	2 (bile duct-cannulated)	3.5 (1.6)	22.1 (0.6)	67.4 (4.2)	93.2 (2.1)

Abbreviations: NA: Not applicable

a Mean (Standard deviation) for 168 hour and 96 hour collection period for Group 1 and 2, respectively

* Includes radioactivity from cage rinses and washes

7.3 乳汁中排泄

動物を用いた乳汁中排泄を評価する試験は実施しなかった。

8　薬物動態学的薬物相互作用

動物を用いた薬物相互作用試験は実施しなかった。薬物相互作用の可能性を評価するためにヒト組織及び生体試料を用いて実施した in vitro 試験の結果は、Module 2.7.2 [3.2.2 項]に記載されている。

9　その他の薬物動態試験

該当なし。

10　考察及び結論

リルザブルチニブは中程度の膜透過性及び許容される pH 依存性の溶解度を示した（Module 2.3）。単回投与試験に加えて、ラット及びイヌを用いた一連の GLP 適用 1 日 1 回反復投与試験（それぞれ最長 6 及び 9 か月間）でリルザブルチニブの PK 特性を評価した。

ラット及びイヌの両動物種において、リルザブルチニブは速やかに吸収され、代謝物に変換された。検討した全ての動物種（ラット、イヌ、サル）において、リルザブルチニブを単回 PO 投与したときの吸収は速やかであり、概して t_{max} は 0.5～4 時間であったが、バイオアベイラビリティは様々であり、特にカニクイザルで不良であった（3.2～3.8%）（表 3）。ラットでは、用量が 20 mg/kg から 100 mg/kg に増加すると、PO 投与時のバイオアベイラビリティは 12.3%から 52.7%に増加した。イヌでは、同じ用量で PO 投与時のバイオアベイラビリティは 7.5%から 28.2%に増加した。ヒトに PO 投与したときのバイオアベイラビリティは低かった（約 5%）（Module [2.7.2]）。

反復投与試験において、リルザブルチニブ及びその代謝物の蓄積はほとんど又は全く認められなかった。しかし、両動物種におけるリルザブルチニブの曝露量は雄に比べて雌で高かった（概して約 2 倍）。注目すべき点として、ヒトの曝露量に性差は認められなかった（Module [2.7.2]、Module 5.3.3.5-1 [POH1156]）。さらに、用量比例性に試験間でばらつきがあり、単回 PO 投与試験では用量比を上回る増加が認められたが、反復投与試験では用量におおむね比例し、ラットでは C_{max} が用量比を下回る増加を示すこともあった。

リルザブルチニブを空腸内に投与することで、上部消化管（胃を含む）を迂回した場合、強制 PO 投与したときに比べて、全身曝露量が 50 mg/kg/日投与時で約 2～3 倍、100 mg/kg/日投与時で約 6～7 倍増加した。

リルザブルチニブの血漿タンパク結合率は、ヒトを含む全ての動物種で 90%を超え、血球移行率は約 0.4（血球／血漿比は、ラットの 0.27 からヒトの 0.47 の範囲）であった。PRN834 のヒト血漿タンパク結合率も高く（96%超）、リルザブルチニブ及び PRN834 のヒト肝ミクロソームタンパクに対する結合はいずれも弱かった。全体として、イヌ及びラットに IV 投与したときのリルザブルチニブの V_z は大きく、血液量の 13～20 倍であった（表 3）。

ラット QWBA 試験で放射能曝露量が多かった臓器は、吸収及び消失に関連する臓器、すなわち、食道、胃、肝臓、腎臓、腸、盲腸及び脾臓であった。投与後 168 時間には、いずれの組織にも実質的な放射能の残存はみられなかった。QWBA 試験で評価したラット 9 匹中 1 匹の脳及び 2 匹の脊髄で低濃度（0.2 µg eq./g 未満）のリルザブルチニブが検出された。別途、Wistar Han 雌ラットを用いてリルザブルチニブ及び代謝物の CSF 中濃度を測定するための試験を実施した結果、検討したいずれの時点（投与後 1～24 時間）においても、CSF 中にリルザブルチニブ及び 5 種類の代謝物は検出されなかった。代謝物 PRN4400（すなわち、チオシアネート）は、血液脳関門を透過すると報告されている内因性化合物である(5)。文献によると、イヌにおいて血漿中チオシアネート濃度 1 mmol/L（58 mg/L）未満で CSF 中に比較的少量のチオシアネートが認められている(6)が、この血漿中濃度は、ヒトにおいて

リルザブルチニブ投与後に得られた血漿中 PRN4400 濃度 0.796 ng/mL（PRN1008-015 試験 [表 2.6.5.9 B]）を大幅に上回っている。評価した中枢神経系組織の大部分で測定可能なリルザブルチニブが認められなかったことから、ラット毒性試験で認められた脳内イオン化カルシウム結合アダプター分子 1 染色強度の増加は、脳内でのリルザブルチニブの直接的炎症作用ではないという見解がさらに裏付けられた（Module 2.6.2 [3.1 項]）。

リルザブルチニブの代謝物プロファイルは複雑であり、ラット、イヌ及びヒトで 11 種類以上の in vitro 代謝物が同定された。これらの代謝物の多くには、酸化、還元、その組み合わせ、及び脱アルキル化が関与している。In vivo で代謝物を評価した結果、主要代謝物は、オキセタン基の脱アルキル化及び求電子基の加水分解により生成する代謝物であり、ラットにおけるリルザブルチニブの代謝経路には、N-脱アルキル化、酸化及び硫酸化が含まれる（図 1）。興味深いことに、加水分解生成物 PRN834（M16）は in vivo ではみられたが、ラットの生体試料を用いた in vitro 試験系では認められなかったことから、肝外加水分解が関与していることが示唆された。健康被験者を対象として[^{14}C]-リルザブルチニブを用いて実施された臨床マスバランス試験で得られた血漿試料で同定された代謝物には、酸化代謝物、還元代謝物、グルクロン酸抱合代謝物、脱アルキル化代謝物、加水分解代謝物、これらの組み合わせ、及びチオシアネート（すなわち、PRN4400 又は M1）が含まれていた（PRN1008-015 試験 [表 2.6.5.9 B]）。平均して総薬物関連 AUC の 10%以上で認められたヒト代謝物は PRN4400 であり、加水分解代謝物（PRN834）は 10%未満であった。

ラットにおける PRN4400 の曝露量は、血漿中総薬物関連曝露量の約 94%に相当した。プール尿（投与後 0-72 時間）中に投与量の 1～2%に相当する M1 代謝物（PRN4400）が排泄された。ヒトマスバランス試験でも、同程度の割合の PRN4400 が認められた。おそらく PRN4400 は、その物理化学的特性及びベースライン試料中に存在するという理由により、早期での検出及び同定が困難であったと考えられ、初期の肝 S9 画分を用いた in vitro 試験及び非標識リルザブルチニブを用いた毒性試験では同定されなかった。しかし、in vivo 非臨床代謝物同定試験（DVR0188 及び DVR0189 試験 [表 2.6.5.9 B]並びに DVR0527 試験 [表 2.6.5.9 A]）及びラットブリッジング PK 試験（1281-21219 試験 [表 2.6.5.9 B]）から、イヌ及びラットでは、ヒトと同等又はそれ以上にリルザブルチニブが PRN834（M16）、PRN4400 及び PRN618（M6、M9 及び M11）へと代謝されることが明らかになった。したがって、ラット及びイヌを用いて実施した反復投与毒性試験において、これらの代謝物で推定される毒性作用が十分にカバーされたと考えられる。ラットに用量 500 mg/kg のリルザブルチニブを投与したときの PRN4400 の曝露量は、ヒトに治療用量である 400 mg を 1 日 2 回投与したときの定常状態で認められる PRN4400 曝露量と同等又はそれ以上であった。すなわち、ITP 患者での $C_{max,ss}$ は 4928 ng/mL（Module 5.3.5.2-2 [PRN1008-10B]）であったのに対して、ラットでの C_{max} は 7590 ng/mL（1281-21219 試験 [表 2.6.5.9 B]）であった。In vitro 及び in vivo 代謝試験の統合結果に基づくと、ヒト特異的代謝物は検出されず、ヒトで認められた代謝物は全て毒性試験用動物種でカバーされていたと考えられる。

ヒト組換え酵素 Supersome を用いた試験及び凍結保存ヒト肝細胞を用いた試験から、リルザブルチニブの代謝に関与する主要シトクロム P450 分子種は CYP3A4 であり、CYP2D6 が副次的役割を果たしていることが明らかになった。リルザブルチニブの代謝において CYP3A4 が重要な役割を果たしてい

ることは、リトナビル（強いCYP3A4阻害薬）の同時投与により、リルザブルチニブ100 mg投与後の血漿AUCが約18倍、C_{max}が約8倍増加することを示したヒトデータ（Module 5.3.3.4-1 [PRN1008-014]）によって裏付けられた。トランスポーターを介したヒト肝細胞内へのリルザブルチニブのin vitro取込みは非常に少なく、受動的拡散によるCL値は約22～44.5 µL/min/mg proteinであった。凍結保存した培養ヒト肝細胞を用いた試験でリルザブルチニブのin vitro固有クリアランスは高いことが明らかになった。

リルザブルチニブの[redacted]体（主要成分）及び[redacted]体（副次的成分）のin vivo相互変換は、ヒト及びイヌでは同程度であるが、ラットでは相互変換の程度が大きく、血漿中の比率は[redacted]体を多く含む製品の比率と同様であった。ラットに純粋な[redacted]体を投与すると、速やかに[redacted]体に変換された。また、ラットに純粋なR体を投与したときのR体（リルザブルチニブ）からS体（PRN1418）へのin vivo変換は非常に低く、S体が全身曝露量（C_{max}及びAUC_{last}）に占める割合は1%未満であった。ヒトで認められるE/Z異性体及びR/S鏡像異性体の範囲は、毒性試験用動物種で十分カバーされていることが明らかになった。

用量40 mg/kgの[^{14}C]-リルザブルチニブを単回強制PO投与したラットマスバランス試験において、放射能の尿中排泄率は、無処置ラットと胆管カニュレーション処置ラットで同様に低い（投与量の2%未満）ことが明らかになった。無処置ラットの糞、並びに胆管カニュレーション処置ラットの胆汁及び糞中に回収された放射能から、PO投与した放射能の約80%が吸収され、大部分が胆汁及びその結果として糞中に排泄されることが示唆された（約90%）。これらの知見から、リルザブルチニブの主要排泄経路は胆汁排泄であることが示された。ラットにおけるリルザブルチニブの尿中排泄がごく僅かであったことは、総投与量の3%未満が尿中に回収されたというヒトでの知見と一致していた（PRN1008-015試験 [表 2.6.5.9 B]）。

リルザブルチニブの注目すべきPK特性は、その迅速なクリアランスである。非臨床試験用動物種（ラット及びイヌ）における全身クリアランスは、肝血流量と同等又はそれ以上であった。ラット及びイヌの$t_{1/2}$は短く、概して1～3時間未満であることが確認された。

妊娠ラット及びウサギを用いた試験でTKデータを収集した結果、非妊娠動物のデータと比較して、曝露量に若干の差が認められた。ウサギの場合、妊娠動物のリルザブルチニブ曝露量は非妊娠動物の2倍を僅かに超えていた。ラットの場合、妊娠動物のC_{max}は非妊娠動物の2倍を僅かに超えていたが、AUCは妊娠状態に関係なく類似していた。代謝物PRN618及びPRN834の曝露量は、妊娠ラットと非妊娠ラットでおおむね類似していた。曝露量の差が小さいこと、また、生体試料分析が別々の試験の異なる試験日に実施されたことを考慮すると、これらの軽微な差は臨床的に重要ではないと考えられる。

全体として、非臨床毒性試験で使用した動物種において、リルザブルチニブのPKプロファイルに関する詳細な特性評価が行われ、予定されている患者集団に提案する投与計画に従ってリルザブルチニブを投与することの妥当性を裏付けるデータが得られたと考えられる。

参 考 文 献

1. Langrish CL, Bradshaw JM, Francesco MR, Owens TD, Xing Y, Shu J, et al. Preclinical efficacy and anti-inflammatory mechanisms of action of the Bruton tyrosine kinase inhibitor rilzabrutinib for immune-mediated disease. J Immunol. 2021;206(7):1454-68.
2. Owens TD, Brameld KA, Verner EJ, Ton T, Li X, Zhu J, et al. Discovery of reversible covalent Bruton's tyrosine kinase inhibitors PRN473 and PRN1008 (Rilzabrutinib). J Med Chem. 2022 Apr 14;65(7):5300-16.
3. U.S. Department of Health and Human Services - Food and Drug Administration (FDA) - Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Bioanalytical Method Validation. Rockville MD, USA. FDA-2013-D-1020. May 2018. Available from: https://www.fda.gov/media/70858/download
4. Chandler JD, Day BJ. Biochemical mechanisms and therapeutic potential of pseudohalide thiocyanate in human health. Free Radic Res. 2015 Jun;49(6):695-710.
5. Mohamed AJ, Yu L, Bäckesjö CM, Vargas L, Faryal R, Aints A, et al. Bruton's tyrosine kinase (Btk): function, regulation, and transformation with special emphasis on the PH domain. Immunol Rev. 2009 Mar;228(1):58-73.
6. Streicher E, Rall DP, Gaskins JR. Distribution of thiocyanate between plasma and cerebrospinal fluid. Am J Physiol. 1964 Feb;206:251-4.

サノフィ株式会社

リルザブルチニブ

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.5 薬物動態試験概要表

Total number of pages: 61

目　　次

2.6.5 薬物動態試験概要表 1

目　　次 2

図　表　目　次 3

1　　薬物動態試験－一覧表 5

2　　薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験 9

3　　薬物動態試験－単回投与後の吸収 10

4　　薬物動態試験－反復投与後の吸収 14

5　　薬物動態試験－臓器分布 29

6　　薬物動態試験－タンパク結合 33

7　　薬物動態試験－妊娠又は授乳動物における試験 35

8　　薬物動態試験－その他の分布試験 40

9　　薬物動態試験－In vivo における代謝 41

10　　薬物動態試験－In vitro における代謝 48

11　　薬物動態試験－推定代謝経路 55

12　　薬物動態試験－薬物代謝酵素の誘導／阻害 56

13　　薬物動態試験－排泄 57

14　　薬物動態試験－胆汁中排泄 58

15　　薬物動態試験－乳汁中への排泄 59

16　　薬物動態試験－薬物相互作用 60

17　　薬物動態試験－その他の試験 61

図 表 目 次

表 2.6.5.1 - Pharmacokinetics - Overview - Study program 5
表 2.6.5.3 A - Pharmacokinetics - Absorption after a single dose 10
表 2.6.5.3 B - Pharmacokinetics - Absorption after a single dose in Rats, Dogs, and Monkeys 12
表 2.6.5.3 C - Pharmacokinetics - Absorption after a single dose - Single dose rat and dog toxicokinetic studies 13
表 2.6.5.4 A - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose 14
表 2.6.5.4 B - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose 15
表 2.6.5.4 C - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose 16
表 2.6.5.4 D - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose 17
表 2.6.5.4 E - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose 19
表 2.6.5.4 F - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose 22
表 2.6.5.4 G - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose 23
表 2.6.5.4 H - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose 26
表 2.6.5.5 - Pharmacokinetics - Qualitative organ distribution after a single dose 29
表 2.6.5.6 A - Pharmacokinetics - Plasma protein binding 33
表 2.6.5.6 B - Pharmacokinetics - Plasma protein binding 34
表 2.6.5.7 A - Pharmacokinetics - Study in Pregnant or Nursing Animals 35
表 2.6.5.7 B - Pharmacokinetics - Study in Pregnant or Nursing Animals 37
表 2.6.5.7 C - Pharmacokinetics - Study in Pregnant or Nursing Animals 38
表 2.6.5.9 A - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma, Urine, Bile, and Feces 41
表 2.6.5.9 B - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma 43
表 2.6.5.9 C - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma 45
表 2.6.5.9 D - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma 46
表 2.6.5.10 A - Pharmacokinetics - In vitro metabolism 48
表 2.6.5.10 B - Pharmacokinetics - In vitro metabolism 52
表 2.6.5.10 C - Pharmacokinetics - In vitro metabolism 53
表 2.6.5.10 D - Pharmacokinetics - In vitro metabolism 54
表 2.6.5.11 - Pharmacokinetics - Possible metabolic pathways 55

表 2.6.5.13 - Pharmacokinetics - Excretion after a single dose 57

表 2.6.5.14 - Pharmacokinetics - Excretion into bile 58

表 2.6.5.17 - Pharmacokinetics - Other pharmacokinetics parameters after a single dose in rat 61

1 薬物動態試験一覧表

表 2.6.5.1 - Pharmacokinetics - Overview - Study program

Test article: rilzabrutinib						
Type of study	**GLP[a]**	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Absorption						
Single dose	No	Hsd:ICR (CD-1) mice	PO (gavage)	[redacted] (in-life) Principia (bioanalysis) [redacted] (PK)	[DVR0406]	4.2.2.2-4
Single dose	No	Sprague Dawley rats	IV PO (gavage)	[redacted] (in-life) Principia (PK)	[DVR0077]	4.2.2.2-1
Single dose	Yes	Crl:WI(Han) Wistar Han IGS rats	PO (gavage)	[redacted] (in-life) [redacted] (bioanalysis) [redacted] (TK)	[DVR0178]	4.2.3.1-1
Single dose	No	Beagle dogs	IV PO (gavage)	[redacted] (in-life) Principia (PK)	[DVR0078]	4.2.2.2-2
Single dose	Yes	Beagle dogs	PO (gavage)	[redacted] (in-life) [redacted] (bioanalysis) [redacted] (TK)	[DVR0179]	4.2.3.1-2
Single dose	No	Cynomolgus monkeys	IV PO (gavage)	[redacted] (in-life) Principia (PK)	[DVR0080]	4.2.2.2-3
Repeat dose	No	Wistar Han rats	PO (gavage) IJ	Principia	[DVR0219]	4.2.1.2-5
Repeat dose	Yes	Wistar Han rats	PO (gavage)	[redacted] (in-life) [redacted] (bioanalysis) [redacted] (PK)	[1281-21219]	4.2.2.2-5

Abbreviations: GLP: Good laboratory practice; IGS: International Genetic Standardization; IJ: Intra-jejunal; IV: Intravenous; PK: Pharmacokinetic; PO: Oral; TK: Toxicokinetic

a An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

表 2.6.5.1 - Pharmacokinetics - Overview - Study program (Continued)

Test article: rilzabrutinib						
Type of study	**GLP[a]**	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Absorption (Continued)						
Repeat dose	Yes	Crl:WI(Han) Wistar Han IGS rats	PO (gavage)	[redacted](in-life) [redacted](bioanalysis) [redacted](TK)	[DVR0174]	4.2.3.2-3
Repeat dose	Yes	Crl:WI(Han) Wistar Han IGS rats	PO (gavage)	[redacted](in-life) [redacted](bioanalysis) [redacted](TK)	[DVR0207]	4.2.3.2-4
Repeat dose	Yes	Crl:WI(Han) Wistar Han IGS rats	PO (gavage)	[redacted](in-life) [redacted](bioanalysis) [redacted](TK)	[DVR0376]	4.2.3.2-5
Repeat dose	Yes	Beagle dogs	PO (gavage)	[redacted](in-life) [redacted](bioanalysis) [redacted](TK)	[DVR0184]	4.2.3.2-9
Repeat dose	Yes	Beagle dogs	PO (gavage)	[redacted](in-life) [redacted](bioanalysis) [redacted](TK)	[DVR0206]	4.2.3.2-11
Repeat dose	Yes	Beagle dogs	PO (capsule)	[redacted](in-life) [redacted](bioanalysis) [redacted](TK)	[DVR0377]	4.2.3.2-12
Repeat dose - pregnant animals[b]	Yes	Crl:WI(Han) Wistar Han rats	PO (gavage)	[redacted](in-life and TK) [redacted](bioanalysis)	[DVR0378]	4.2.3.5.2-3
Repeat dose - pregnant animals[b]	No	New Zealand White Rabbit	PO (gavage)	[redacted](in-life) Principia (bioanalysis and TK)	[DVR0299]	4.2.3.5.2-2
Repeat dose - pregnant animals[b]	Yes	New Zealand White Rabbit	PO (gavage)	[redacted](in-life and TK) [redacted](bioanalysis)	[DVR0379]	4.2.3.5.2-4

Abbreviations: GLP: Good laboratory practice; IGS: International Genetic Standardization; PO: Oral; TK: Toxicokinetic

a An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

b TK analysis of plasma from pregnant females only; therefore, study discussed in 2.6.4 Nonclinical WS Pharmacokinetics （Module 2.6.4 [4.2 項]） as an absorption study rather than distribution. Tabulated summary in 表 2.6.5.7 A, 表 2.6.5.7 B and 表 2.6.5.7 C.

表 2.6.5.1 - Pharmacokinetics - Overview - Study program (Continued)

Test article: rilzabrutinib						
Type of study	**GLP[a]**	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Distribution						
Quantitative Whole Body Autoradiography	No	Sprague Dawley and Long-Evans rats	PO (gavage)	[redacted]	[DVR0159]	4.2.2.5-1
Plasma protein binding	No	Rat and human plasma	In vitro	[redacted]	[DVR0093]	4.2.2.3-1
Plasma protein binding	No	Dog and mouse plasma	In vitro	[redacted]	[DVR0094]	4.2.2.3-2
Protein binding	No	Human plasma and liver microsomal fraction	In vitro	Sanofi	[LPR1199]	5.3.2.1-1
Blood partitioning	No	Human, dog, and rat whole blood	In vitro	[redacted]	[DVR0083]	4.2.2.3-3
Blood-brain barrier penetration	No	Wistar Han rats	PO (gavage)	[redacted] (in-life) Principia (PK)	[DVR0212]	4.2.2.7-1
Metabolism						
Metabolic stability and microbial biotransformation	No	Human liver, lung and intestinal S9 fractions; human intestinal flora	In vitro	[redacted]	[DVR0105]	4.2.2.4-7
Metabolic stability	No	Dog and rat liver microsomes	In vitro	[redacted]	[DVR0090]	4.2.2.4-2
Metabolic stability	No	Human liver microsomes	In vitro	[redacted]	[DVR0089]	4.2.2.4-1
Metabolic stability	No	Human, dog, and rat liver S9	In vitro	[redacted]	[DVR0096]	4.2.2.4-3
Metabolic stability	No	Rat and dog hepatocytes	In vitro	[redacted]	[DVR0180]	4.2.2.4-5
Metabolic stability	No	Human hepatocytes	In vitro	[redacted]	[DVR0086]	4.2.2.4-4
Metabolic stability	No	Human, dog, and rat plasma	In vitro	[redacted]	[DVR0092]	4.2.2.4-6
Metabolite identification	No	Human, dog, and rat liver S9	In vitro	[redacted]	[DVR0088]	4.2.2.4-8
Metabolite identification	No	Rat plasma, urine, bile, and feces	PO (gavage)	[redacted]	[DVR0527]	4.2.2.4-13

Abbreviations: GLP: Good laboratory practice; PK: Pharmacokinetic; PO: Oral

a An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

表 2.6.5.1 - Pharmacokinetics - Overview - Study program (Continued)

Test article: rilzabrutinib						
Type of study	**GLP[a]**	**Test system**	**Method of administration**	**Testing facility**	**Study number**	**Location**
Metabolism (Continued)						
Metabolite identification	No	Rat plasma	PO (gavage)	[redacted] (in-life) Principia (PK)	[DVR0189]	4.2.2.4-12
Metabolite identification	No	Dog plasma	PO (gavage)	[redacted] (in-life) Principia (PK)	[DVR0188]	4.2.2.4-11
E/Z isomer interconversion	No	Wister-Hans rats	PO (gavage)	[redacted] (in-life) Principia (bioanalysis)	[DVR0186]	4.2.2.4-9
E/Z isomer interconversion	No	Plasma from humans, beagle dogs, and Sprague Dawley rats	PO	[redacted](in-life, nonclinical studies) [redacted] (bioanalysis)	[DVR0162]	4.2.2.4-10
Elimination and excretion						
Mass Balance	No	Sprague Dawley	PO (gavage)	[redacted]	[DVR0159]	4.2.2.5-1
Drug interactions						
Not applicable						
Other						
Not applicable						

Abbreviations: GLP: Good laboratory practice; PK: Pharmacokinetic; PO: Oral; TK Toxicokinetic

a An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

2　薬物動態試験－分析法及びバリデーション試験

バリデートされた生体試料分析法の概要を Module 2.6.4 [2.1 項]に示す。

3 薬物動態試験－単回投与後の吸収

表 2.6.5.3 A - Pharmacokinetics - Absorption after a single dose

Study Title: Single Dose Oral Pharmacokinetic Study of PRN1008 in Mice						**Test article: PRN1008 (rilzabrutinib)**			
Species/Strain		Mouse/Hsd:ICR (CD-1)				**Study No.:**	[DVR0406]		
Number of Animals; M/F		108 males (18/group, with up to 3 animals/group sampled at each time point)				**Location:**	4.2.2.2-4		
Feeding Condition		Fed							
Vehicle/Formulation		0.5% aqueous methylcellulose							
Method of Administration		Oral (gavage) in [redacted] or [redacted] form							
Dose (mg/kg)		100, 300, 600							
Sample		Plasma							
Analyte(s)		PRN1008 (rilzabrutinib), PRN618, PRN834							
Assay		HPLC-MS/MS							
PRN1008 Dose (mg/kg)	**Analyte**	[redacted]				[redacted]			
		C_{max} (ng/mL)	**AUC_{last} (ng•h/mL)**	**$t_{1/2}$ (h)**	**t_{max} (h)**	**C_{max} (ng/mL)**	**AUC_{last} (ng•h/mL)**	**$t_{1/2}$ (h)**	**t_{max} (h)**
100	PRN1008	3130	7700	2.40	0.25	4540	7360	1.47	0.25
300		4260	31500	2.09	0.50	5340	28700	2.53	0.50
600		5720	45600	3.67	0.25	7250	57000	4.40	1.0
100	PRN618	216	467	1.82	0.50	294	548	1.36	0.25
300		393	2370	2.11	0.50	410	1200	4.15	0.50
600		436	3780	3.28	1.0	652	4190	3.67	0.50

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male; $t_{1/2}$: Half-life; t_{max}: First time to reach C_{max}

表 2.6.5.3 A - Pharmacokinetics - Absorption after a single dose (Continued)

Study Title: Single Dose Oral Pharmacokinetic Study of PRN1008 in Mice									Test article: PRN1008 (rilzabrutinib)
PRN1008 Dose (mg/kg)	Analyte	[redacted]				[redacted]			
		C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng•h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)
100	PRN834	747	3550	2.36	1.0	915	3320	-	1.0
300		1020	12500	-	4.0	1160	12300	2.53	1.0
600		1280	20200	-	8.0	1530	21000	5.18	1.0

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; $t_{1/2}$: Half-life; t_{max}: First time to reach C_{max}
- = not calculable

表 2.6.5.3 B - Pharmacokinetics - Absorption after a single dose in Rats, Dogs, and Monkeys

Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)									
Study No.	[DVR0077]			[DVR0078]			[DVR0080]		
Location	4.2.2.2-1			4.2.2.2-2			4.2.2.2-3		
Species/Strain	Rat/Sprague Dawley			Beagle dog			Cynomolgus Monkey		
Number of Animals, M/F	3 F	4 F	4 F	3 M	3 M	3 M	3 M	3 M	3 M
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation	15% hydroxypropyl beta-cyclodextrin	2:1 molar ratio of API:citric acid in water		15% hydroxypropyl beta-cyclodextrin	2:1 molar ratio of API:citric acid in water + 500 mg extra citrate		5% hydroxypropyl beta-cyclodextrin	2:1 molar ratio of API:citric acid in water	
Method of Administration	IV	PO (gavage)	PO (gavage)	IV	PO (gavage)	PO (gavage)	IV	PO (gavage)	PO (gavage)
Dose (mg/kg)	2	20	100	2	200 mg total dose (~20 mg/kg)	100	2	20	100
Sample	Plasma			Plasma			Plasma		
Analyte	PRN1008 (rilzabrutinib)			PRN1008			PRN1008		
Assay	HPLC-MS/MS			HPLC-MS/MS			HPLC-MS/MS		
PK Parameters									
t_{max} (h)	NA	0.5	1.0	NA	0.5	4.0	NA	1.0	4.0
C_{max} (ng/mL)	1608	270	2795	2066	378	2050	2790	181	431
AUC_{inf} (ng•h/mL)	505	622	13310	827	695	11667	1464	473	2772
$t_{1/2}$ (h)	0.6	1.5	2.6	0.7	2.2	2.0	0.4	1.0	2.5
% Bioavailability	NA	12.3	52.7	NA	7.5	28.2	NA	3.2	3.8

Abbreviations: AUC_{inf}: Area under the plasma concentration-time curve from time of dosing to infinity; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IV: Intravenous; M: Male; NA: Not applicable; PK: Pharmacokinetic; PO: Oral; $t_{1/2}$: Half-life; t_{max}: First time to reach C_{max}

表 2.6.5.3 C - Pharmacokinetics - Absorption after a single dose - Single dose rat and dog toxicokinetic studies

Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)												
Study No.	[DVR0178]						[DVR0179]					
Location	4.2.3.1-1						4.2.3.1-2					
Species/Strain	Rat/ Crl:WI(Han) Wistar Han IGS						Beagle dog					
Feeding Condition	Fed						Fed					
Vehicle/Formulation	Citric acid anhydrous USP in water						Citric acid anhydrous USP in water					
Method of Administration	PO (gavage)						PO (gavage)					
Sample	Plasma						Plasma					
Analyte	PRN1008 (rilzabrutinib)						PRN1008					
Assay	HPLC-MS/MS						HPLC-MS/MS					
TK Parameters												
Dose (mg/kg)	**50**		**150**		**500**		**50**		**150**		**500**	
Number of Animals M/F	**6 M**	**6 F**	**6 M**	**6 F**	**6 M**	**6 F**	**5 M**	**5 F**	**5 M**	**5 F**	**5 M**	**5 F**
t_{max} (h)	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5	1.0	0.95	0.55	0.30	1.4	0.95	3.0
C_{max} (ng/mL)	345	1400	828	2300	812	3350	566	448	485	1990	606	998
AUC_{last} (ng•h/mL)	1070	3510	5860	11900	10300	32000	1460	902	1250	8580	1770	6120
$t_{1/2}$ (h)	2.58	2.98	3.14	8.38	17.3[a]	NR	1.23	1.43	1.80	2.48	1.89	2.51

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IGS: International Genetic Standardization; M: Male; NR: Not reportable; PO: Oral; $t_{1/2}$: Half-life; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}; USP: United States pharmacopeia

a $t_{1/2}$ value should be interpreted with caution due to limited terminal phase time points.

4 薬物動態試験ー反復投与後の吸収

表 2.6.5.4 A - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose

Study title: Pharmacokinetics for PRN1008 (rilzabrutinib) in Female Wistar Han rats Following Oral and Intra-jejunal Dosing at 50 and 100 mg/kg				**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain	Rat/Wistar Han			**Study No.:**	[DVR0219]
Number of Animals, M/F	24 females (6/group)			**Location:**	4.2.1.2-5
Vehicle/Formulation	0.5 mole equivalents citric acid solution in water				
Method of Administration	Oral (gavage) or intra-jejunal				
Sample	Plasma				
Analyte(s)	PRN1008 (rilzabrutinib)				
Assay	HPLC-MS/MS				
Dose (mg/kg)	**Route**	**C_{max} (ng/mL)**	**t_{max} (h)**	**AUC_{last} (ng•h/mL)**	**AUC_{inf} (ng•h/mL)**
50 (following 3 day dosing)	IJ	1310	1	2880	2910
	PO	461	0.5	1480	1490
100 (following 3 day dosing)	IJ	5570	2	26600	26600
	PO	978	0.5	3720	3730

Abbreviations: AUC_{inf}: Area under the plasma concentration-time curve from time of dosing to infinity; AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IJ: Intra-jejunal; M: Male; PO: Oral; t_{max}: First time to reach C_{max}

表 2.6.5.4 B - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose

Study Title: 14 Day Oral GLP Pharmacokinetic Study of PRN1008 in Wistar Han Rats								**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**			
Species/Strain		Rat/Wistar Han						**Study No.:**		[1281-21219]	
Number of Animals, M/F		28 males and 28 females (14/group)						**Location:**		4.2.2.2-5	
Vehicle/Formulation		Citric acid anhydrous USP in water									
Method of Administration		Oral (gavage)									
Sample		Plasma									
Analyte(s)		PRN1008 (rilzabrutinib), PRN4400 (thiocyanate), PRN834, PRN618									
Assay		HPLC-MS/MS									
Dose (mg/kg)	**Analyte**	**C_{max} (ng/mL)**		**t_{max} (h)**		**AUC_{last} (ng•h/mL)**		**Relative Accumulation**		**MPR (Day 14)**	
		Day 1 (F/M)	**Day 14 (F/M)**	**Day 1 (F/M)**	**Day 14 (F/M)**	**Day 1 (F/M)**	**Day 14 (F/M)**	**C_{max} (F/M)**	**AUC_{last} (F/M)**	**C_{max} (F/M)**	**AUC_{last} (F/M)**
150	PRN1008	2030/558	1730/801	1.0/1.0	0.50/0.50	12500/5870	13200/5250	0.85 /1.44	1.05/0.89	NA	NA
	PRN834	1000/341	1320/596	8.0/1.0	4.0/1.0	13200/5000	16000/7410	1.32/1.75	1.22/1.48	1.08/1.05	1.72/1.99
	PRN4400	2470/2670	3170/4860	0.50/8.0	0.5/8.0	40800/56100	58100/96200	1.28/1.82	1.42/1.72	12.6/41.6	30.2/125
	PRN618	126/79.3	122/104	1.0/1.0	1.0/0.50	1310/1240	1200/1020	0.964/1.31	0.922/0.824	0.0769/0.142	0.0998/0.212
500	PRN1008	2790/910	4070/1720	0.50/1.0	4.0/4.0	16800/12900	37300/18200	1.46/1.89	2.22/1.41	NA	NA
	PRN834	1000/658	2760/1530	4.0/8.0	4.0/0.50	14700/12400	25100/18600	2.75/2.32	1.71/1.50	0.956/1.26	0.950/1.44
	PRN4400	2280/3290	7160/8020	24/24	24/24	32100/60100	149000/184000	3.14/2.44	4.63/3.06	12.0/32.0	27.4/69.1
	PRN618	170/187	347/400	0.50/1.0	1.0/0.50	1620/2870	3940/2600	2.04/2.14	2.43/0.906	0.0929/0.255	0.116/0.156

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male; MPR: metabolite to parent ratio; NA: Not applicable; t_{max}: First time to reach C_{max}; USP: United States pharmacopeia

表 2.6.5.4 C - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose

Study Title: Twenty-Eight Day Oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Rats						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain		Rat/Crl:WI(Han) Wistar Han IGS				**Study No.:**	[DVR0174]
Number of Animals, M/F		9 males and females (up to 3 animals/dose group/sex sampled at each time point)				**Location:**	4.2.3.2-3
Feeding Condition		Fed					
Vehicle/Formulation		Citric acid anhydrous USP in water					
Method of Administration		Oral gavage					
Sample		Plasma					
Analyte(s)		PRN1008 (rilzabrutinib)					
Assay		HPLC-MS/MS					
TK Parameters							
Dose (mg/kg)		**50**		**150**		**500**	
PRN1008		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
t_{max} (h)	**Day 1**	0.5	0.5	1.0	1.0	1.0	0.5
	Day 26	0.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1.0
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	464	796	659	1970	1020	3190
	Day 26	602	1650	1450	3460	2350	4270
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	1350	2650	4990	12400	12200	27900
	Day 26	1540	3490	5420	13600	23200	39900
$t_{1/2}$ (h)	**Day 1**	1.43	2.92	3.49	10.1	NC	NC
	Day 26	1.79	2.88	2.98	2.67	3.40	5.87

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IGS: International Genetic Standardization; M: Male; NC: Not calculable; $t_{1/2}$: Half-life; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}; USP: United States pharmacopeia

表 2.6.5.4 D - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose

Study title: Thirteen-week oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Rats				**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**			
Species/Strain		Rat/Crl:WI(Han) Wistar Han IGS				**Study No.:**	[DVR0207]
Number of Animals, M/F		12 males and females, culled to 9 males and females on Day 3 after exposure to test article confirmed (up to 3 animals/dose group/sex sampled at each time point)				**Location:**	4.2.3.2-4
Feeding Condition		Fed					
Vehicle/Formulation		Citric acid anhydrous USP in water					
Method of Administration		Oral gavage					
Sample		Plasma					
Analyte(s)		PRN1008 (rilzabrutinib), PRN618, and PRN834					
Assay		HPLC-MS/MS					
TK Parameters							
Dose (mg/kg)		**50**		**150**		**500**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN1008							
t_{max} (h)	**Day 1**	0.50	0.50	0.25	0.50	1.0	0.50
	Day 37	0.50	0.50	0.50	0.50	1.0	0.50
	Day 91/92	0.50	0.50	1.0	0.50	0.50	0.50
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	553	1150	707	2310	1010	3100
	Day 37	641	2190	952	2270	1760	4890
	Day 91/92	715	2690	1400	3220	2350	5730
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	970	3580	4030	9270	9930	23800
	Day 37	1480	3420	7780	13400	20300	32300
	Day 91/92	2170	3120	8450	17000	21300	34700

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; IGS: International Genetic Standardization; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}; USP: United States pharmacopeia

表 2.6.5.4 D - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose (Continued)

Study title: Thirteen-week oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Rats					**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**		
Dose (mg/kg)		**50**		**150**		**500**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN618							
t_{max} (h)	**Day 1**	0.50	1.0	1.0	0.50	1.0	1.0
	Day 37	0.50	0.50	0.50	0.50	1.0	0.50
	Day 91/92	1.0	0.50	1.0	0.50	0.50	0.50
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	82	92	114	172	192	206
	Day 37	105	165	197	197	251	623
	Day 91/92	137	189	303	282	342	764
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	269	632	1270	1310	2370	2650
	Day 37	434	546	1330	1450	3290	5910
	Day 91/92	659	662	1730	2360	3050	6600
PRN834							
t_{max} (h)	**Day 1**	1.0	1.0	1.0	4.0	1.0	4.0
	Day 37	1.0	1.0	1.0	1.0	4.0	4.0
	Day 91/92	1.0	1.0	1.0	1.0	4.0	4.0
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	245	548	397	722	641	965
	Day 37	347	722	582	1010	1340	1750
	Day 91/92	450	600	745	1260	1070	1560
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	855	3660	3540	10500	11200	19300
	Day 37	1570	3390	5680	13500	16100	20600
	Day 91/92	2060	4370	6650	17800	15200	24700

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; M: Male; t_{max}: First time to reach C_{max}

表 2.6.5.4 E - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose

Study title: Six-Month Oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Rats						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**			
Species/Strain		Rat/Crl:WI(Han) Wistar Han IGS				**Study No.**		[DVR0376]	
Number of Animals, M/F		9 males and females (up to 3 animals/dose group/sex sampled at each time point)				**Location:**		4.2.3.2-5	
Feeding Condition		Fed							
Vehicle/Formulation		Citric acid anhydrous USP in water							
Method of Administration		Oral gavage							
Sample		Plasma							
Analyte(s)		PRN1008 (rilzabrutinib), PRN618, and PRN834							
Assay		HPLC-MS/MS							
TK Parameters									
Dose (mg/kg)		**15**		**50**		**150**		**300**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN1008									
t_{max} (h)	**Day 1**	0.50	1.0	0.50	0.50	0.5	1.0	1.0	1.0
	Day 89	0.50	0.50	0.50	0.50	1.0	1.0	1.0	1.0
	Day 182	0.50	0.50	0.50	0.50	1.0	1.0	1.0	1.0
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	109	313	458	1520	599	3190	1040	2690
	Day 89	168	258	383	1600	808	3500	1570	5770
	Day 182	258	304	606	2010	1170	3440	2300	4950
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	299	810	1300	4060	3390	14000	9530	25600
	Day 89	404	909	2710	6620	5730	17600	12800	29900
	Day 182	394	721	2060	5760	6860	14100	17800	27200

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; IGS: International Genetic Standardization; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}; USP: United States pharmacopeia

表 2.6.5.4 E - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose (Continued)

Study title: Six-Month Oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Rats						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**			
Dose (mg/kg)		**15**		**50**		**150**		**300**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN1008									
$t_{1/2}$ (h)	**Day 1**	1.53	NC	2.05	2.04	2.78	3.08	3.48	NC
	Day 89	2.25	1.83	2.19	2.56	3.1	2.9	3.24	3.74
	Day 182	2.28	1.43	2.78	2.9	4.44	3.87	2.87	7.74
PRN618									
t_{max} (h)	**Day 1**	0.5	0.5	0.5	0.5	8	1	1	0.5
	Day 89	0.5	1	1	0.5	1	0.5	1	1
	Day 182	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1	1
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	11.3	27.4	45.7	117	122	139	144	196
	Day 89	43.5	25.7	74.1	137	151	212	223	537
	Day 182	77.2	38.8	122	190	202	267	403	665
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	42.8	72.6	232	313	1730	1220	1920	2350
	Day 89	93.8	106	554	703	1280	1730	2140	3410
	Day 182	181	153	574	766	1460	1660	2850	3950
$t_{1/2}$ (h)	**Day 1**	1.62	2.05	4.04	4.25	NC	7.4	5.37	NC
	Day 89	3.91	NC	4.45	5.15	5.33	7.3	5.8	7.76
	Day 182	4.83	7.02	5.28	6.4	6.7	10.8	6.05	9.8
M/P Ratio (AUC_{last})	**Day 1**	0.142	0.102	0.208	0.107	0.51	0.087	0.201	0.092
	Day 89	0.272	0.137	0.204	0.106	0.223	0.0984	0.168	0.114
	Day 182	0.376	0.196	0.278	0.133	0.213	0.118	0.16	0.145

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; M/P: Metabolite/parent; M: Male; NC: Not calculable; $t_{1/2}$: Half-life; t_{max}: First time to reach C_{max}

表 2.6.5.4 E - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose (Continued)

Study title: Six-Month Oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Rats						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**			
Dose (mg/kg)		**15**		**50**		**150**		**300**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN834									
t_{max} (h)	**Day 1**	1	1	1	4	4	1	4	8
	Day 89	0.5	1	4	1	4	1	4	4
	Day 182	0.5	1	1	1	1	1	4	1
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	61.5	159	185	382	370	755	475	1050
	Day 89	87.4	156	255	467	490	1080	945	1570
	Day 182	132	178	289	616	454	1270	1360	1830
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	266	555	1210	3200	3980	11200	7310	18800
	Day 89	423	877	2430	6140	5240	14200	10900	22100
	Day 182	701	838	2140	4960	6170	12900	13700	20300
$t_{1/2}$ (h)	**Day 1**	NC	NC	2.46	NC	NC	6.53	NC	NC
	Day 89	4.47	NC	NC	3.46	NC	4.57	NC	NC
	Day 182	3.02	NC	3.37	3.75	5.14	6.34	NC	NC
M/P Ratio (AUC_{last})	**Day 1**	0.997	0.754	0.796	0.788	1.18	0.798	0.767	0.735
	Day 89	1.28	1.09	0.897	0.927	0.914	0.804	0.857	0.737
	Day 182	1.46	1.28	1.03	0.861	0.899	0.915	0.769	0.747

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; M/P: Metabolite/parent; M: Male; NC: Not calculable; $t_{1/2}$: Half-life; t_{max}: First time to reach C_{max}

表 2.6.5.4 F - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose

Study title: Twenty-eight Day Oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Beagle Dogs						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain		Beagle dogs				**Study No.:**	[DVR0184]
Number of Animals, M/F		5 males and 5 females/group				**Location:**	4.2.3.2-9
Feeding Condition		Fed					
Vehicle/Formulation		Citric acid anhydrous USP in water					
Method of Administration		Oral gavage					
Sample		Plasma					
Analyte(s)		PRN1008 (rilzabrutinib)					
Assay		HPLC-MS/MS					
TK Parameters							
Dose (mg/kg)		**30**		**100**		**300**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN1008							
t_{max} (h)	**Day 1**	0.25	0.60	0.40	2.0	0.40	0.25
	Day 25	0.25	0.45	1.4	0.35	0.55	0.60
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	533	570	996	916	581	1010
	Day 25	514	486	1500	1450	1440	1380
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	845	1100	2150	7030	1580	2450
	Day 25	870	942	5040	3210	4550	7480
$t_{1/2}$ (h)	**Day 1**	1.11	1.04	1.29	3.58	3.48	2.34
	Day 25	1.80	1.03	2.49	2.56	2.17	1.83

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male; $t_{1/2}$: Half-life; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}; USP: United States pharmacopeia

表 2.6.5.4 G - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose

Study title: Thirteen-week oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Beagle Dogs						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain		Beagle dogs				**Study No.:**	[DVR0206]
Number of Animals, M/F		5 males and 5 females/group				**Location:**	4.2.3.2-11
Feeding Condition		Fed					
Vehicle/Formulation		Citric acid anhydrous USP in water					
Method of Administration		Oral gavage					
Sample		Plasma					
Analyte(s)		PRN1008 (rilzabrutinib), PRN618, PRN834					
Assay		HPLC-MS/MS					
TK Parameters							
Dose (mg/kg)		**30**		**100**		**300**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN1008 (rilzabrutinib)							
t_{max} (h)	**Day 1**	0.30	0.40	1.4	1.9	0.30	4.9
	Day 37	0.55	0.55	1.0	2.4	2.5	0.67
	Day 91/92	0.50	0.70	0.31	0.50	NC	0.25
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	575	365	441	1280	718	1730
	Day 37	591	444	844	918	2480	1140
	Day 91/92	592	484	736	1670	NC	1780
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	985	821	1500	5530	2170	12100
	Day 37	1350	903	3230	6160	14700	4190
	Day 91/92	1070	1040	1980	4410	NC	7350

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male; NC: Not calculable; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}; USP: United States pharmacopeia

Note: One male and female at 100 mg/kg and all males and 3 females at 300 mg/kg were euthanized for humane considerations between Day 27 and Day 66. Day 91 TK parameters could not be calculated in males receiving 300 mg/kg due to the unscheduled euthanasia events.

表 2.6.5.4 G - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose (Continued)

Study title: Thirteen-week oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Beagle Dogs						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Dose (mg/kg)		**30**		**100**		**300**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN618							
t_{max} (h)	**Day 1**	0.30	1.0	1.4	1.9	0.30	4.9
	Day 37	0.45	0.45	1.6	3.3	3.3	1.7
	Day 91/92	0.45	0.85	0.38	0.50	NC	0.75
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	401	273	286	800	452	871
	Day 37	481	364	537	636	1380	749
	Day 91/92	414	491	491	845	NC	858
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	1130	1150	1400	5490	2710	8910
	Day 37	1940	1270	3370	6660	14700	5190
	Day 91/92	1360	1740	3120	5520	NC	7860

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; M: Male; NC: Not calculable; t_{max}: First time to reach C_{max}

Note: One male and female at 100 mg/kg and all males and 3 females at 300 mg/kg were euthanized for humane considerations between Day 27 and Day 66. Day 91 TK parameters could not be calculated in males receiving 300 mg/kg due to the unscheduled euthanasia events.

表 2.6.5.4 G - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose (Continued)

Study title: Thirteen-week oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Beagle Dogs						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Dose (mg/kg)		**30**		**100**		**300**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN834							
t_{max} (h)	**Day 1**	1.6	2.8	2.8	2.8	7.4	6.4
	Day 37	2.8	2.2	4.0	6.0	4.0	4.0
	Day 91/92	2.2	2.2	3.1	4.0	NC	4.0
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	166	215	249	592	411	1270
	Day 37	234	196	761	1070	2130	1090
	Day 91/92	192	242	433	686	NC	923
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	997	1590	2030	6530	3940	14900
	Day 37	1660	1430	6340	13400	29100	9380
	Day 91/92	1370	1710	3860	7170	NC	11400

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; M: Male; NC: Not calculable; t_{max}: First time to reach C_{max}

Note: One male and female at 100 mg/kg and all males and 3 females at 300 mg/kg were euthanized for humane considerations between Day 27 and Day 66. Day 91 TK parameters could not be calculated in males receiving 300 mg/kg due to the unscheduled euthanasia events.

表 2.6.5.4 H - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose

Study title: Nine-Month Oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Beagle Dogs						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain		Beagle dogs				**Study No.**	[DVR0377]
Number of Animals, M/F		8 males and 8 females/group				**Location:**	4.2.3.2-12
Feeding Condition		Fed					
Vehicle/Formulation		Capmul MCM C8 EP/Transcutol HP/Antares Vitamin E TPGS NF in a ratio of 1:1:3 (w:w:w) in a size 11 gelatin capsule					
Method of Administration		Oral capsule					
Sample		Plasma					
Analyte(s)		PRN1008 (rilzabrutinib), PRN618, and PRN834					
Assay		HPLC-MS/MS					
TK Parameters							
Dose (mg/kg)		**15**		**30**		**50**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN1008 (rilzabrutinib)							
t_{max} (h)	**Day 1**	0.88	1.0	1.3	0.84	1.4	1.0
	Day 127	3.3	0.94	2.5	1.3	1.9	1.3
	Day 273	2.9	0.94	1.8	1.3	2.7	2.5
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	257	559	360	558	806	817
	Day 127	97.8	257	236	688	514	1090
	Day 273	65.7	202	257	339	593	940
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	482	1070	889	1370	2370	2370
	Day 127	239	495	613	1470	1540	3230
	Day 273	248	377	689	751	2410	3250

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}; w: Weight

表 2.6.5.4 H - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose (Continued)

Study title: Nine-Month Oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Beagle Dogs						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Dose (mg/kg)		**15**		**30**		**50**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN618							
t_{max} (h)	**Day 1**	1.6	1.0	1.3	0.93	1.8	1.4
	Day 127	3.8	0.94	2.4	1.8	2.7	1.7
	Day 273	2.9	1.3	2.1	1.3	3.1	2.5
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	148	294	273	358	331	368
	Day 127	77.8	191	186	356	324	578
	Day 273	45.0	134	199	245	393	500
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	529	828	1060	1350	1660	1890
	Day 127	364	651	985	1390	1950	3260
	Day 273	280	484	952	1100	2750	3240
M/P Ratio (AUC_{last})	**Day 1**	1.61	1.00	1.19	1.08	0.915	0.748
	Day 127	1.93	1.54	1.72	1.44	1.27	1.04
	Day 273	1.70	1.57	1.47	1.37	1.04	1.03

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; M/P: Metabolite/parent; M: Male; t_{max}: First time to reach C_{max}

表 2.6.5.4 H - Pharmacokinetics - Absorption after repeated dose (Continued)

Study title: Nine-Month Oral GLP Toxicity Study of PRN1008 in Beagle Dogs						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Dose (mg/kg)		**15**		**30**		**50**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
PRN834							
t_{max} (h)	**Day 1**	2.9	2.7	3.6	3.6	4.0	4.0
	Day 127	4.1	3.3	4.5	3.3	4.0	3.6
	Day 273	4.5	3.3	5.0	3.3	4.6	4.5
C_{max} (ng/mL)	**Day 1**	96.3	107	175	272	478	410
	Day 127	76.8	97.4	197	275	512	646
	Day 273	80.5	95.2	242	251	708	685
AUC_{last} (ng•h/mL)	**Day 1**	555	692	1090	1720	3350	2740
	Day 127	509	613	1540	1970	4170	5020
	Day 273	686	596	1950	1680	6310	5760
M/P Ratio (AUC_{last})	**Day 1**	2.51	1.02	1.39	1.50	1.78	1.11
	Day 127	4.47	1.62	3.40	2.78	2.66	1.77
	Day 273	4.21	2.12	3.59	2.52	2.75	2.01

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GLP: Good laboratory practice; M/P: Metabolite/parent; M: Male; t_{max}: First time to reach C_{max}

5 薬物動態試験ー臓器分布

表 2.6.5.5 - Pharmacokinetics - Qualitative organ distribution after a single dose

Study title: Excretion mass balance and tissue distribution by quantitative whole-body autoradiography in rats following a single oral dose of [^{14}C]-PRN1008							**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**		
Species/Strain	Rat/Sprague Dawley and Long-Evans						**Study No.:**	[DVR0159]	
Number of Animals, M/F	6 male Long-Evans; 3 male Sprague Dawley						**Location:**	4.2.2.5-1	
Feeding Condition	Fasted								
Vehicle/Formulation	0.015 M citric acid in water (pH 4.2)								
Method of Administration	PO (gavage)								
Dose (mg/kg)	40								
Radionuclide	^{14}C								
Specific Activity	Test article: 58 mCi/mmol; Formulation: 4.8008 µCi/mg [^{14}C]-PRN1008								
Sampling Time	0.5, 4, 24, 72, 120, 168 hours								
Analyte / Assay	^{14}C radiotracer/QWBA and LSC								
Tissue Type	**Tissue**	**Mean µg equiv/g tissue**								
		Group 4: Long-Evans						**Group 5: Sprague Dawley**		
		Rat # 14	**Rat # 15**	**Rat # 16**	**Rat # 17**	**Rat # 18**	**Rat # 19**	**Rat # 20**	**Rat # 21**	**Rat # 22**
		0.5 h	**4 h**	**24 h**	**72 h**	**120 h**	**168 h**	**0.5 h**	**4 h**	**24 h**
Vascular/ Lymphatic	Blood (cardiac)	0.648	1.927	1.365	0.732	0.510	0.247	0.938	2.371	1.301
Vascular/ Lymphatic	Bone Marrow	0.618	1.662	0.556	0.348	0.291	0.133	0.843	2.310	0.704
Vascular/ Lymphatic	Lymph Node	0.558	1.144	0.614	0.204	0.154	BLQ	0.902	1.403	0.622

Abbreviations: BLQ: Value is below the LLOQ; F: Female; LLOQ: Lower limit of quantification; LSC: Liquid scintillation counting; M: Male; PO: Oral; QWBA: quantitative whole body autoradiography

LLOQ = 0.104 µg equiv/g tissue

表 2.6.5.5 - Pharmacokinetics - Qualitative organ distribution after a single dose (Continued)

Study title: Excretion mass balance and tissue distribution by quantitative whole-body autoradiography in rats following a single oral dose of [^{14}C]-PRN1008								**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**		
Tissue Type	**Tissue**	**Mean µg equiv/g tissue**								
		Group 4: Long-Evans						**Group 5: Sprague Dawley**		
		Rat # 14	**Rat # 15**	**Rat # 16**	**Rat # 17**	**Rat # 18**	**Rat # 19**	**Rat # 20**	**Rat # 21**	**Rat # 22**
		0.5 h	**4 h**	**24 h**	**72 h**	**120 h**	**168 h**	**0.5 h**	**4 h**	**24 h**
Vascular/ Lymphatic	Spleen	1.123	1.925	1.113	0.414	0.293	0.19	1.677	2.577	0.998
Vascular/ Lymphatic	Thymus	0.286	0.757	0.382	0.176	0.125	BLQ	0.447	0.839	0.291
Excretory/Metabolic	Bile (in duct)	614.962	375.900	2.825	0.745	0.299	0.325	484.401	209.208	4.596
Excretory/Metabolic	Kidney (cortex)	2.392	2.870	1.178	0.592	0.386	0.299	2.777	5.025	1.481
Excretory/Metabolic	Kidney (medulla)	2.313	3.143	1.038	0.460	0.345	0.228	3.905	5.395	1.214
Excretory/Metabolic	Liver	19.721	29.717	5.467	3.276	2.078	1.186	33.029	38.432	6.566
Excretory/Metabolic	Urinary Bladder	0.578	1.577	0.982	1.053	0.328	0.212	7.600	2.359	1.551
Excretory/Metabolic	Urinary Bladder (contents)	1.885	4.021	0.422	0.252	0.107	0.160	2.418	18.669	0.293
Central Nervous System	Brain (cerebellum)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.187	BLQ
Central Nervous System	Brain (cerebrum)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.112	BLQ
Central Nervous System	Brain (medulla)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.105	BLQ
Central Nervous System	Spinal Cord	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.108	0.154	BLQ
Endocrine	Adrenal Gland	2.771	2.986	1.491	0.359	0.247	0.161	5.305	3.654	1.073
Endocrine	Pituitary Gland	0.949	1.754	1.059	0.199	0.362	0.214	1.203	2.314	0.866
Endocrine	Thyroid	1.400	2.879	0.983	0.501	0.295	0.314	1.598	2.192	0.984
Secretory	Harderian Gland	0.562	1.578	0.488	0.253	0.122	BLQ	0.503	2.695	0.584
Secretory	Mammary Gland Region	0.354	0.597	0.567	BLQ	BLQ	BLQ	0.787	1.451	0.605

Abbreviations: BLQ: Value is below the LLOQ; LLOQ: Lower limit of quantification
LLOQ = 0.104 µg equiv/g tissue

表 2.6.5.5 - Pharmacokinetics - Qualitative organ distribution after a single dose (Continued)

Study title: Excretion mass balance and tissue distribution by quantitative whole-body autoradiography in rats following a single oral dose of [^{14}C]-PRN1008							**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**		
Tissue Type	**Tissue**	**Mean µg equiv/g tissue**								
		Group 4: Long-Evans						**Group 5: Sprague Dawley**		
		Rat # 14	**Rat # 15**	**Rat # 16**	**Rat # 17**	**Rat # 18**	**Rat # 19**	**Rat # 20**	**Rat # 21**	**Rat # 22**
		0.5 h	**4 h**	**24 h**	**72 h**	**120 h**	**168 h**	**0.5 h**	**4 h**	**24 h**
Secretory	Pancreas	1.115	2.196	0.779	0.307	0.170	0.156	1.972	3.528	0.796
Secretory	Salivary Gland	0.980	1.478	0.529	0.260	0.154	BLQ	1.220	2.183	0.537
Fatty	Adipose (brown)	0.707	3.267	0.742	0.225	0.151	BLQ	2.212	5.903	0.859
Fatty	Adipose (white)	0.250	0.371	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.633	0.854	0.195
Dermal	Skin (non-pigmented)	0.330	1.240	1.114	0.153	0.337	0.122	0.440	2.504	1.397
Dermal	Skin (pigmented)	0.279	2.635	1.122	0.297	0.763	0.878	NA	NA	NA
Reproductive	Epididymis	0.195	0.908	0.609	0.194	0.127	BLQ	0.229	0.990	0.353
Reproductive	Prostate	0.257	0.923	0.489	0.312	0.165	0.189	0.557	1.488	0.815
Reproductive	Seminal vesicle	0.164	0.803	0.733	0.483	0.353	0.214	0.218	0.769	0.800
Reproductive	Testis	BLQ	0.647	0.439	0.129	0.146	0.146	BLQ	0.631	0.392
Skeletal/Muscular	Bone	BLQ	0.228	0.493	BLQ	BLQ	BLQ	0.149	0.561	0.352
Skeletal/Muscular	Heart	0.995	1.800	0.752	0.297	0.151	0.117	1.423	2.695	0.704
Skeletal/Muscular	Skeletal Muscle	0.258	0.619	0.250	0.114	BLQ	BLQ	0.514	0.887	0.247
Respiratory Tract	Lung	1.160	2.308	1.264	0.575	0.351	0.199	1.528	2.874	0.842
Alimentary Canal	Cecum	0.791	1.843	1.036	0.221	0.119	BLQ	1.540	3.976	2.376
Alimentary Canal	Cecum (contents)	BLQ	3.802	25.256	0.650	0.365	0.257	0.380	1324.023	42.052

Abbreviations: BLQ: Value is below the LLOQ; LLOQ: Lower limit of quantification; NA: Not Applicable
LLOQ = 0.104 µg equiv/g tissue

表 2.6.5.5 - Pharmacokinetics - Qualitative organ distribution after a single dose (Continued)

Study title: Excretion mass balance and tissue distribution by quantitative whole-body autoradiography in rats following a single oral dose of [^{14}C]-PRN1008								**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**		
Tissue Type	**Tissue**	**Mean µg equiv/g tissue**								
		Group 4: Long-Evans						**Group 5: Sprague Dawley**		
		Rat # 14	**Rat # 15**	**Rat # 16**	**Rat # 17**	**Rat # 18**	**Rat # 19**	**Rat # 20**	**Rat # 21**	**Rat # 22**
		0.5 h	**4 h**	**24 h**	**72 h**	**120 h**	**168 h**	**0.5 h**	**4 h**	**24 h**
Alimentary Canal	Colon	0.768	2.213	1.208	0.351	0.224	0.204	1.462	3.176	1.502
Alimentary Canal	Colon (contents)	NI	3.962	17.510	1.336	0.528	0.226	0.402	0.863	65.585
Alimentary Canal	Esophagus	31.908	3.972	20.684	0.426	0.491	0.839	19.765	2.018	1.076
Alimentary Canal	Oral Mucosa	1.030	0.524	1.136	0.201	0.237	BLQ	7.990	1.187	0.679
Alimentary Canal	Small Intestine	232.392	33.643	2.034	0.397	0.350	0.167	104.987	212.797	3.243
Alimentary Canal	Small Intestine (contents)	1646.110	257.452	3.969	1.900	0.370	0.245	753.058	*5495.888	30.801
Alimentary Canal	Stomach (gastric mucosa)	1982.522	12.345	14.381	1.205	1.306	0.465	1105.752	23.658	6.025
Alimentary Canal	Stomach (contents)	*4447.790	136.465	29.085	6.761	6.571	4.069	4089.605	1056.749	60.209
Ocular	Eye (lens)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Ocular	Eye (uvea)	0.607	2.665	1.687	1.662	2.038	1.114	0.375	0.641	0.171
Blood:plasma ratios		0.85	1.13	1.10	1.34	1.25	1.55	0.89	1.10	1.20

Abbreviations: BLQ: Value is below the LLOQ; LLOQ: Lower limit of quantification; NI: Tissue not collected during sectioning; ULOQ: Upper limit of quantification

* Value is above the ULOQ

LLOQ = 0.104 µg equiv/g tissue; ULOQ = 4368.647 µg equiv/g tissue

6 薬物動態試験ータンパク結合

表 2.6.5.6 A - Pharmacokinetics - Plasma protein binding

Study title: Protein Binding Measurements in Plasma by Using Equilibrium Dialysis Method			**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Study System:	In vitro		**Study No.**	[DVR0093], [DVR0094]
Test System and Method:	Plasma, Equilibrium dialysis followed by HPLC-MS/MS		**Location:**	4.2.2.3-1, 4.2.2.3-2
Study No.	**Species**	**Conc Tested**	**Mean % Bound**	
DVR0094	Mouse (n = 2)	1 µM	>98	
DVR0093	Rat (n = 2)	1 µM	>98	
DVR0094	Dog (n = 2)	1 µM	96	
DVR0093	Human (n = 2)	1 µM	97.5	

Abbreviations: HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry

表 2.6.5.6 B - Pharmacokinetics - Plasma protein binding

Study title: Partition measurements of PRN1008-001 in human, dog and rat whole blood		**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Study System	In vitro	**Study No.**	[DVR0083]
Test System	Human, dog, and rat whole blood	**Location:**	4.2.2.3-3
Method	Incubation of 5 µM PRN1008 (rilzabrutinib) at 37°C with shaking for 60 minutes		
Assay	HPLC-MS/MS		
Species	$K_{RBC/PL}$		
Rat (n = 2)	0.27		
Dog (n = 2)	0.40		
Human (n = 2)	0.47		

Abbreviations: HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; $K_{RBC/PL}$: Red blood cell to plasma ratio

7 薬物動態試験ー妊娠又は授乳動物における試験

表 2.6.5.7 A - Pharmacokinetics - Study in Pregnant or Nursing Animals

Study title: An Embryo-Fetal Development Study of PRN1008 by Oral Gavage in Rats					**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain	Rat/Crl:WI(Han) Wistar Han IGS				**Study No.**	[DVR0378]
Number of Animals, M/F	6 dams/test article-treated group				**Location:**	4.2.3.5.2-3
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Citric acid anhydrous in water					
Method of Administration	Oral gavage					
Sample	Plasma					
Analyte(s)	PRN1008 (rilzabrutinib), PRN618, and PRN834					
Assay	HPLC-MS/MS					
TK Parameters						
Dose (mg/kg)	**50**		**150**		**300**	
Gestation day	**GD7**	**GD17**	**GD7**	**GD17**	**GD7**	**GD17**
PRN1008 (rilzabrutinib)						
t_{max} (h)	0.5	0.5	0.5	1	0.5	0.5
C_{max} (ng/mL)	2590	2300	3470	2970	3390	3260
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	4280	3940	10600	18200	31200	15800
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	4290	3940	10700	18400	NR	17100
$t_{1/2}$ (h)	2.71	2.67	3.42	3.70	NR	7.07
Accumulation Ratio	NA	0.919	NA	1.71	NA	0.505

Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$: Area under the plasma concentration-time curve from time of dosing to infinity; AUC_{0-t}: Area under the plasma analyte concentration versus time curve from the time of dosing to the time of the last concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GD: Gestation day; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IGS: International Genetic Standardization; M: Male; NA: Not applicable; NR: Not reportable; $t_{1/2}$: Half-life; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}

Note: TK analysis was not conducted on the fetuses; therefore, this represents an absorption study rather than a distribution study.

表 2.6.5.7 A - Pharmacokinetics - Study in Pregnant or Nursing Animals (Continued)

Study title: An Embryo-Fetal Development Study of PRN1008 by Oral Gavage in Rats					**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Dose (mg/kg)	**50**		**150**		**300**	
Gestation day	**GD7**	**GD17**	**GD7**	**GD17**	**GD7**	**GD17**
PRN618						
t_{max} (h)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
C_{max} (ng/mL)	133	97.2	241	207	182	239
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	335	367	1010	1450	2760	1830
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	346	372	1050	1490	NR	2300
$t_{1/2}$ (h)	5.24	3.96	5.12	4.58	NR	11.1
Accumulation Ratio	NA	1.09	NA	1.44	NA	0.664
PRN834						
t_{max} (h)	0.5	1	1	4	8	1
C_{max} (ng/mL)	375	341	636	1060	1090	1160
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	2060	2380	5910	9210	23100	11600
$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	2080	2400	6100	NC	NC	NR
$t_{1/2}$ (h)	3.56	3.37	4.71	NC	NC	NR
Accumulation Ratio	NA	1.15	NA	1.56	NA	0.499

Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$: Area under the plasma concentration-time curve from time of dosing to infinity; AUC_{0-t}: Area under the plasma analyte concentration versus time curve from the time of dosing to the time of the last concentration; C_{max}: Maximum concentration; GD: Gestation day; NA: Not applicable; NC: Not calculable; NR: Not reportable; $t_{1/2}$: Half-life; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}

Note: TK analysis was not conducted on the fetuses; therefore, this represents an absorption study rather than a distribution study.

表 2.6.5.7 B - Pharmacokinetics - Study in Pregnant or Nursing Animals

Study title: PRN 1008 Free base - Dose range-finding study by the oral route (gavage) in the pregnant rabbit					**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain	Rabbit/New Zealand White				**Study No.**	[DVR0299]
Number of Animals, M/F	8 dams/ group				**Location:**	4.2.3.5.2-2
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Citirc acid anhydrous, USP in water					
Method of Administration	Oral gavage					
Sample	Plasma					
Analyte(s)	PRN1008 (rilzabrutinib)					
Assay	HPLC-MS/MS					
TK Parameters						
Dose (mg/kg)	**50**		**100**		**150**	
Gestation day	**GD6**	**GD19**	**GD6**	**GD19**	**GD6**	**GD19**
PRN1008 (rilzabrutinib)						
t_{max} (h)	0.25	0.25	1	0.5	1	0.5
C_{max} (ng/mL)	945	1820	3030	3420	3700	3460
AUC_{last} (ng•h/mL)	1050	1760	7010	5780	8340	8550

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GD: Gestation day; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male; t_{max}: First time to reach C_{max}; TK: Toxicokinetic; USP: United States pharmacopeia

Note: TK analysis was not conducted on the fetuses; therefore, this represents an absorption study rather than a distribution study.

表 2.6.5.7 C - Pharmacokinetics - Study in Pregnant or Nursing Animals

Study title: An Embryo-Fetal Development Study of PRN1008 by Oral Gavage in Rabbits					**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain	Rabbit/New Zealand White				**Study No.**	[DVR0379]
Number of Animals, M/F	3 dams/test article-treated group				**Location:**	4.2.3.5.2-4
Feeding Condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Citric acid anhydrous in water					
Method of Administration	Oral gavage					
Sample	Plasma					
Analyte(s)	PRN1008 (rilzabrutinib), PRN618, and PRN834					
Assay	HPLC-MS/MS					
TK Parameters						
Dose (mg/kg)	**10**		**30**		**100**	
Gestation day	**GD7**	**GD19**	**GD7**	**GD19**	**GD7**	**GD19**
PRN1008 (rilzabrutinib)						
t_{max} (h)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.8	0.5
C_{max} (ng/mL)	10.7	35.1	232	340	2240	5110
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	9.56	27.3	175	313	3980	6920
AUC_{inf} (ng•h/mL)	NC	NC	NC	364[a]	5270[a]	6930
$t_{1/2}$ (h)	NC	NC	NC	0.783[a]	0.606[a]	0.645
Accumulation Ratio	NA	3.23	NA	2.94	NA	1.76

Abbreviations: AUC_{inf}: Area under the plasma concentration-time curve from time of dosing to infinity; AUC_{0-t}: Area under the plasma analyte concentration versus time curve from the time of dosing to the time of the last concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; GD: Gestation day; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male; NA: Not applicable; NC: Not calculable; $t_{1/2}$: Half-life; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}

a n = 1 animal

Note: TK analysis was not conducted on the fetuses; therefore, this represents an absorption study rather than a distribution study.

表 2.6.5.7 C - Pharmacokinetics - Study in Pregnant or Nursing Animals (Continued)

Study title: An Embryo-Fetal Development Study of PRN1008 by Oral Gavage in Rabbits					**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Dose (mg/kg)	**10**		**30**		**100**	
Gestation day	**GD7**	**GD19**	**GD7**	**GD19**	**GD7**	**GD19**
PRN618						
t_{max} (h)	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0	0.8
C_{max} (ng/mL)	7.59	33.6	129	188	813	1820
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	7.72	40.5	156	328	2510	5230
AUC_{inf} (ng•h/mL)	NC	36.1[b]	67.3[b]	339	2530	5280
$t_{1/2}$ (h)	NC	1.65[b]	1.44[b]	2.41	3.63	3.87
Accumulation Ratio	NA	6.83	NA	3.33	NA	2.07
PRN834						
t_{max} (h)	2.0	1.3	1.7	1.3	2.0	1.3
C_{max} (ng/mL)	28.3	21.1	162	142	910	1280
AUC_{0-t} (ng•h/mL)	280	124	1110	903	6270	6300
AUC_{inf} (ng•h/mL)	NC	271[a]	1590[a]	1040[b]	NC	5070[b]
$t_{1/2}$ (h)	NC	5.87[a]	6.49[a]	5.30[b]	NC	3.46[b]
Accumulation Ratio	NA	0.482	NA	0.868	NA	0.981

Abbreviations: AUC_{inf}: Area under the plasma concentration-time curve from time of dosing to infinity; AUC_{0-t}: Area under the plasma analyte concentration versus time curve from the time of dosing to the time of the last concentration; C_{max}: Maximum concentration; GD: Gestation day; NA: Not applicable; NC: Not calculable; $t_{1/2}$: Half-life; TK: Toxicokinetic; t_{max}: First time to reach C_{max}

a n = 1 animal

b n = 2 animals

Note: TK analysis was not conducted on the fetuses; therefore, this represents an absorption study rather than a distribution study.

8　薬物動態試験－その他の分布試験

その他の分布試験は実施しなかった。

9 薬物動態試験ーIn vivo における代謝

表 2.6.5.9 A - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma, Urine, Bile, and Feces

Study title: Metabolite Profiling of [^{14}C]PRN1008 in Plasma, Urine, Bile, and Feces from Sprague Dawley Rats		**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain	Rat/Sprague Dawley	**Study No.**	[DVR0527]
Number of Animals, M/F	12 males (3 intact, 3 BDC, 6 JVC)	**Location:**	4.2.2.4-13
Feeding Condition	Fasted		
Vehicle/Formulation	2:1 API:citric acid solution (0.015 M citric acid in water, pH 4.2)		
Method of Administration	PO (gavage)		
Dose (mg/kg)	40		
Radionuclide	^{14}C		
Specific Activity	Test article: 58 mCi/mmol; Formulation: 4.8008 µCi/mg [^{14}C]-PRN1008		
Sampling Time	Urine: Pre-dose, 0-8, 8-24, 24-hour intervals to 96 hours (BDC rats) or 168 hours (intact rats) post dose Feces: Pre-dose, 24-hour intervals to 96 hours (BDC rats) or 168 hours (intact rats) post dose Bile: Pre-dose, 0-4, 4-8, 8-24, 24-hour intervals to 96 hours (BDC rats) post dose Plasma: Pre-dose and 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, and 72 hours post dose from JVC rats		
Samples	Sample pooling for metabolite profiling (equivolume) Urine 0-72 h, Feces 0-24 h, Bile 0-24 h and Plasma 0-72 h		
Analyte / Assay	^{14}C radiotracer / HPLC-MS/MS coupled with a RFD was used for metabolite profiling and characterization; [^{14}C]-PRN1008 and its metabolites were separated using reverse phase chromatography and detected using a RFD and a mass spectrometer simultaneously.		

Abbreviations: API: Active pharmaceutical ingredient; BDC: bile duct-cannulated rats; F: Female; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; JVC: Jugular-vein cannulated rats; M: Male; PO: Oral; RFD: Radio flow-through detector

表 2.6.5.9 A - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma, Urine, Bile, and Feces (Continued)

Study title: Metabolite Profiling of [^{14}C]PRN1008 in Plasma, Urine, Bile, and Feces from Sprague Dawley Rats						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**			
Compound	**Retention time (min)**	**Molecular ion (M+H)+**	**Possible metabolite**	**Plasma[a] (JVC)**	**Urine (Intact)**	**Urine (BDC)**	**Bile (BDC)**	**Feces (Intact)**	**Feces (BDC)**
PRN1008	25.1	666	PRN1008	ND	ND	ND	ND	3.1	8.8
M1	1.7	ND	PRN4400[b]	1.6	1.5	2.0	ND	ND	ND
M2	13.7	989	Unknown	ND	ND	ND	2.8	ND	ND
M3	19.0	762	M6 + 80 Da	ND	ND	ND	25.5	15.3	ND
M4	20.1	568	M9 + 80 Da	ND	ND	ND	10.5	ND	ND
M5	20.3	684	PRN1008 + 18 Da	ND	ND	ND	ND	8.4	ND
M6	20.6	682	PRN1008 + O	ND	ND	ND	ND	15.7	ND
M7	22.6	541	PRN1008 N-dealkylation to gemdimethyl amino	ND	ND	ND	5.1	ND	ND
M8	22.9	504	PRN834 + 2O	ND	ND	0.7	4.5	4.7	ND
M9	23.1	488	PRN834 + O	ND	ND	ND	ND	8.9	ND
M10	23.7	610	PRN618	ND	ND	0.3	ND	6.2	7.3
M11	28.9	472	PRN834	0.1	ND	ND	9.6	3.3	0.8
Total (% of Dose)				1.7	1.5	3.0	55.2	65.6	17.0

Abbreviations: BDC: bile duct-cannulated rats; C_{max}: Maximum concentration; JVC: Jugular-vein cannulated rats; ND: Not detected by radio detector

a Observed exposure in plasma from radio-chromatograms represented as C_{max} (µg equivalent/mL); reflects total exposure and not % of dose.

b Originally reported as M1 as co-eluting with cyanoacetic acid; later identified as thiocyanate and referred to as PRN4400.

表 2.6.5.9 B - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma

Metabolite Quantification in Rat, Dog, and Human							**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**			
Feeding Condition		Fed (rats and dogs)								
Vehicle/Formulation		Citric acid in water (rats and dogs)								
Method of Administration		Oral gavage (rats and dogs); human healthy male volunteers: part 1: PO 400 mg tablet + IV microtracer; part 2: oral liquid formulation 300 mg [^{14}C]								
Dose (mg/kg)		50, 150, and 500 (rats and dogs)								
Sample		Plasma (Day 14)								
Assay		HPLC-MS/MS								
Number of Animals		36 rats (6/sex/group)			56 rats (14/sex/group)		6 dogs (1/sex/group)			4 humans
Study No.		[DVR0189]			[1281-21219]		[DVR0188]			[PRN1008-015]
Location		4.2.2.4-12			4.2.2.2-5		4.2.2.4-11			5.3.1.1-1
Species		**Rat** *a*			**Rat** *a*		**Dog** *a*			**Human**
Analyte	**Dose (mg/kg)**	**50**	**150**	**500**	**150**	**500**	**50**	**150**	**500**	**400 mg** *b*
PRN1008 (rilzabrutinib)	**C_{max}**	542	1008	1979	1265.5	2895	178.5	736.5	3325	322
	AUC	1384	6964	24328	9225	27750	343.8	2069.7	27944	828
PRN618 (M6, M9, M11)	**C_{max}**	72	126	244	113	373.5	111.0	326	1685	38.9
	AUC	339	1118	3302	1110	3270	561.1	2462.9	32405.9	NC
	C_{max} % (M/P)	13	12	12	9	13	62.2	44.3	50.7	12.1
	AUC % (M/P)	25	16	14	12	12	163.2	119	116	NC

Abbreviations: AUC: Area under the curve; C_{max}: Maximum concentration; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IV: Intravenous; M/P: Metabolite/parent ratio; NC: Not calculable; PO: Oral

a Day 14 values are shown for rat and dog, male and female combined.

b 400 mg single dose administration in healthy volunteer subjects; for a 60 kg adult, this equates to approximately 6.67 mg/kg.

表 2.6.5.9 B - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma (Continued)

Metabolite Quantification in Rat, Dog, and Human							**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**			
Study No.		[DVR0189]			[1281-21219]		[DVR0188]			[PRN1008-015]
Location		4.2.2.4-12			4.2.2.2-5		4.2.2.4-11			5.3.1.1-1
Species		**Rat** *a*			**Rat** *a*		**Dog** *a*			**Human**
Analyte	**Dose (mg/kg)**	**50**	**150**	**500**	**150**	**500**	**50**	**150**	**500**	**400 mg** *b*
PRN834 (M16)	**C_{max}**	286	757	1384	958	2145	82.5	298	1655	186
	AUC	2062	8368	19676	11705	21850	708.1	3088.5	25201.9	1180
	C_{max} % (M/P)	53	75	70	76	74	46.2	40.5	49.8	57.8
	AUC % (M/P)	149	120	81	127	79	205.9	149.2	90.2	142.5
PRN1186 (M8)	**C_{max}**	21	49	90	-	-	22.5	85.9	390	NC
	AUC	63	342	1014	-	-	99.3	364.4	4003.5	NC
	C_{max} % (M/P)	4	5	5	-	-	12.6	11.7	11.7	NC
	AUC % (M/P)	5	5	4	-	-	28.9	17.6	14.3	322
protonated PRN1008 (M5)	**C_{max}**	9	19	33	-	-	2.5	12	97.4	NC
	AUC	24	111	410	-	-	15.4	54.8	2257.1	NC
	C_{max} % (M/P)	2	2	2	-	-	1.4	1.6	2.9	NC
	AUC % (M/P)	2	2	2	-	-	4.5	2.6	8.1	NC
PRN4400 (thiocyanate)	**C_{max}**	-	-	-	4015	7590	-	-	-	796
	AUC	-	-	-	77150	166500	-	-	-	103000
	C_{max} % (M/P)	-	-	-	317	262	-	-	-	247
	AUC % (M/P)	-	-	-	836	600	-	-	-	12400

Abbreviations: AUC: Area under the curve; C_{max}: Maximum concentration; M/P: Metabolite/parent ratio; NC: Not calculable

- = not assessed;

a Day 14 values are shown for rat and dog, male and female combined.

b 400 mg single dose administration in healthy volunteer subjects; for a 60 kg adult, this equates to approximately 6.67 mg/kg.

表 2.6.5.9 C - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma

Study title: PRN1008 E/Z Isomer Interconversion When Dosed in Rats			**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
No. M/F /dose	8 females (4/group)		**Study No.**	[DVR0186]
Feeding Condition	Not reported		**Location:**	4.2.2.4-9
Vehicle/Formulation	Citric acid in water			
Method of Administration	Oral gavage			
Dose (mg/kg)	50 mg/kg PRN1008 (rilzabrutinib), E isomer or Z isomer			
Sample	Plasma			
Assay	HPLC-MS/MS			
	PRN1008 isomer dosed		**Interconversion of isomer**	
	E isomer	**Z isomer**	**E (dosed) to Z**	**Z (dosed) to E**
AUC (ng•h/mL)	[redacted]			
C_{max} (ng/mL)				

Abbreviations: AUC: Area under the curve; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male

表 2.6.5.9 D - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma

Study title: E/Z Isomer Interconversion in Rats, Dogs, and Humans								**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**					
No. M/F /dose		54 rats (9/sex/group); 30 dogs (5/sex/group); X humans (X/sex)						**Study No.**		[DVR0162], [PRN1008-001]			
Feeding Condition		Fed (rats and dogs); Fasted (humans)						**Location:**		4.2.2.4-10, 5.3.3.1-1			
Vehicle/Formulation		Citric acid in water											
Method of Administration		Oral gavage (rat and dog) or oral solution (human)											
Dose		Rat: 50, 150, and 500 mg/kg; Dog: 30, 100, and 300 mg/kg; Human: 300 mg total dose											
Sample		Plasma											
Assay		HPLC-MS/MS											
Species		**Rat**											
Gender		**Female**						**Male**					
		E Isomer		**Z Isomer**		**% Z isomer**		**E Isomer**		**Z Isomer**		**% Z isomer**	
Dose (mg/kg)	**Day**	**C_{max}**	**AUC_{last}**	**C_{max}**	**AUC_{last}**	**C_{max}**	**AUC_{last}**	**C_{max}**	**AUC_{last}**	**C_{max}**	**AUC_{last}**	**C_{max}**	**AUC_{last}**
50	1	[redacted]											
50	26												
150	1												
150	26												
500	1												
500	26												

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male
Units missing in original report; most probably AUC in ng•h/mL and C_{max} in ng/mL.

表 2.6.5.9 D - Pharmacokinetics - In vivo metabolism in Plasma (Continued)

Study title: E/Z Isomer Interconversion in Rats, Dogs, and Humans								Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)					
Species		Dog											
Gender		Female						Male					
		E Isomer		Z Isomer		% Z isomer		E Isomer		Z Isomer		% Z isomer	
Dose (mg/kg)	Day	C_{max}	AUC_{last}	C_{max}	AUC_{last}	C_{max}	AUC_{last}	C_{max}	AUC_{last}	C_{max}	AUC_{last}	C_{max}	AUC_{last}
30	1	[redacted]											
30	25												
100	1												
100	25												
300	1												
300	25												
Species		Human (Male and Female Combined)[a]											
300 mg (total dose)	10	[redacted]						NA	NA	NA	NA	NA	NA

Abbreviations: AUC_{last}: Area under the curve from the time of dosing to the time of the last measurable concentration; C_{max}: Maximum concentration; F: Female; M: Male; NA: Not applicable as data is combined for both genders; PK: Pharmacokinetic
Units missing in original report; most probably AUC in ng•h/mL and C_{max} in ng/mL.
a 300 mg single dose in liquid dosage form is approximately equivalent to 400 mg tablet; PK parameters average of male and females.

10　薬物動態試験ーIn vitro における代謝

表 2.6.5.10 A - Pharmacokinetics - In vitro metabolism

Study title: PRN1008: In vitro stability and formation of three major metabolites in human liver, lung, and intestinal S9 fractions and human intestinal flora							**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**		
Study System:		Mixed-gender human liver, lung, and S9 fractions (pooled from 4 donors) or human intestinal flora preparations (obtained from feces of 2 male donors) incubated with 1 and 10 µM PRN1008; analyzed by LC/MS					**Study No.**	[DVR0105]	
							Location:	4.2.2.4-7	
Time		0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, and 2 hours (liver, lung, and intestine); 0 and 24 hours (feces)							
Test System	**µM PRNI008**	**% of PRN1008 and Metabolite in Incubations**							**$t_{1/2}$ (hours)**
		Time (hours)	**0**	**0.25**	**0.5**	**1.0**	**1.5**	**2.0**	**24**	
Liver S9 Fraction	1	**PRN1008**	**100**	**27.2**	**16.4**	**10.4**	**12.6**	**9.60**	**-**	**0.13**
		PRN618	BLQ*	14.4	12.6	6.00	3.70	2.30	-	
		PRN834	BLQ*	10.7	14.7	15.6	13.9	13.2	-	
		PRN1186	1.00*	BLQ	BLQ	1.30	1.70	BLQ	-	
		Total%	**100**	**52.3**	**43.7**	**33.3**	**31.9**	**25.1**	-	
	10	**PRN1008**	**100**	**74.6**	**64.0**	**39.1**	**29.9**	**22.8**	-	**0.83**
		PRN618	BLQ*	3.27	5.45	8.13	8.48	8.92	-	
		PRN834	BLQ*	3.04	6.23	12.3	14.7	17.2	-	
		PRN1186	BLQ*	1.49	1.98	1.85	1.45	1.25	-	
		Total%	**100**	**82.4**	**77.7**	**61.4**	**54.5**	**50.2**	-	

Abbreviations: BLQ: Below the limit of quantification; LC/MS: Liquid Chromatography with mass spectrometry; $t_{1/2}$: Half-life

Note:

- sample was not measured at this time point;

The percent of PRN1008 in each incubation mixture was calculated based on its 0-hour response. The percent of formed metabolites was calculated by dividing the measured µM values by the initial test article concentration (ie, 1 or 10 µM).

* At 0 hours, the monitored metabolites were detected at trace levels. They were also detected in the negative control samples and test article solutions, indicating that they were present as impurities in the test article at trace levels.

Analytes detected at <1% of the initial PRN1008 concentrations (metabolite concentrations of 0.01 and 0.1 µM at initial PRN1008 concentrations of 1 and 10 µM, respectively) are presented as BLQ.

表 2.6.5.10 A - Pharmacokinetics - In vitro metabolism (Continued)

Study title: PRN1008: In Vitro Stability and Formation of Three Major Metabolites in Human Liver, Lung, and Intestinal S9 Fractions and Human Intestinal Flora									**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**
Test System	**μM PRNI008**	**% of PRN1008 and Metabolite in Incubations**							**$t_{1/2}$ (hours)**
		Time (hours)	**0**	**0.25**	**0.5**	**1.0**	**1.5**	**2.0**	**24**	
Lung S9 Fraction	1	**PRN1008**	**100**	**89.3**	**83.3**	**80.1**	**72.5**	**48.7**	-	**2.31**
		PRN618	BLQ*	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	-	
		PRN834	BLQ*	BLQ	BLQ	1.20	1.20	1.30	-	
		PRN1186	1.00*	1.40	1.60	1.90	3.00	2.10	-	
		Total%	**100***	**90.7**	**84.9**	**83.2**	**76.7**	**52.1**	-	
	10	**PRN1008**	**100**	**99.4**	**102**	**90.3**	**95.7**	**103**	-	**Stable**
		PRN618	BLQ*	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	-	
		PRN834	BLQ*	BLQ	BLQ	1.31	1.59	2.16	-	
		PRN1186	BLQ*	BLQ	BLQ	1.00	1.20	1.45	-	
		Total%	**100**	**99.4**	**102**	**92.6**	**98.5**	**107**	-	

Abbreviations: BLQ: Below the limit of quantification; $t_{1/2}$: Half-life

Note:

- sample was not measured at this time point;

The percent of PRN1008 in each incubation mixture was calculated based on its 0-hour response. The percent of formed metabolites was calculated by dividing the measured μM values by the initial test article concentration (ie, 1 or 10 μM).

* At 0 hours, the monitored metabolites were detected at trace levels. They were also detected in the negative control samples and test article solutions, indicating that they were present as impurities in the test article at trace levels.

Analytes detected at <1% of the initial PRN1008 concentrations (metabolite concentrations of 0.01 and 0.1 μM at initial PRN1008 concentrations of 1 and 10 μM, respectively) are presented as BLQ.

表 2.6.5.10 A - Pharmacokinetics - In vitro metabolism (Continued)

Study title: PRN1008: In Vitro Stability and Formation of Three Major Metabolites in Human Liver, Lung, and Intestinal S9 Fractions and Human Intestinal Flora									**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**
Test System	**μM PRNI008**	**% of PRN1008 and Metabolite in Incubations**							**$t_{1/2}$ (hours)**
		Time (hours)	**0**	**0.25**	**0.5**	**1.0**	**1.5**	**2.0**	**24**	
Intestinal S9 Fraction	1	**PRN1008**	**100**	**40.4**	**28.8**	**12.7**	**9.60**	**4.70**	-	**0.22**
		PRN618	BLQ*	10.2	9.70	7.80	6.20	5.20	-	
		PRN834	BLQ*	6.90	10.3	13.6	13.1	14.1	-	
		PRN1186	BLQ*	1.20	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	-	
		Total%	**100***	**58.7**	**48.8**	**34.1**	**28.9**	**24.0**	-	
	10	**PRN1008**	**100**	**97.2**	**90.2**	**66.5**	**43.5**	**36.9**	-	**1.42**
		PRN618	BLQ*	2.83	4.59	7.57	7.93	8.77	-	
		PRN834	BLQ*	1.60	2.20	5.42	5.75	7.26	-	
		PRN1186	BLQ*	1.93	2.90	3.92	3.17	3.29	-	
		Total%	**100**	**104**	**99.9**	**83.4**	**60.3**	**56.2**	-	

Abbreviations: BLQ: Below the limit of quantification; $t_{1/2}$: Half-life

Note:

- sample was not measured at this time point;

The percent of PRN1008 in each incubation mixture was calculated based on its 0-hour response. The percent of formed metabolites was calculated by dividing the measured μM values by the initial test article concentration (ie, 1 or 10 μM).

* At 0 hours, the monitored metabolites were detected at trace levels. They were also detected in the negative control samples and test article solutions, indicating that they were present as impurities in the test article at trace levels.

Analytes detected at <1% of the initial PRN1008 concentrations (metabolite concentrations of 0.01 and 0.1 μM at initial PRN1008 concentrations of 1 and 10 μM, respectively) are presented as BLQ.

表 2.6.5.10 A - Pharmacokinetics - In vitro metabolism (Continued)

Study title: PRN1008: In Vitro Stability and Formation of Three Major Metabolites in Human Liver, Lung, and Intestinal S9 Fractions and Human Intestinal Flora									**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**
Test System	**μM PRNI008**	**% of PRN1008 and Metabolite in Incubations**							**$t_{1/2}$ (hours)**
		Time (hours)	**0**	**0.25**	**0.5**	**1.0**	**1.5**	**2.0**	**24**
Feces	1	**PRN1008**	**100**	-	-	-	-	-	**56.7**	**NC**
		PRN618	BLQ*	-	-	-	-	-	BLQ	
		PRN834	1.00*	-	-	-	-	-	44.0	
		PRN1186	1.00*	-	-	-	-	-	2.00	
		Total%	**100***	-	-	-	-	-	**103**	
	10	**PRN1008**	**100**	-	-	-	-	-	**61.8**	**NC**
		PRN834	BLQ*	-	-	-	-	-	BLQ	
		PRN1186	1.50*	-	-	-	-	-	44.4	
		PRN618	BLQ*	-	-	-	-	-	1.30	
		Total%	**100***	-	-	-	-	-	**108**	

Abbreviations: BLQ: Below the limit of quantification; NC: Not calculable; $t_{1/2}$: Half-life

Note:

- sample was not measured at this time point;

The percent of PRN1008 in each incubation mixture was calculated based on its 0-hour response. The percent of formed metabolites was calculated by dividing the measured μM values by the initial test article concentration (ie, 1 or 10 μM).

* At 0 hours, the monitored metabolites were detected at trace levels. They were also detected in the negative control samples and test article solutions, indicating that they were present as impurities in the test article at trace levels.

Analytes detected at <1% of the initial PRN1008 concentrations (metabolite concentrations of 0.01 and 0.1 μM at initial PRN1008 concentrations of 1 and 10 μM, respectively) are presented as BLQ.

表 2.6.5.10 B - Pharmacokinetics - In vitro metabolism

Study title: Metabolic stability of PRN1008 in Microsomes, S9 fractions, or Hepatocytes				**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**		
Method	Liver microsomes (0.5 mg/mL) or S9 fractions (1 mg/mL) incubated with 2 µM PRN1008 ± NADPH (1 mM) at 37°C. Reaction stopped at 0, 15, 30, 45, and 60 minutes with cold methanol containing internal standard (200 nM imipramine, 200 nM labetalol, and 2 µM ketoprofen). Hepatocytes (0.5 x 10^6 cells/mL) incubated with 1 µM PRN1008 and amount of compound remaining assessed at 0, 15, 30, 60, and 90 minutes. All samples analyzed by HPLC-MS/MS.			**Study No.**	[DVR0089], [DVR0090], [DVR0096], [DVR0086], [DVR0180]	
				Location:	4.2.2.4-1, 4.2.2.4-2, 4.2.2.4-3, 4.2.2.4-4, 4.2.2.4-5	
	Cl_{int} (µL/min/mg protein or µL/min/10^6 cells)			**$t_{1/2}$ (min)**		
Species	**Rat**	**Dog**	**Human**	**Rat**	**Dog**	**Human**
Liver microsomes (DVR0089, DVR0090)	190	164	178	7.3	8.5	7.8
S9 fractions (DVR0096)	84	45	23	8.3	15.5	29.5
Hepatocytes (DVR0086, DVR0180)	90	76	53	-	-	-

Abbreviations: Cl_{int}: Intrinsic clearance; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NADPH: β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; $t_{1/2}$: Half-life

- not calculated in this assay

表 2.6.5.10 C - Pharmacokinetics - In vitro metabolism

Study title: Stability of PRN1008 in Human, Rat, and Dog Plasma			**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**
Method	5 µM PRN1008 incubated in plasma samples at 37°C and the reaction stopped at 0, 15, 30, 45, 60, and 120 minutes by the addition of cold acetonitrile containing internal standards (200 nM imipramine, 200 nM labetalol, and 200 nM diclofenac). Samples were centrifuged at 16000 g for 20 minutes, and the concentration of PRN1008 in the supernatant was measured by HPLC-MS/MS.		**Study No.** [DVR0092] **Location:** 4.2.2.4-6
PRN1008 (%)			
Time (min)	**Human**	**Dog**	**Rat**
0	100.00	100.00	100.00
15	99.70	103.04	95.34
30	100.75	100.38	91.47
45	93.28	95.08	92.40
60	87.76	92.51	89.61
120	82.69	67.36	68.94

Abbreviation: HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry

表 2.6.5.10 D - Pharmacokinetics - In vitro metabolism

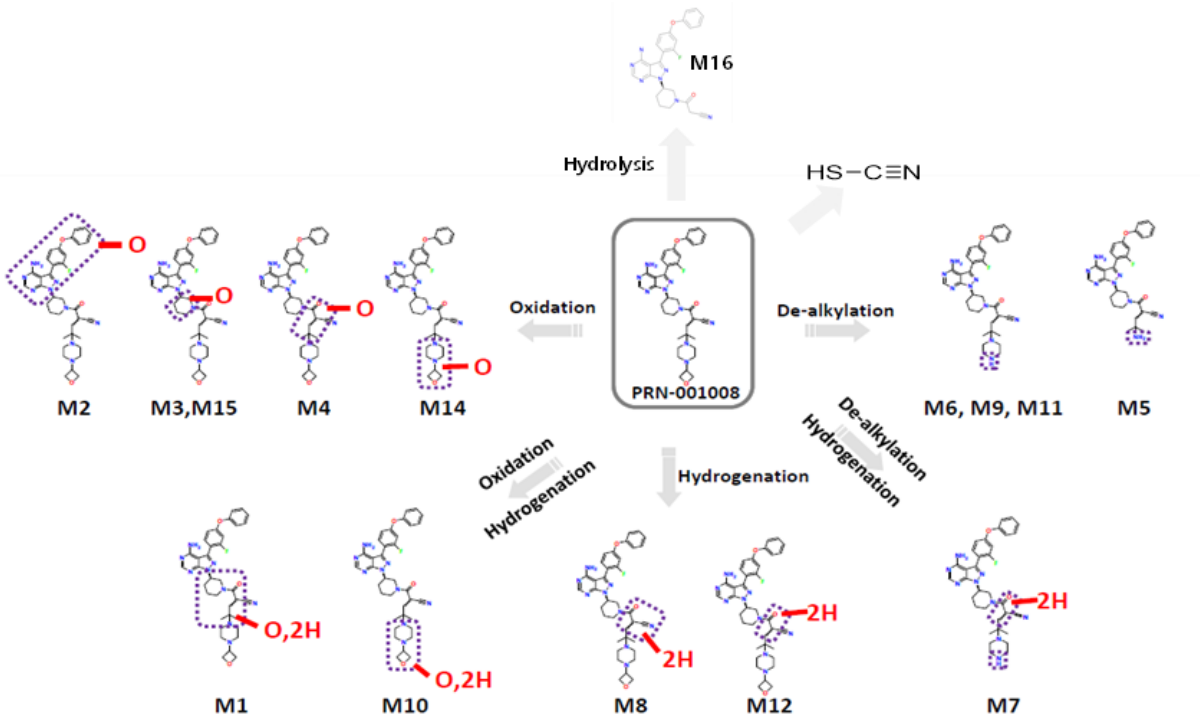
Study title: Metabolite Identification in Human, Dog, and Rat Liver S9 Fractions			**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**
Method	S9 fractions (1 mg/mL) incubated with 10 µM PRN1008 and 2 mM NADPH for 30 and 60 minutes. Incubations quenched with 3 volumes of acetonitrile (3% FA) followed by centrifugation for 15 minutes at 16000 g, after which the supernatant was analyzed by LC-MS/MS.	**Study No.**	[DVR0088]
		Location:	4.2.2.4-8
Concentration (% relative LC-MS/MS peak area) @ 60 min in different species			
Analyte	**Rat**	**Dog**	**Human**
PRN1008 (rilzabrutinib)	1 - 10	1 - 10	>10
M1	1 - 10	1 - 10	1 - 10
M2	1 - 10	1 - 10	<1
M3	>10	1 - 10	1 - 10
M4	1 - 10	1 - 10	<1
M5	>10	1 - 10	1 - 10
M6 (PRN618)	1 - 10	1 - 10	1 - 10
M7	Not detected	>10	<1
M8 (PRN1186)	Not detected	>10	>10
M9 (PRN618)	1 - 10	1 - 10	1 - 10
M10	1 - 10	1 - 10	1 - 10
M11 (PRN618)	>10	>10	1 - 10
M12 (PRN1186)	Not detected	1 - 10	>10
M14	1 - 10	1 - 10	1 - 10
M15	1 - 10	1 - 10	<1
M16 (PRN834)	Not detected	Not detected	Not detected
PRN4400 (thiocyanate)	Not detected	Not detected	Not detected

Abbreviations: FA: Formic acid; LC-MS/MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NADPH: β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

11　薬物動態試験ー推定代謝経路

表 2.6.5.11 - Pharmacokinetics - Possible metabolic pathways

Study system: Metabolite Identification of PRN-001008 in Human, Dog and Rat Liver S9 Fraction	**Study number:** [DVR0088]
Test article: PRN1008 (rilzabrutinib)	**Location:** 4.2.2.4-8
Species (strain): rats, dogs, and humans	



Note: M16 (PRN834) and thiocyanate (PRN4400) are only observed in vivo.

12　薬物動態試験－薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当なし。ヒト生体試料を用いて実施した誘導／阻害試験については、Module [2.7.2]を参照のこと。

13 薬物動態試験ー排泄

表 2.6.5.13 - Pharmacokinetics - Excretion after a single dose

Study title: Excretion in Urine and Feces in Rats				**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain		Rat/Sprague Dawley		**Study No.**	[DVR0159]
Number of Animals, M/F		3 males		**Location:**	4.2.2.5-1
Feeding Condition		Fasted			
Vehicle/Formulation		0.015 M citric acid in water (pH 4.2)			
Method of Administration		PO (gavage)			
Dose (mg/kg)		40 mg/kg of [^{14}C] labelled-rilzabrutinib/PRN1008			
Analyte		Total ^{14}C labelled PRN1008 (rilzabrutinib) derived radioactivity			
Assay		Liquid Scintillation			
Excretion Route		**Urine (% of dosed)**	**Feces (% of dosed)**	**Cumulative Total (% of dosed)**	
Time	0-8 h	0.6	86.8[a]	0.6	
	8-24 h	0.5		87.9	
	24-48 h	0.3	2.7	90.9	
	48-72 h	0.1	0.3	91.3	
	72-96 h	0.1	0.2	91.6	
	96-120 h	0.1	0.1	91.8	
	120-144 h	0.1	0.1	92.0	
	144-168 h	0.1	0.1	92.2	

Abbreviations: F: Female; M: Male; PO: Oral (Gavage)

a Initial feces time point was 0-24 h collection.

14 薬物動態試験ー胆汁中排泄

表 2.6.5.14 - Pharmacokinetics - Excretion into bile

Study title: Excretion into Bile in Rats			**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain		Rat/Sprague Dawley	**Study No.**	[DVR0159]
Gender (M/F) / No. of Animals		3 Male Sprague Dawley, bile duct-cannulated	**Location:**	4.2.2.5-1
Feeding Condition		Fasted		
Vehicle / Formulation		0.015 M citric acid in water (pH 4.2)		
Method of Administration		PO (gavage)		
Dose (mg/kg)		40 mg/kg of [^{14}C] labelled-rilzabrutinib/PRN1008		
Analyte		Total ^{14}C labelled PRN1008 (rilzabrutinib) derived radioactivity		
Assay		Liquid Scintillation Counting		
Excretion Route		**Bile (% of dosed)**	**Urine (% of dosed)**	**Cumulative Total (% of dosed)**
Time	0-4 h	37.5	1.8*a*	37.5
	4-8 h	24.0		63.3
	8-24 h	4.3	0.9	68.5
	24-48 h	1.0	0.4	69.9
	48-72 h	0.4	0.2	70.5
	72-96 h	0.3	0.1	70.9

Abbreviations: F: Female; M: Male; PO: Oral (Gavage)

a Initial urine time point was 0-8 h collection.

15　薬物動態試験－乳汁中への排泄

専用の乳汁排泄試験は実施しなかった。

16　薬物動態試験ー薬物相互作用

該当なし。

17　薬物動態試験－その他の試験

表 2.6.5.17 - Pharmacokinetics - Other pharmacokinetics parameters after a single dose in rat

Study Title: Cerebral Spinal Fluid Concentrations of PRN1008 in Female Wistar Han Rats Following an Oral Dose						**Test Article: PRN1008 (rilzabrutinib)**	
Species/Strain:		Rat/Wister Han				**Study No.**	[DVR0212]
Gender (M/F) / No. of Animals:		9 females				**Location:**	4.2.2.7-1
Feeding Condition:		Fasted					
Vehicle/Formulation:		2:1 API:citric acid solution in water					
Method of Administration:		PO (gavage)					
Dose (mg/kg):		50					
Radionuclide:		NA					
Specific Activity:		NA					
Sampling Time:		1, 4, 24 hours					
Analyte		PRN1008 + 5 metabolites (PRN834, PRN618, PRN1186, PRN835, PRN438)					
Assay		HPLC-MS/MS					
Tissue	**Time Point**	**Mean - ng/mL**					
		PRN1008	**PRN834**	**PRN618**	**PRN1186**	**PRN835**	**PRN438**
Cerebral spinal fluid	1 h	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Cerebral spinal fluid	4 h	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Cerebral spinal fluid	24 h	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Plasma	1 h	894	427	64	39	5.7	6.3
Plasma	4 h	320	355	44	22	3.6	2.8
Plasma	24 h	0.6	2.4	1.1	BLQ	BLQ	BLQ

Abbreviations: API: Active pharmaceutical ingredient; BLQ: Below limit of quantification (<1.25 ng/mL for plasma and cerebral spinal fluid); F: Female; HPLC-MS/MS: High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: Male; NA: Not applicable; PO: Oral