目次

略号一覧表 3
2.6.4 薬物動態試験の概要文 5
2.6.4.1 まとめ 5
2.6.4.2 分析法 8
2.6.4.2.1 安全性薬理試験を裏付ける in vitro 分析法のバリデーション試験 9
2.6.4.2.2 血漿中の oveporexton 及び代謝物 M4 の分析法 9
2.6.4.3 吸収 11
2.6.4.3.1 In vitro 透過性 11
2.6.4.3.2 Oveporexton を単回経口及び静脈内投与時の oveporexton の薬物動態評価 11
2.6.4.3.3 [^{14}C]oveporexton をマウス、ラット及びサルに単回経口投与時の薬物動態評価 12
2.6.4.4 分布 14
2.6.4.4.1 ラットにおける定量的全身オートラジオグラフィーに基づく oveporexton の分布 14
2.6.4.4.2 ラット、サル及びヒトにおける in vitro 血漿タンパク結合率 15
2.6.4.4.3 HSA、AGP 及び HLM における in vitro タンパク結合率 16
2.6.4.4.4 血球移行 16
2.6.4.4.5 授乳中のラット及び妊娠中のラットに経口投与時の乳汁分泌及び胎盤通過性 17
2.6.4.5 代謝（動物間の比較） 18
2.6.4.5.1 In vitro 試験 18
2.6.4.5.2 In vivo 試験 20
2.6.4.5.3 Oveporexton の共有結合性の評価 26
2.6.4.6 排泄 29
2.6.4.6.1 マウスに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の薬物動態及びマスバランス試験 29
2.6.4.6.2 マウスに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の放射能の胆汁中排泄 29
2.6.4.6.3 ラットに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の薬物動態及びマスバランス試験 29
2.6.4.6.4 サルに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の薬物動態及びマスバランス試験 30
2.6.4.7 薬物動態学的相互作用 30
2.6.4.7.1 ヒト肝細胞における oveporexton による CYP 誘導の in vitro 評価 30
2.6.4.7.2 HLM における CYP 活性に対する oveporexton の阻害作用 30
2.6.4.7.3 HLM における oveporexton による CYP3A4/5 の時間及び濃度依存的な不活性化速度論 31
2.6.4.7.4 Oveporexton とヒト排出／取り込みトランスポーターとの相互作用の in vitro 評価 31
2.6.4.7.5 OATP1B1 及び OATP1B3 との in vitro 相互作用試験 32
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 32
2.6.4.9 考察及び結論 32
2.6.4.10 参考文献一覧 34

表

表 2.6.4.3-1 雄ラット及び雄サル（いずれも非絶食下）における oveporexton を単回経口及び静脈内投与時の oveporexton の薬物動態パラメータ 11
表 2.6.4.3-2 雄マウス、雄ラット及び雄サル（いずれも非絶食下）に[^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の TRA 及び oveporexton の薬物動態パラメータ 13
表 2.6.4.4-1 ラット、サル及びヒトにおける oveporexton の血漿タンパク結合率の平均値 16
表 2.6.4.4-2 HSA、AGP 及び HLM に対する oveporexton のタンパク結合率の平均値 16
表 2.6.4.4-3 ラット、サル及びヒトにおける oveporexton の血球移行率の平均値 17
表 2.6.4.5-1 ヒト肝細胞における oveporexton の共有結合性の評価 27

図

図 2.6.4.5-1 マウス、ラット、サル及びヒトにおける oveporexton の代謝経路 19
図 2.6.4.5-2 動物における oveporexton の推定代謝経路 24

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明
β-RAM	beta-particle emission radioactivity monitor（β 粒子放出放射能モニター）
ABT	1-aminobenzotriazole（1-アミノベンゾトリアゾール）
AGP	alpha(1)-acid glycoprotein（α_1-酸性糖タンパク質）
AUC	area under the concentration-time curve（血漿中濃度－時間曲線下面積）
AUC_{24}	area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours（投与後 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積）
AUC_{48}	area under the concentration-time curve from time 0 to 48 hours（投与後 0 から 48 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積）
AUC_{72}	area under the concentration-time curve from time 0 to 72 hours（投与後 0 から 72 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積）
AUC_{all}	area under the concentration-time curve including all timepoints（全時点を含めた血漿中濃度－時間曲線下面積）
AUC_{∞}	area under the concentration-time curve from time 0 to infinity（投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積）
BCA	bicinchoninic acid（ビシンコニン酸）
BCRP	breast cancer resistance protein（－）
BDC	bile duct cannulated（胆管カニュレーションを施した）
BSEP	bile salt export pump（－）
CL	clearance（全身クリアランス）
$CL_{int(cyp)}$	intrinsic clearance for the reaction in CYP-expressing microsomes（CYP 発現ミクロソームにおける固有クリアランス）
$CL_{int(hep)}$	intrinsic clearance for the reaction in hepatocytes（肝細胞における固有クリアランス）
C_{max}	maximum observed concentration（最高血漿中濃度）
CVB	covalent binding（共有結合）
CYP	cytochrome P450（チトクローム P450）
DDI	drug-drug interactions（薬物間相互作用）
DILI	drug-induced liver injury（薬物性肝障害）
DMSO	dimethyl sulfoxide（ジメチルスルホキシド）
$E_2$17βG	estradiol-17-β-glucuronide（エストラジオール-17-β-グルクロニド）
EC_{50}	half-maximal effective concentration（50%有効濃度）
E_{max}	maximal induction effect（最大誘導効果）
equiv	equivalent(s)（当量）
F	absolute bioavailability（バイオアベイラビリティ）
f_{cvb}	fraction of metabolism leading to covalent binding（共有結合を引き起こす代謝反応の割合）
GD	gestational day（妊娠日数）
GLP	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
HEK	human embryonic kidney（ヒト胎児腎）
hERG	human ether-à-go-go-related gene（ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子）
HLM	human liver microsomes（ヒト肝ミクロソーム）
HPLC	high performance liquid chromatography（高速液体クロマトグラフィー）
HSA	human serum albumin（ヒト血清アルブミン）
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration（50%阻害濃度）
ICH	International Council for Harmonisation（医薬品規制調和国際会議）
IS	internal standard（内部標準）
IV	intravenous(ly)（静脈内）

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現又は説明
KCN	potassium cyanide（シアン化カリウム）
K_I	concentration of compound producing 50% of the k_{inact} value（k_{inact} の 50%をもたらす化合物濃度）
k_{inact}	maximal inactivation rate constant（最大不活性化速度定数）
LC-HRMS	liquid chromatography-high resolution mass spectrometry（液体クロマトグラフィー／高分解能質量分析）
LC/MS	liquid chromatography with mass spectrometry（液体クロマトグラフィー／質量分析）
LC/MS/MS	liquid chromatography with tandem mass spectrometry（液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析）
LE	Long Evans（－）
LLOQ	lower limit of quantification（定量下限）
LSC	liquid scintillation counting（液体シンチレーション計測法）
MATE	multidrug and toxin extrusion（－）
MDCK	Madin-Darby canine kidney（Madin-Darby イヌ腎臓）
MDR	multidrug resistance protein（－）
MRP	multidrug resistance associated protein（－）
NADPH	reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸）
OAT	organic anion transporter（－）
OATP	organic anion transporting polypeptide（－）
OCT	organic cation transporter（－）
P_{app}	apparent permeability（見かけの透過係数）
Pgp	P-glycoprotein（P-糖タンパク質）
PK	pharmacokinetic(s)（薬物動態）
PO	oral(ly)（経口）
QC	quality control
RAF	relative activity factor（－）
SD	Sprague Dawley（－）
$t_{1/2}$	half-life（半減期）
TK	toxicokinetic(s)（トキシコキネティクス）
t_{max}	time of first occurrence of C_{max}（最高血漿中濃度到達時間）
TRA	total radioactivity（総放射能）
UV	ultraviolet（紫外線）
V_{ss}	volume of distribution at steady state（定常状態における分布容積）
v/v	volume per volume（体積／体積）

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

Oveporexton（TAK-861、T-4060761）の薬物動態特性を、in vitro 試験並びにマウス、ラット及びサルを用いた経口及び静脈内投与試験で評価した。

マウス、ラット、ウサギ（TK のみ）及びサルの oveporexton の血漿中濃度を定量するための生体試料分析法について、フルバリデーションを実施した。

吸収

雄ラットに非絶食下で oveporexton を 10 及び 30 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、oveporexton は速やかに吸収され、oveporexton の t_{max} は約 2～3 時間以内であり、$t_{1/2}$ は約 3 時間であった。ラットに oveporexton 10 mg/kg を経口投与時の oveporexton のバイオアベイラビリティは 320.2%であった。ラットに oveporexton を経口投与時の oveporexton の AUC_{24} は、10 mg/kg から 30 mg/kg への用量比を上回って増加したことから（それぞれ 15,400 及び 70,400 h*ng/mL）、ラットにおける oveporexton のバイオアベイラビリティについては、1 mg/kg で単回静脈内投与時の AUC_{24}（481 h*ng/mL）と比較して過大評価されていると考えられたため、結果の解釈には注意が必要である。ラットに[^{14}C]oveporexton（100 mg/kg）を経口投与したとき、oveporexton の t_{max} は 2 時間、$t_{1/2}$ は 3.8 時間であり、oveporexton を 10 及び 30 mg/kg で経口投与時の結果と一致した。

雄サルに非絶食下で oveporexton を 1 及び 3 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、oveporexton は速やかに吸収され、oveporexton の t_{max} は 2～3 時間であり、$t_{1/2}$ は約 4～5 時間であった。サルに oveporexton 1 mg/kg を経口投与時の oveporexton のバイオアベイラビリティは 32.3%であった。サルに oveporexton を経口投与時の oveporexton の AUC_{24} は、1～3 mg/kg で用量に比例して増加した（それぞれ 1,270 及び 4,080 h*ng/mL）。サルに[^{14}C]oveporexton（100 mg/kg）を経口投与したときの oveporexton の t_{max} は 4.67 時間、$t_{1/2}$ は 7.25 時間であり、oveporexton を 1 及び 3 mg/kg で経口投与時と比較して、高用量では oveporexton の吸収が若干遅延し、消失が延長することが示唆された。

Caco-2 細胞単層膜を用いた[^{14}C]oveporexton の経細胞輸送試験で、[^{14}C]oveporexton の P_{app} は[^{3}H]ミノキシジル（高透過性マーカー）の 3 倍であったことから、oveporexton は高い透過性を有することが示された。また、[^{14}C]oveporexton の P_{app} 比は 1.6 であったことから、oveporexton は Pgp 又は BCRP の基質ではないことが示された。

分布

[^{14}C]oveporexton 関連物質は、有色 LE ラットの組織に広く分布し、採取した 43 組織中 30 組織において投与後 24 時間まで定量限界を上回る TRA が認められた。[^{14}C]oveporexton 関連物質の曝露量が最も大きかった（AUC_{all} が 3,000 h*μg equiv/g 超）組織は、副腎皮質、副腎及び肝臓であった。[^{14}C]oveporexton 関連物質の曝露量が小さかった（AUC_{all} が 100 h*μg equiv/g 未満）組織は、脊髄、脳（小脳、大脳及び髄質）、水晶体及び骨であった。投与後 336 時間の時点で定量限界を上回る TRA が認められた組織は、副腎皮質、副腎、副腎髄質、肝臓及び胃粘膜のみであった。アルビノ SD ラットにおける[^{14}C]oveporexton 関連物質の組織分布及び曝露量のパターンは、有色 LE ラットと類似していた。有色 LE ラットにおいて、メラニンへの結合を示す所見は認められなかった。

妊娠中のラット及び胎児で、[^{14}C]oveporexton 関連物質は、羊膜、羊水、胎児血液、胎児組織及び胎盤に広く分布したことから、[^{14}C]oveporexton 関連物質は妊娠中のラットの胎盤を通過して胎児に移行することが示された。また、授乳中のラットの乳汁中に[^{14}C]oveporexton 関連物質が分泌されることも示された。妊娠中及び授乳中のラットから採取されたすべての血漿検体及び乳汁検体において、主な構成成分は[^{14}C]oveporexton であった。授乳中のラットの血漿中及び乳汁中に代謝物は検出されなかった。胎児の血漿中にも代謝物は検出されなかった。

In vitro において、[^{3}H]oveporexton（0.05～5 μg/mL）の血漿タンパク結合率は 95.5%～97.8%（ラット）、97.2%～97.5%（サル）及び 96.2%～96.4%（ヒト）であり、サル及びヒトでは濃度依存性は認められず、ラットでは濃度依存性がわずかに認められた。[^{14}C]oveporexton はヒト血漿中で HSA 及び AGP のいずれにも結合した。

[^{14}C]oveporexton（0.05～5 μg/mL）の血球への移行率は低く、12.4%～24.9%（ラット）、22.9%～24.0%（サル）及び 17.8%～18.0%（ヒト）であった。In vitro での[^{14}C]oveporexton の血液／血漿中濃度比は 0.698～0.802 であったことから、ラット、サル及びヒトの血球への[^{14}C]oveporexton の分布は小さいことが示唆された。

代謝

すべての動物種で血漿中の主な構成成分は[^{14}C]oveporexton（未変化体）であり、TRA に占める割合は、95.6%（マウス）、92.5%（ラット）及び 75.5%（サル）であった。[^{14}C]oveporexton をマウス、ラット及びサルに経口投与したとき、血漿、尿、糞及び胆汁中に 44 の代謝物が検出された。Oveporexton の推定代謝経路は、脱フッ素を伴う酸化及び伴わない酸化、それに続くグルクロン酸抱合、酸化を伴う硫酸抱合、酸化的脱フッ素化（又は更なる酸化）に続くグルタチオン関連抱合、並びに未同定の代謝経路などであった。グルタチオン関連の代謝物は、トリフルオロビフェニル基のエポキシ化により生成すると考えられた。マウス（15 mg/kg）、ラット（100 mg/kg）及びサル（100 mg/kg）における尿中及び糞中への代謝物の排泄率の合計は、それぞれ投与量の 94.5%、85.0%及び 57.3%であったことから、oveporexton は評価したすべての動物において広範な代謝を受けることが示唆された。脱フッ素化経路により生成する代謝物及び糞中の未抽出成分は、サルと比較してマウス及びラットで多かった。

探索的に実施したヒトにおける代謝物プロファイリング基づき、いくつかの非臨床試験において代謝物 M4（酸化代謝物）の TK を評価したが、その後の最終的なヒトにおけるマスバランス試験（TAK-861-1003 試験）において、血漿中の TRA に占める代謝物 M4 の割合は 10%未満であることが確認された（[redacted]）。

マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞を用いた[^{14}C]oveporexton の in vitro 代謝物検索では、評価したすべての動物種で合計 11 の代謝物が認められた。推定代謝経路は、一酸化代謝、酸化的開環及び一酸化代謝、グルクロン酸抱合、一酸化代謝及びグルクロン酸抱合、一酸化代謝及び硫酸抱合並びに酸化的脱フッ素化及びグルタチオン抱合であった。ヒトに特異的な代謝物は認められなかった。

CYP 発現ミクロソームを用いた in vitro 代謝試験において、[^{14}C]oveporexton の代謝における CYP3A4 の寄与率は 97.3%、CYP2C9 の寄与率は 2.6%、CYP2D6 の寄与率は 0.1%である

ことが示された。ヒト肝細胞において[^{14}C]oveporexton の in vitro 代謝に対する CYP の相対的寄与率は 100%であった。

ヒト肝細胞における[^{14}C]oveporexton の共有結合性を 4 つの試験で評価し、DILI のリスク評価のためにそれぞれの試験結果に基づき 1 日あたりの共有結合量を算出した。肝毒性のリスクが低く、かつ肝細胞における 1 日あたりの共有結合量が [redacted] mg 未満である薬物は、免疫介在性 DILI のリスクが低いことが示されている（[redacted]）。[^{14}C]oveporexton（10 µmol/L）をヒト肝細胞とインキュベーションしたときの共有結合量は 122.5～223.4 pmol equivalent/mg protein（2 時間インキュベーション）であった。Oveporexton の 4 及び 7 mg/日の用量に基づく 1 日あたりの共有結合量の推定値は、それぞれ 0.211～0.566 及び 0.370～0.991 mg/日であった。

排泄

排泄試験において、雄のマウス、ラット及びサルに非絶食下で[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、[^{14}C]oveporexton 関連物質は主に胆汁を介して糞中に排泄されることが示された。

マウスにおいて、[^{14}C]oveporexton を 15 mg/kg で投与後 24 時間までの[^{14}C]oveporexton 関連物質である TRA の累積排泄率は投与量の 1.0%（尿）及び 95.9%（糞）であった。BDC マウスにおいて、[^{14}C]oveporexton を 15 又は 600 mg/kg で投与後 24 時間までの TRA の累積排泄率は、それぞれ投与量の 69.8%又は 32.3%（胆汁）、3.5%又は 1.5%（尿）及び 21.6%又は 54.5%（糞、消化管内容物を含む）であった。

ラットにおいて、[^{14}C]oveporexton を 100 mg/kg で投与後 72 時間までの[^{14}C]oveporexton 関連物質である TRA の累積排泄率は投与量の 0.5%（尿）及び 98.7%（糞）であった。BDC ラットにおいて、[^{14}C]oveporexton を 100 mg/kg で投与後 72 時間までの TRA の累積排泄率は、投与量の 95.3%（胆汁）、1.1%（尿）及び 6.4%（糞、ただし、消化管内容物を含む）であった。

サルにおいて、[^{14}C]oveporexton を 100 mg/kg で投与後 168 時間までの[^{14}C]oveporexton 関連物質である TRA の累積排泄率は投与量の 7.7%（尿）及び 89.4%（糞）であった。投与後 168 時間までの尿中及び糞中への TRA の累積排泄率の合計は投与量の 97.2%であった。

以上より、雄のマウス、ラット及びサルに非絶食下で単回経口投与したとき、[^{14}C]oveporexton 関連物質の吸収は良好であり、主に代謝を受けた後に胆汁を介して糞中に排泄されることが示された。

薬物間相互作用

In vitro において、oveporexton は Pgp（MDR1）及び BCRP を阻害せず（100 µmol/L まで）、また OAT1、OAT3、OCT1 若しくは OCT2（10 µmol/L まで）、MATE1 若しくは MATE2-K（4.5 µmol/L まで）、又は MRP2（100 µmol/L まで）を阻害しなかった。

Oveporexton は、取り込みトランスポーターOATP1B1 及び OATP1B3、並びに排出トランスポーターBSEP（ヒト）を阻害し、IC_{50} はそれぞれ 0.910、37.7 及び 7.225 µmol/L であった。OATP1B1 及び OATP1B3 に対する IC_{50} は、oveporexton とともに 30 分間プレインキュベーション後、それぞれ 0.372 及び 18.0 µmol/L に変化した。また、oveporexton は、排出トランスポーターMRP3（IC_{50}：90.47 µmol/L）、MRP4（IC_{50}：59.18 µmol/L）及び MDR3（100 µmol/L で 55%阻害、IC_{50} は算出不能）も阻害した。

Oveporexton は OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。

ヒト肝細胞を用いた in vitro 誘導試験において、oveporexton（30 µmol/L）は CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 3A4 に対する誘導作用を示した。また、HLM を用いた評価において、oveporexton は CYP2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4/5（ミダゾラム 1'-水酸化）に対して直接的な阻害作用を示し、IC_{50} は、それぞれ 21、18、13、4.6 及び 18 µmol/L であった。Oveporexton は、CYP1A2、2B6 及び 3A4/5（テストステロン 6β-水酸化）に対して、直接的な阻害作用を示さなかった（IC_{50}：30 µmol/L 超）。HLM を用いた評価において、CYP3A4/5 活性の時間依存的な低下が認められた。以上より、oveporexton は、CYP3A4/5 活性に対する直接的な阻害作用及び時間依存的阻害作用並びに CYP2C8、2C9、2C19 及び 2D6 活性に対する直接的な阻害作用を示し、また CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 3A4 に対する誘導作用を示す可能性があることが示唆された。

In vitro での DDI パラメータ、oveporexton 2 mg を 3 時間間隔で 1 日 2 回投与後の oveporexton の定常状態における曝露量の予測値、及び ICH M12「薬物相互作用試験に関するガイドライン（2024）」（以下、ICH M12 DDI ガイドライン）に記載されている基本モデルに基づき、oveporexton を介した DDI リスクとして、CYP3A4/5 に対する誘導作用及び時間依存的阻害作用を示す可能性が示された。また、oveporexton の代謝には CYP3A4 が大きく関与していることから、oveporexton は CYP3A4/5 阻害剤及び誘導剤との併用により DDI を受けるリスクがある。したがって、これらのリスクを、生理学的薬物速度論モデル及び臨床試験において更に評価した（2.7.2）。CYP3A4/5 を除き、oveporexton が直接的な CYP 阻害作用又は誘導作用により DDI を引き起こすリスクはないと考えられた。また、トランスポーターを介して oveporexton が DDI を受けるリスク又は DDI を引き起こすリスクもないと考えられた。

2.6.4.2 分析法

マウス、ラット、ウサギ及びサルの血漿中における oveporexton 又は代謝物 M4 の分析法のバリデーション試験の要約を 2.6.5.2B 及び 2.6.5.3C に示した。これらの試験は、以下の規制基準に従って実施した。

- 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令（1997 年 3 月 26 日、2008 年 6 月 13 日改正厚生省令第 21 号、厚生労働省令第 114 号）
- 申請資料の信頼性の基準（1961 年 2 月 1 日付け厚生省令第 1 号薬事法施行規則第 43 条）
- 「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」（2013 年 7 月 11 日付け薬食審査発 0711 第 1 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）
- 「トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンスについて」（1996 年 7 月 2 日付け薬審第 443 号厚生省薬務局審査課長通知）

Oveporexton 及び代謝物 M4 は、IS として oveporexton-d_6 及び M4-d_6 を添加したアセトニトリルを用いたタンパク沈殿法により、ヘパリンナトリウムを含む血漿（10 µL）から抽出した。抽出した血漿試料を LC/MS/MS で分析した。血漿中生体試料分析法では、すべての動物種で、検量線（重み付け $1/x^2$）は、分析対象物質が oveporexton のみの場合は 1～

2,000 ng/mL、分析対象物質が oveporexton 及び代謝物 M4 の場合は 1～1,000 ng/mL の範囲で良好な直線性が認められた。血漿中の oveporexton 及び代謝物 M4 の安定性は、-30°C～-15°C 及び-70°C 以下で、125 日間（マウス）、122 日間（ラット）、273 日間（ウサギ）及び 122 日間（サル）まで確認された〔[redacted]、[redacted]（マウス）、[redacted]、[redacted]、[redacted]（ラット）、[redacted]、[redacted]（ウサギ）及び[redacted]（サル）〕。

選択性、真度及び精度（測定内及び測定間）、回収率、検量線範囲・LLOQ・直線性の確立、標準物質試料及び QC 試料の使用、マトリックス効果及びキャリーオーバー、並びにマトリックス中の分析対象物質の凍結融解及び短期／長期安定性について、分析法の最適化及びフルバリデーションを実施した。

結論として、フルバリデーションを実施した各動物種の血漿中生体試料分析法は、「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン（2013）」に準拠した判定基準を満たした。

In vitro 安全性薬理試験を裏付けるバリデーション試験の要約については 2.6.4.2.1 に示し、oveporexton 及び代謝物 M4 の血漿中生体試料分析法のバリデーション試験の要約については 2.6.4.2.2 に示した。

2.6.4.2.1 安全性薬理試験を裏付ける in vitro 分析法のバリデーション試験

2.6.4.2.1.1 DMSO 中及び hERG アッセイ溶液中の oveporexton の分析法のバリデーション

添付資料番号：4.2.1.3-7（評価）、4.2.2.1-1（評価）

バリデーション済みの GLP 適用の HPLC-UV 法を用いて、安全性薬理試験における hERG アッセイ用の DMSO 中における oveporexton の分析法のバリデーション及び安定性試験を実施した（[redacted]）。QC 試料を用いて測定した分析法の精度及び真度、並びに DMSO ストック溶液中の oveporexton の安定性評価は、いずれも規定された判定基準を満たした。

バリデーション済みの GLP 適用の HPLC 法を用いて、試験溶液（0.3% v/v DMSO）中の oveporexton（0.3～3 µg/mL）の分析法のバリデーションを実施し、生理的温度での hERG アッセイにおける oveporexton 由来の吸光（%）を確認した（[redacted]）。結論として、すべてのバリデーションの結果は判定基準を満たし、試験溶液中の oveporexton（0.3 及び 3 µg/mL）の分析法は十分信頼できると判断された。

2.6.4.2.2 血漿中の oveporexton 及び代謝物 M4 の分析法

2.6.4.2.2.1 マウス血漿中の oveporexton 及び代謝物 M4 の分析法のバリデーション

添付資料番号：4.2.2.1-2（評価）、4.2.2.1-3（評価）

BALB/cByJJcl マウス及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(wt/wt)マウスの血漿を用いて、oveporexton の LC/MS/MS 生体試料分析法のバリデーションを実施した（2.6.5.2A 及び 2.6.5.2B、[redacted]）。これらの分析法の選択性が示され、LLOQ は 1 ng/mL であった。検量線は 1～2,000 ng/mL で直線性が認められ、キャリーオーバー及びマトリックス効果は認められなかった。血漿中の長期保存安定性は、-70°C で 122 日間安定であることが確認された。

分析対象物質として代謝物 M4 を測定するため、BALB/cByJJcl マウス及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(wt/wt)マウスの血漿を用いて、oveporexton 及び代謝物 M4 の LC/MS/MS 生体試料分析法のバリデーションを実施した（[redacted]）。この分析法の選択性が示され、LLOQ は 1 ng/mL であった。検量線は 1～1,000 ng/mL で直線性が認められ、キャリーオーバー及びマトリックス効果は認められなかった。血漿中の長期保存安定性は、-70°C で 125 日間安定であることが確認された。

2.6.4.2.2.2 ラット血漿中の oveporexton 及び代謝物 M4 の分析法のバリデーション

添付資料番号：4.2.2.1-4（評価）、4.2.2.1-5（評価）、4.2.2.1-6（評価）

SD ラットの血漿を用いて、oveporexton の LC/MS/MS 生体試料分析法のバリデーションを実施した（2.6.5.2A 及び 2.6.5.2B、[redacted]）。この分析法の選択性が示され、LLOQ は 1 ng/mL であった。検量線は 1～2,000 ng/mL で直線性が認められ、キャリーオーバー及びマトリックス効果は認められなかった。血漿中の長期保存安定性は、-70°C で 122 日間安定であることが確認された。

Lister Hooded ラットの血漿を用いて、oveporexton 及び代謝物 M4 の LC/MS/MS 生体試料分析法のパーシャルバリデーションを実施し、薬物依存性試験を裏付けた（[redacted]）。この分析法の選択性が示された。検量線は 1～1,000 ng/mL で直線性が認められ、キャリーオーバー及びマトリックス効果は認められなかった。

分析対象物質として代謝物 M4 を測定するため、SD ラットの血漿を用いて、oveporexton 及び代謝物 M4 の LC/MS/MS 生体試料分析法のバリデーションを実施した（[redacted]）。この分析法の選択性が示され、LLOQ は 1 ng/mL であった。検量線は 1～1,000 ng/mL で直線性が認められ、キャリーオーバー及びマトリックス効果は認められなかった。血漿中の長期保存安定性は、-70°C で 122 日間安定であることが確認された。

2.6.4.2.2.3 ウサギ血漿中の oveporexton 及び代謝物 M4 の分析法のバリデーション

添付資料番号：4.2.2.1-7（評価）、4.2.2.1-8（評価）

New Zealand White ウサギ（Kbl:NZW）の血漿を用いて、oveporexton の LC/MS/MS 生体試料分析法のバリデーションを実施した（2.6.5.2A 及び 2.6.5.2B、[redacted] 及び [redacted]）。これらの分析法の選択性が示され、LLOQ は 1 ng/mL であった。検量線は 1～2,000 ng/mL で直線性が認められ、キャリーオーバー及びマトリックス効果は認められなかった。血漿中の長期保存安定性は、-70°C で 121 日間安定であることが確認された。

分析対象物質として代謝物 M4 を測定するため、New Zealand White ウサギ（Kbl:NZW）の血漿を用いて、oveporexton 及び代謝物 M4 の LC/MS/MS 生体試料分析法のバリデーションを実施した（[redacted]）。この分析法の選択性が示され、LLOQ は 1 ng/mL であった。検量線は 1～1,000 ng/mL で直線性が認められ、キャリーオーバー及びマトリックス効果は認められなかった。血漿中の長期保存安定性は、-70°C で 273 日間安定であることが確認された。

2.6.4.2.2.4 サル血漿中の oveporexton の分析法のバリデーション

添付資料番号：4.2.2.1-9（評価）

カニクイザルの血漿を用いて、oveporexton の LC/MS/MS 生体試料分析法のバリデーションを実施した（2.6.5.2A 及び 2.6.5.2B、[redacted]）。これらの分析法の選択性が示され、LLOQ は 1 ng/mL であった。検量線は 1～2,000 ng/mL で直線性が認められ、キャリーオーバー及びマトリックス効果は認められなかった。血漿中の長期保存安定性は、-70°C で 122 日間安定であることが確認された。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 In vitro 透過性

添付資料番号：4.2.2.2-1（評価）

Caco-2 細胞単層膜を用いて[^{14}C]oveporexton の経細胞輸送を評価した（2.6.5.3C、[redacted]）。[^{14}C]oveporexton（1 µmol/L）の管腔側から基底膜側への P_{app} は 17.0×10^{-6} cm/sec、基底膜側から管腔側への P_{app} は 27.8×10^{-6} cm/sec であった。P_{app} 比は 1.6 であった。[^{14}C]oveporexton の管腔側から基底膜側への P_{app} は、[^{3}H]ミノキシジル（高透過性マーカー）の 3 倍であった。以上より、oveporexton は高い透過性を示し、Pgp 又は BCRP の基質ではないことが示された。

2.6.4.3.2 Oveporexton を単回経口及び静脈内投与時の oveporexton の薬物動態評価

添付資料番号：4.2.2.2-2（参考）、4.2.2.2-3（参考）

SD ラット（[redacted]）及びカニクイザル（[redacted]）を用いて単回投与試験を実施し、oveporexton の薬物動態を評価した。これらの試験から得られた薬物動態パラメータを表 2.6.4.3-1 に示した。

表 2.6.4.3-1　雄ラット及び雄サル（いずれも非絶食下）における oveporexton を単回経口及び静脈内投与時の oveporexton の薬物動態パラメータ

Species	Route	Dose (mg/kg)	AUC_{24} (h*ng/mL)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	V_{ss} (mL/kg)	CL (mL/h/kg)	F [b] (%)
Rat	IV	1	481	596 [a]	-	0.7	1820	2100	-
	PO	10	15,400	1760	2.0	3.4	-	-	320.2 [c]
	PO	30	70,400	5290	3.3	3.2	-	-	-
Monkey	IV	0.3	1200	338 [a]	-	3.5	1140	253	-
	PO	1	1270	104	2.7	4.3	-	-	32.3
	PO	3	4080	379	2.0	5.4	-	-	-

Source: [redacted] and [redacted]

-: not evaluated.

The mean value of 3 animals is presented.

[a] The C_{max} after IV administration denotes the concentration at 0.083 hours postdose.

[b] $(AUC_{24,\,po}/Dose_{po}) / (AUC_{24,\,iv}/Dose_{iv}) \times 100$.

[c] Because of the nonlinear PK in rats after PO administration, the absolute bioavailability in rats was considered to be overestimated.

2.6.4.3.2.1 ラットに oveporexton を単回経口及び静脈内投与時の oveporexton の吸収

雄 SD ラット（3 匹）に非絶食下で oveporexton を 10 及び 30 mg/kg の用量で単回経口投与したとき並びに 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの oveporexton の血漿中濃度推移を評価した（2.6.5.3A、[redacted]）。

Oveporexton 10 mg/kg を経口投与したときの oveporexton の血漿中濃度は、投与後 2.0 時間（t_{max}）で 1,760 ng/mL（C_{max}）に達し、AUC_{24} は 15,400 h*ng/mL であった。Oveporexton 30 mg/kg を経口投与したときの血漿中濃度は、投与後 3.3 時間（t_{max}）で 5,290 ng/mL（C_{max}）に達し、AUC_{24} は 70,400 h*ng/mL であった。

Oveporexton 1 mg/kg を静脈内投与したときの oveporexton の血漿中濃度は、投与後 0.083 時間で 596 ng/mL（C_{5min}）に達した。Oveporexton の AUC_{24} は 481 h*ng/mL であり、$t_{1/2}$ は 0.7 時間であった。CL は 2,100 mL/h/kg、V_{ss} は 1,820 mL/kg であった。

Oveporexton 10 mg/kg を経口投与したときの oveporexton のバイオアベイラビリティは 320.2%であった。Oveporexton のバイオアベイラビリティについては、ラットに経口投与したときの薬物動態が非線形であったこと及び静脈内投与したときの投与量が 1 mg/kg と経口投与時の用量と比較して低用量であったことから、過大評価されていると考えられたため、解釈には注意が必要である。

2.6.4.3.2.2 サルに oveporexton を単回経口及び静脈内投与時の oveporexton の吸収

雄カニクイザル（3 匹）に非絶食下で oveporexton を 1 及び 3 mg/kg の用量で単回経口投与したとき並びに 0.3 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの oveporexton の血漿中濃度推移を評価した（2.6.5.3A、[redacted]）。

Oveporexton 1 mg/kg を経口投与したときの oveporexton の血漿中濃度は、投与後 2.7 時間（t_{max}）で 104 ng/mL（C_{max}）に達し、AUC_{24} は 1,270 h*ng/mL であった。Oveporexton 3 mg/kg を経口投与したときの oveporexton の血漿中濃度は、投与後 2.0 時間（t_{max}）で 379 ng/mL（C_{max}）に達し、AUC_{24} は 4,080 h*ng/mL であった。

Oveporexton 0.3 mg/kg を静脈内投与したときの oveporexton の血漿中濃度は、投与後 0.083 時間で 338 ng/mL（C_{5min}）に達した。Oveporexton の AUC_{24} は 1,200 h*ng/mL であり、$t_{1/2}$ は 3.5 時間であった。CL は 253 mL/h/kg、V_{ss} は 1,140 mL/kg であった。

Oveporexton 1 mg/kg を経口投与したときの oveporexton のバイオアベイラビリティは 32.3%であり、oveporexton 1～3 mg/kg を経口投与時の oveporexton の曝露量は、用量に比例して増加した。

2.6.4.3.3 [^{14}C]oveporexton をマウス、ラット及びサルに単回経口投与時の薬物動態評価

添付資料番号：4.2.2.2-4（評価）、4.2.2.2-5（評価）、4.2.2.2-6（評価）

マウス（[redacted]）、ラット（[redacted]）及びサル（[redacted]）に [^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の血液中及び血漿中における TRA 及び oveporexton の薬物動態パラメータを評価した。主な薬物動態パラメータを表 2.6.4.3-2 に示した。

表 2.6.4.3-2 雄マウス、雄ラット及び雄サル（いずれも非絶食下）に[^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の TRA 及び oveporexton の薬物動態パラメータ

Species	Matrix	Route	Dose (mg/kg)	AUC_t (h*μg equiv/mL)	AUC_∞ (h*μg equiv/mL)	Blood-to-Plasma AUC Ratio	C_{max} (μg equiv /mL)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)
TRA									
Mouse	Blood	PO	15	19.6 [a]	19.7	0.681 [b]	2.76	2.0	3.3 [c]
	Plasma			28.8 [a]	28.8		3.80	2.0	2.3 [c]
Rat	Blood	PO	100	230 [d]	231	0.781 [e]	12.0	2.0	8.6 [f]
	Plasma			294 [d]	295		16.3	1.0	5.6 [f]
Monkey	Blood	PO	100	393 [g]	402	0.716 [h]	15.3	6.7	18.9
	Plasma			549 [g]	565		21.4	6.7	21.1
Oveporexton									
Rat	Blood	PO	100	-	-	-	-	-	-
	Plasma			225 [d,i]	225 [i]		12.2 [i]	2.0	3.8
Monkey	Blood	PO	100	-	-	-	-	-	-
	Plasma			368 [g,i]	368 [i]		18.9 [i]	4.67	7.25

Source: [redacted], [redacted], and [redacted]

-: not evaluated.

The mean value of 3 animals is presented.

[a] t = 24 hours.

[b] The blood-to-plasma AUC ratio was calculated as AUC_{24} (blood)/AUC_{24} (plasma).

[c] The timepoints used for calculation of $t_{1/2}$ were 2 to 24 hours after administration.

[d] t = 72 hours for blood and 48 hours for plasma.

[e] The blood-to-plasma AUC ratio was calculated as AUC_{72} (blood)/AUC_{48} (plasma).

[f] In blood, the timepoints used for calculation of $t_{1/2}$ were 8 to 72 hours after administration. In plasma, the timepoints used for calculation of $t_{1/2}$ were 8 to 48 hours after administration.

[g] t = 120 hours.

[h] The blood-to-plasma AUC ratio was calculated as AUC_{120} (blood)/AUC_{120} (plasma).

[i] The units for AUC and C_{max} are h*μg/mL and μg/mL, respectively.

2.6.4.3.3.1 マウスに[^{14}C]oveporexton を経口投与時の薬物動態及びマスバランス試験

雄 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(wt/wt)マウスに非絶食下で[^{14}C]oveporexton を 15 mg/kg の用量で単回経口投与したときの血液中及び血漿中 TRA の推移及び薬物動態パラメータを評価し（2.6.5.3B、[redacted]）、表 2.6.4.3-2 に示した。

[^{14}C]oveporexton 15 mg/kg を経口投与したとき、血漿中 TRA は投与後 2.0 時間（t_{max}）で 3.80 μg equiv/mL（C_{max}）に達し、血漿中 TRA の AUC_{24} は 28.8 h*μg equiv/mL、$t_{1/2}$ は 2.3 時間であった。TRA の AUC 比（血液／血漿）は 0.681 であった。

以上より、マウスにおいて、吸収された[^{14}C]oveporexton 関連物質は血液中と血漿中で同様に消失すること及び[^{14}C]oveporexton 関連物質の血球への分布は小さいことが示された。

2.6.4.3.3.2 ラットに[^{14}C]oveporexton を経口投与時の薬物動態及びマスバランス試験

雄 SD ラットに非絶食下で[^{14}C]oveporexton を 100 mg/kg の用量で単回経口投与したときの TRA 及び oveporexton の血液中及び血漿中濃度推移及び薬物動態パラメータを評価し（2.6.5.3B、[redacted]）、表 2.6.4.3-2 に示した。

[^{14}C]oveporexton 100 mg/kg を経口投与したとき、血液中 TRA は投与後 2.0 時間（t_{max}）で 12.0 μg equiv/mL（C_{max}）に達し、血液中 TRA の AUC_{72} は 230 h*μg equiv/mL、$t_{1/2}$ は 8.6 時間であった。[^{14}C]oveporexton 100 mg/kg を経口投与したとき、血漿中 TRA は投与後 1.0 時

間（t_{max}）で 16.3 µg equiv/mL（C_{max}）に達し、血漿中 TRA の AUC_{48} は 294 h*µg equiv/mL、$t_{1/2}$ は 5.6 時間であった。TRA の AUC 比（血液／血漿）は 0.781 であった。[^{14}C]oveporexton 100 mg/kg を経口投与したとき、oveporexton の血漿中濃度は投与後 2.0 時間（t_{max}）で 12.2 µg/mL（C_{max}）に達し、AUC_{48} は 225 h*µg/mL、$t_{1/2}$ は 3.8 時間であった。

以上より、ラットにおいて、吸収された[^{14}C]oveporexton 関連物質は血液中及び血漿中から消失すること及び[^{14}C]oveporexton 関連物質の血球への分布は小さいこと並びに血漿中の主な構成成分は oveporexton であることが示された。

2.6.4.3.3.3 サルに[^{14}C]oveporexton を経口投与時の薬物動態及びマスバランス試験

雄カニクイザルに非絶食下で[^{14}C]oveporexton を 100 mg/kg の用量で単回経口投与したときの TRA 及び oveporexton の血液中及び血漿中濃度推移及び薬物動態パラメータを評価し（2.6.5.3B、[redacted]）、表 2.6.4.3-2 に示した。

[^{14}C]oveporexton 100 mg/kg を経口投与したとき、血液中 TRA は投与後 6.7 時間（t_{max}）で 15.3 µg equiv/mL（C_{max}）に達し、血液中 TRA の AUC_{120} は 393 h*µg equiv/mL、$t_{1/2}$ は 18.9 時間であった。[^{14}C]oveporexton 100 mg/kg を経口投与したとき、血漿中 TRA は投与後 6.7 時間（t_{max}）で 21.4 µg equiv/mL（C_{max}）に達し、血漿中 TRA の AUC_{120} は 549 h*µg equiv/mL、$t_{1/2}$ は 21.1 時間であった。TRA の AUC 比（血液／血漿）は 0.716 であった。
[^{14}C]oveporexton 100 mg/kg を経口投与したとき、oveporexton の血漿中濃度は投与後 4.67 時間（t_{max}）で 18.9 µg/mL（C_{max}）に達し、AUC_{120} は 368 h*µg/mL、$t_{1/2}$ は 7.25 時間であった。

以上より、サルにおいて、吸収された[^{14}C]oveporexton 関連物質は血液中及び血漿中から緩やかに消失すること及び[^{14}C]oveporexton 関連物質の血球への分布は小さいこと並びに血漿中の主な構成成分は oveporexton であることが示された。

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 ラットにおける定量的全身オートラジオグラフィーに基づく oveporexton の分布

添付資料番号：4.2.2.3-1（参考）

雄の有色 LE ラット（12 匹）及び雄の非有色アルビノ SD ラット（4 匹）に[^{14}C]oveporexton を 100 mg/kg（約 200 µCi/kg）の用量で単回経口投与したときの oveporexton 由来 TRA の組織分布を投与後 336 時間にわたり定量的全身オートラジオグラフィーにより評価した（2.6.5.5A 及び 2.6.5.5B、[redacted]）。LE ラット及び SD ラットの血漿中及び組織中の薬物動態パラメータも評価した。

LE ラット及び SD ラットにおいて、血液中又は血漿中で投与後 24 時間まで定量限界を上回る TRA が認められた。TRA の血液／血漿中濃度比は、LE ラットでは投与後 0.5 時間から 24 時間まで、SD ラットでも投与後 2 時間から 24 時間まで 1 未満であった。LE ラットでは、血漿中 TRA の C_{max} は 16.1 µg equiv/mL、t_{max} は 2 時間、AUC_{last} は 178 h*µg equiv/mL、AUC_{all} は 180 h*µg equiv/mL であった。LE ラットでは、心臓血中 TRA の C_{max} は 9.84 µg equiv/g、t_{max} は 2 時間、AUC_{all} は 138 h*µg equiv/g であった。定量的全身オートラジオグラフィーにより評価した心臓血中曝露量は血漿中曝露量よりも小さかった。SD ラット

では、血漿中 TRA の C_{max} は 15.7 µg equiv/mL、t_{max} は 2 時間、AUC_{all} は 299 h*µg equiv/mL、AUC_{last} は 196 h*µg equiv/mL であった。

LE ラットにおいて、[^{14}C]oveporexton 関連物質は全身に広く分布し、多くの組織（採取した 43 組織中 30 組織）において投与後 24 時間まで定量限界を上回る TRA が認められた。ほとんどの組織において、TRA は投与後 2～4 時間（t_{max}）で C_{max} に達した。[^{14}C]oveporexton 関連物質の C_{max} が比較的高かった（60 µg equiv/g 超）組織は、肝臓、副腎皮質、副腎、小腸、副腎髄質、ハーダー腺並びに脂肪（褐色及び白色）であった。[^{14}C]oveporexton 関連物質の C_{max} が比較的低かった（5 µg equiv/g 未満）組織は、骨、脳組織、脊髄及び眼（水晶体）であった。[^{14}C]oveporexton 関連物質の曝露量が最も大きかった（AUC_{all} が 3,000 h*µg equiv/g 超）組織は、副腎皮質、副腎及び肝臓であった。[^{14}C]oveporexton 関連物質の曝露量が小さかった（AUC_{all} が 100 h*µg equiv/g 未満）組織は、脊髄、脳（小脳、大脳及び髄質）、水晶体及び骨であった。投与後 72 時間の時点で定量限界を上回る TRA が認められた組織は、副腎皮質、副腎、副腎髄質、肝臓、胃粘膜、腎髄質外部、腎皮質及び大腸のみであった。投与後 168 時間の時点で定量限界を上回る TRA が認められた組織は、副腎皮質、副腎、副腎髄質、肝臓、胃粘膜、腎皮質及び腎髄質外部であった。投与後 336 時間の時点で定量限界を上回る TRA が認められた組織は、副腎皮質、副腎、副腎髄質、肝臓及び胃粘膜のみであった。有色皮膚と非有色皮膚の TRA の比較、及び有色眼（ブドウ膜）の TRA に基づき、メラニンへの結合を示す所見は認められなかった。これらの組織で、TRA はいずれも 24 時間までに定量限界未満となったことから、長期滞留又は不可逆的結合を示す所見は認められなかった。

アルビノ（非有色）SD ラットにおいて、[^{14}C]oveporexton 関連物質の組織分布及び曝露量のパターンは、有色 LE ラットと類似していた。[^{14}C]oveporexton 関連物質の C_{max} が最も高かった（70 µg equiv/g 超）組織は、肝臓、副腎皮質、副腎、小腸、副腎髄質、並びに脂肪（褐色及び白色）であった。眼（ブドウ膜）において TRA が C_{max} に達したのは投与後 2～4 時間（t_{max}）であり（LE ラットで投与後 4 時間に 16.7 µg equiv/g、SD ラットで投与後 2 時間に 23.2 µg equiv/g）、ブドウ膜における TRA は 168 時間時点で定量限界未満となった。

以上より、定量的全身オートラジオグラフィー試験から、[^{14}C]oveporexton 関連物質は、アルビノラット及び有色ラットの組織に広く分布することが示され、メラニンへの親和性を示す所見は認められなかった。

2.6.4.4.2 ラット、サル及びヒトにおける in vitro 血漿タンパク結合率

添付資料番号：4.2.2.3-2（評価）

ラット、サル及びヒトにおける[^{3}H]oveporexton（0.05、0.5 及び 5 µg/mL）の in vitro 血漿タンパク結合率を平衡透析法を用いて測定した（2.6.5.6、[redacted]）。[^{3}H]oveporexton の血漿タンパク結合率は高く、評価したすべての動物種及び濃度で 95.5%～97.8%であった（表 2.6.4.4-1）。[^{3}H]oveporexton の血漿タンパク結合率に、ラットでは濃度依存性がわずかに認められたが、サル及びヒトでは濃度依存性が認められなかった。

表 2.6.4.4-1 ラット、サル及びヒトにおける oveporexton の血漿タンパク結合率の平均値

	[^{3}H]Oveporexton Binding Ratio (%)		
Species	0.05 µg/mL	0.5 µg/mL	5 µg/mL
Rat	97.8	97.5	95.5
Monkey	97.4	97.5	97.2
Human	96.3	96.4	96.2

Source: [redacted]
Pooled from male rats (n=6), monkeys (n=5), and male and female humans (n=5/sex) samples.

2.6.4.4.3 HSA、AGP 及び HLM における in vitro タンパク結合率

添付資料番号：4.2.2.3-3（評価）

4% HSA、0.18% AGP、4% HSA/0.18% AGP 並びに 0.2 及び 1 mg protein/mL HLM における[^{14}C]oveporexton（0.05、0.5 及び 5 µg/mL）の in vitro タンパク結合率を平衡透析法（37°C で 8 時間）により評価した（2.6.5.6、[redacted] 及び [redacted]）。

HSA、AGP 及び HLM における[^{14}C]oveporexton のタンパク結合率を表 2.6.4.4-2 に示した。これらの結果から、[^{14}C]oveporexton はヒト血漿中において HSA 及び AGP に結合することが示唆された。[^{14}C]oveporexton のタンパク結合率に、4% HSA、4% HSA/0.18% AGP 及び HLM では濃度依存性が認められなかったが、0.18% AGP ではわずかに濃度依存性が認められた。

表 2.6.4.4-2 HSA、AGP 及び HLM に対する oveporexton のタンパク結合率の平均値

	[^{14}C]Oveporexton Protein Binding Ratio (%)		
Matrix	0.05 µg/mL	0.5 µg/mL	5 µg/mL
4% HSA	89.4	89.8	89.2
0.18% AGP	83.2	82.3	77.3
4% HSA/0.18% AGP	95.8	96.0	95.5
0.2 mg protein/mL HLM	26.0	25.4	28.4
1 mg protein/mL HLM	68.6	67.9	66.8

Source: [redacted] and [redacted]
The mean value of 2 to 3 replicates is presented.

2.6.4.4.4 血球移行

2.6.4.4.4.1 ラット、サル及びヒトにおける in vitro 血球移行

添付資料番号：4.2.2.3-4（評価）

ラット、サル及びヒトにおける[^{14}C]oveporexton（0.05、0.5 及び 5 µg/mL）の血球への移行を in vitro で検討し（2.6.5.8、[redacted]）、表 2.6.4.4-3 に示した。[^{14}C]oveporexton の血球への移行率は低く、すべての動物種で 12.4%～24.9%であった。[^{14}C]oveporexton の血球への移行率は、ラットでは濃度に依存して上昇したが、サル及びヒトでは濃度依存性が認められなかった。血液／血漿中濃度比は、すべての動物種で 0.698～0.802 であった。

表 2.6.4.4-3 ラット、サル及びヒトにおける oveporexton の血球移行率の平均値

	[^{14}C]Oveporexton Distribution Ratio (%)		
Species	0.05 µg/mL	0.5 µg/mL	5 µg/mL
Rat	12.4	14.6	24.9
Monkey	22.9	24.0	23.1
Human	17.8	18.0	18.0

Source: [redacted]
The mean value of 3 replicates is presented.

2.6.4.4.4.2 In vivo における oveporexton の血球移行率

Oveporexton の in vivo における血球移行率に関連する試験については 2.6.4.3.3 に示した。

2.6.4.4.5 授乳中のラット及び妊娠中のラットに経口投与時の乳汁分泌及び胎盤通過性

添付資料番号：4.2.2.3-5（参考）

授乳中及び妊娠中の雌アルビノ SD ラットを用いて、[^{14}C]oveporexton の乳汁分泌及び胎盤通過性を評価した（2.6.5.7、[redacted]）。ラットを 4 群に分け、そのうち 2 群（Group 1：6 匹、Group 2：4 匹）では、分娩 2～4 日後の雌ラット及び出生児において、乳汁中及び血漿中の TRA を評価し、代謝物を同定した。また、別の 2 群（Group 3：5 匹、Group 4：9 匹）では、GD 19 の雌 SD ラットにおいて、乳汁中 TRA、母動物及び胎児の血液中及び血漿中の TRA、定量的全身オートラジオグラフィーによる組織分布を評価し、代謝物を同定した（2.6.4.5.2.7 に示した）。

すべての母動物に、[^{14}C]oveporexton を[^{14}C]oveporexton 及び oveporexton を含む 0.5%メチルセルロース溶液として 100 mg/kg（目標放射能量：約 200 µCi/kg）の用量で単回経口投与した。

Group 1 の雌ラット 1 匹が、後眼窩出血及び乳汁採取失敗により瀕死状態となったため、投与後約 8.5 時間に麻酔下で安楽死させた。剖検を行ったところ、投与過誤を示す所見はなく、肉眼所見も認められなかった。瀕死状態の原因は不明であった。母ラット 1、4、5、6（Group 1）及び母ラット 8（Group 2）の出生児の数匹が、48 時間後の母動物検体採取前に死亡又は所在不明となった。

授乳中の SD ラットに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、[^{14}C]oveporexton 関連物質が血漿中及び乳汁中で検出された。血漿中及び乳汁中の TRA は、投与後 8 時間（t_{max}）で、それぞれ 19.337 µg equiv/mL 及び 113.936 µg equiv/g（C_{max}）に達した。血漿中及び乳汁中の投与後 0.25～48 時間のすべての時点で定量限界を上回る TRA が認められた。

[^{14}C]oveporexton 関連物質は、GD 19 の雌 SD ラットにおいて全身に広く分布し、多くの組織において投与後 48 時間まで定量限界を上回る TRA が認められた。母動物の心臓血及びほとんどの組織において、TRA は投与後 8 時間で C_{max}（心臓血で 11.792 µg equiv/g）に達し、投与後 48 時間まで定量限界を上回る TRA が認められた。[^{14}C]oveporexton 関連物質の C_{max} が比較的高かった（100.000 µg equiv/g 超）組織は、副腎、肝臓、ハーダー腺、胃粘膜、褐色脂肪、盲腸及び白色脂肪であった。[^{14}C]oveporexton 関連物質の C_{max} が比較的低かった（10.000 µg equiv/g 未満）組織は、脳（髄質、小脳及び大脳）、脊髄、骨及び水晶体であった。

妊娠中の母動物に[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、羊膜、羊水、胎児血液、胎児組織及び胎盤に[^{14}C]oveporexton 関連物質が認められた。投与後 0.25 時間の時点で定量限界を上回る TRA が認められた組織は、胎盤、羊膜及び羊水のみであった。胎児組織及び胎児関連組織（羊膜、羊水及び胎盤）において、TRA は投与後 8 又は 24 時間で C_{max} に達し、胎児筋肉及び羊水を除き、投与後 48 時間まで定量限界を上回る TRA が認められた。胎児の心臓血中の TRA（定量的全身オートラジオグラフィーにより測定）は投与後 24 時間（t_{max}）で 3.257 µg equiv/g（C_{max}）に達した。胎児組織及び胎児関連組織において、[^{14}C]oveporexton 関連物質の C_{max} が比較的高かった（20.000 µg equiv/g 超）組織は、胎盤及び羊膜であり、[^{14}C]oveporexton 関連物質の C_{max} が比較的低かった（5.000 µg equiv/g 未満）組織は、心臓血及び羊水であった。

以上より、[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、[^{14}C]oveporexton 関連物質は授乳中のラットでは乳汁中に分泌され、妊娠中のラットでは胎盤を通過して胎児に移行することが示唆された。本試験における授乳中のラットの血漿及び乳汁並びに母動物及び胎児の血漿に含まれる oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定については、2.6.4.5.2.7 に示した。

2.6.4.5 代謝（動物間の比較）

2.6.4.5.1 In vitro 試験

2.6.4.5.1.1 肝細胞を用いた oveporexton の in vitro 代謝安定性

添付資料番号：4.2.2.4-3（評価）

ラット、サル及びヒトの肝細胞を用いて oveporexton の in vitro 代謝安定性（$CL_{int(hep)}$）を評価した（2.6.5.10A、[redacted]）。ヒト肝細胞では、oveporexton の in vitro 代謝クリアランスに対する非特異的 CYP 阻害剤 ABT の影響も評価した。ラット、サル及びヒトの肝細胞において、[^{14}C]oveporexton（1 µmol/L）は時間依存的に消失した。ラット、サル及びヒトにおける $CL_{int(hep)}$は、それぞれ 663、375 及び 426 µL/h/10^6 cells であった。ヒト肝細胞における[^{14}C]oveporexton の in vitro 代謝は ABT により完全に阻害された。ヒト肝細胞における[^{14}C]oveporexton の in vitro 代謝に対する CYP の相対的寄与率は 100%であった。

2.6.4.5.1.2 Oveporexton の in vitro 代謝に対する CYP 分子種の寄与率

添付資料番号：4.2.2.4-1（評価）

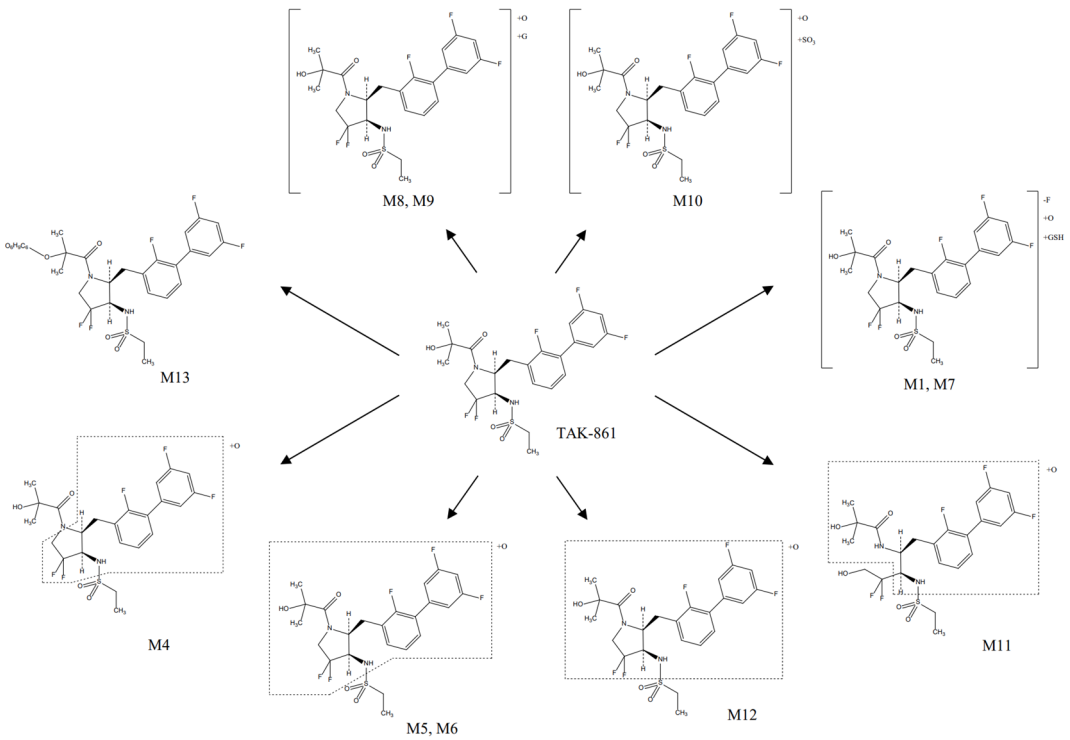
ヒト CYP 発現ミクロソーム（CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4）を用いて、oveporexton の in vitro 代謝安定性（$CL_{int(cyp)}$）を評価した（2.6.5.10B、[redacted]）。Oveporexton（1 µmol/L）は、NADPH 生成系の存在下で、CYP2C9、2D6 及び 3A4 により代謝された。CYP2C9、2D6 及び 3A4 の $CL_{int(cyp)}$は、それぞれ 0.0165、0.0147 及び 0.275 µL/min/pmol P450 であった。Oveporexton は他の CYP 発現ミクロソーム（CYP1A2、2B6、2C8、2C19）では代謝されなかった。RAF を用いて算出した CYP2C9、2D6 及び 3A4 の相対的寄与率は、それぞれ 2.6%、0.1%及び 97.3%であった。

2.6.4.5.1.3 ヒト、マウス、ラット及びサルの肝細胞による oveporexton の in vitro 代謝

添付資料番号：4.2.2.4-4（評価）

マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞を用いて、LC/MS 及び HPLC／オンラインフローシンチレーションアナライザーにより oveporexton の in vitro 代謝物検索を実施した（2.6.5.10C 及び 2.6.5.11A、[redacted]）。[^{14}C]oveporexton（10 µmol/L）は、動物及びヒト由来の肝細胞において合計 11 の代謝物に代謝された。Oveporexton は、一酸化代謝により M4、M5、M6 及び M12 に、酸化的開環及び一酸化代謝により M11 に、グルクロン酸抱合により M13 に、一酸化代謝及びグルクロン酸抱合により M8 及び M9 に、一酸化代謝及び硫酸抱合により M10 に、酸化的脱フッ素化及びグルタチオン抱合により M1 及び M7 に代謝されると推定された（図 2.6.4.5-1）。

酸化的脱フッ素化及びグルタチオン抱合により生成される代謝物（M1 及び M7）は、マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞において同定されたすべての代謝物の合計のそれぞれ 51.8%、70.8%、19.4%及び 14.9%を占めた。同定されたすべての代謝物のうち、ヒト肝細胞で生成される主な代謝物は M8 及び M10 であった。ヒトに特異的な代謝物は認められなかった。



Source: [redacted]
TAK-861: oveporexton.

図 2.6.4.5-1　マウス、ラット、サル及びヒトにおける oveporexton の代謝経路

2.6.4.5.2 In vivo 試験

2.6.4.5.2.1 マウスに単回経口投与時の血漿、尿及び糞中における oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定

添付資料番号：4.2.2.4-5（評価）

雄 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(wt/wt)マウスに非絶食下で[^{14}C]oveporexton 15 mg/kg を単回経口投与したときの in vivo 検体（[redacted]）を用いて、oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定を行った（2.6.5.9A、[redacted]）。血漿、尿及び糞中の代謝物プロファイリングは、オフライン法（マイクロプレートフラクションコレクター及びマイクロプレートシンチレーション・ルミネッセンスカウンターを装着した HPLC で分析）又はオンライン法（フローシンチレーションアナライザーを装着した HPLC で分析）により実施した。代謝物の同定及び構造解析は LC/MS 分析により実施した。

本試験の結果から、マウスに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、oveporexton は広範な代謝を受けることが示された。血漿中での TRA に占める割合は、oveporexton（未変化体）が 95.6%、同定された 2 つの代謝物（M5 及び M6）は 3.5%未満であった。投与後 24 時間までの尿中及び糞中への TRA の累積排泄率は、それぞれ 1.0%及び 95.9%であった。尿中で、oveporexton（未変化体）は検出されず、同定された 4 つの代謝物の排泄率の合計は投与量の 0.4%であった。糞中で、oveporexton（未変化体）の排泄率は投与量の 2.4%であり、同定された 13 の代謝物の排泄率はそれぞれ投与量の 1.7%～12.9%であった。

Oveporexton の推定代謝経路は、脱フッ素を伴う酸化及び伴わない酸化、それに続くグルクロン酸抱合並びに酸化的脱フッ素化に続くメチルチオ抱合であった。尿中及び糞中への酸化的脱フッ素化経路により生成する代謝物の排泄率の合計は投与量の 21.2%であった。本試験における代謝物プロファイル及び代謝経路並びに他の動物種との関係は 2.6.4.5.2.6 に示した。

2.6.4.5.2.2 雄マウスに単回経口投与時の胆汁中における oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定

添付資料番号：4.2.2.4-6（評価）

雄 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(wt/wt)マウスに非絶食下で[^{14}C]oveporexton を 15 又は 600 mg/kg の用量で単回経口投与したときの in vivo 胆汁試料を用いて、oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定を行った（2.6.5.9B、[redacted]）。BDC 雄マウスに[^{14}C]oveporexton を 15 又は 600 mg/kg の用量で単回経口投与したときの胆汁中の代謝物プロファイリングは、オンライン法（フローシンチレーションアナライザーを装着した HPLC で分析）により実施した。代謝物の同定及び構造解析は LC-HRMS により実施した。

Oveporexton 15 mg/kg を経口投与したとき、投与後 24 時間までの胆汁中への TRA の累積排泄率は 69.8%であった。胆汁中で、oveporexton（未変化体）は検出されず、同定された 10 の代謝物の排泄率はそれぞれ投与量の 2.9%～18.6%であった。Oveporexton 600 mg/kg を経口投与したとき、投与後 24 時間までの胆汁中への TRA の累積排泄率は 32.3%であった。胆汁中で、oveporexton（未変化体）は検出されず、同定された 11 の代謝物の排泄率はそれぞれ投与量の 1.2%～10.8%であった。

同定された oveporexton の代謝物のうち、胆汁中の推定代謝経路は、酸化（M17）、脱フッ素を伴う酸化及び伴わない酸化に続くグルクロン酸抱合、酸化的脱フッ素化に続くグルタチオン関連抱合であった。本試験における代謝物プロファイル及び代謝経路並びに他の動物種との関係は 2.6.4.5.2.6 に示した。

2.6.4.5.2.3 雄ラットに単回経口投与時の血漿、胆汁、尿及び糞中における oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定

添付資料番号：4.2.2.4-7（評価）

雄 Crl:CD(SD)ラットに非絶食下で[^{14}C]oveporexton 100 mg/kg を単回経口投与したときの代謝物プロファイリング及び同定を行った（2.6.5.9C、[redacted]）。血漿、尿、糞及び胆汁中の代謝物プロファイリングは、オフライン法（マイクロプレートフラクションコレクター及びマイクロプレートシンチレーション・ルミネッセンスカウンターを装着した HPLC で分析）又はオンライン法（フローシンチレーションアナライザーを装着した HPLC で分析）により実施した。代謝物の同定及び構造解析は LC/MS 分析により実施した。

本試験の結果から、ラットに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、oveporexton は広範な代謝を受けることが示された。血漿中での TRA に占める割合は、oveporexton（未変化体）が 92.5%、同定された 2 つの微量代謝物（M5 及び M6）が 7.5%未満であった。

BDC ラットで、投与後 48 時間までの胆汁中への TRA の累積排泄率は投与量の 95.1%であった。胆汁中で、oveporexton（未変化体）は検出されず、同定された 7 つの代謝物の排泄率はそれぞれ 7.5%～30.9%であった。胆汁中で酸化的脱フッ素化経路により生成する代謝物の排泄率の合計は投与量の 38.4%であった。

未処置ラットで、投与後 24 時間までの尿中への TRA の累積排泄率は 0.5%、投与後 48 時間までの糞中への TRA の累積排泄率は 97.6%であった。尿中で、oveporexton（未変化体）は検出されず、同定された 1 つの代謝物（M38）の排泄率は投与量の 0.1%であった。

糞中で、oveporexton（未変化体）の排泄率は投与量の 13.1%であり、同定された 14 の代謝物の排泄率はそれぞれ投与量の 0.6%～8.7%であった。未処置ラットでは、全体として酸化的脱フッ素化経路により生成する代謝物の排泄率の合計は投与量の 15.0%であった。

以上より、ラットに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、oveporexton は広範な代謝を受け、尿及び糞中へ代謝物の排泄率の合計は投与量の 85.0%であった。未処置ラットでは、酸化的脱フッ素化経路により生成する代謝物の排泄率の合計が投与量の 15.0%であった。BDC ラットの胆汁中では、酸化的脱フッ素化経路により生成する代謝物の排泄率の合計が投与量の 38.4%であった。Oveporexton（未変化体）の糞中への排泄は少なかった（排泄率は投与量の 13.1%）。尿中及び胆汁中では、oveporexton（未変化体）は検出されなかった。しかし、血漿中の主な構成成分は oveporexton（未変化体）であり、TRA に占める割合は 92.5%であった。本試験における代謝物プロファイル及び代謝経路並びに他の動物種との関係は 2.6.4.5.2.6 に示した。

2.6.4.5.2.4 ラット及びマウスの胆汁を糞とともにインキュベーション後の oveporexton の代謝物プロファイル

添付資料番号：4.2.2.4-10（参考）

Crl:CD(SD)ラット及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(wt/wt)マウスにおいて、未処置動物由来の糞とともにインキュベーションすることにより惹起された胆汁中の代謝物プロファイルの変化を、オンライン法（フローシンチレーションアナライザーを装着した HPLC で分析）により評価した（2.6.5.9D、[redacted]）。未処置動物由来の糞検体並びに[^{14}C]oveporexton を 15 mg/kg 及び 100 mg/kg の用量で単回投与時の胆汁検体を雄マウス（[redacted]）又は雄ラット（[redacted]）より非絶食下で採取した。

抽出及び再溶解により前処理した胆汁又は未処置動物由来の糞と混合のみ実施し、インキュベーションを実施前のマウス及びラットの胆汁では、放射能の回収率は良好であった（96.0%～103.3%）。これに対し、未処置動物由来の糞とともにインキュベーションを実施後のマウス及びラットの胆汁ではいずれも、放射能の回収率が低下した（それぞれ 78.1%及び 73.2%）。

抽出及び再溶解により前処理したラットの胆汁では、前処理していないラットの胆汁と比較してラジオクロマトグラムに顕著な変化は認められなかった。また、未処置動物由来の糞と混合のみ実施し、インキュベーションを実施前のラットの胆汁では、代謝物への変換がわずかに認められた。一方、前処理したラットの胆汁と比較して、未処置動物由来の糞とともにインキュベーション後のラットの胆汁では、M1+M7+M25（グルタチオン関連抱合体）及び M8（グルクロン酸抱合体）が顕著に減少し、M4 及び M17（酸化代謝物）が増加した。これらの酸化代謝物はラットの糞中でも検出された。Oveporexton 及びいくつかの代謝物（M5+M6+M34、M12、M19+M33、M21 及び M22）は、ラットの糞中でのみ検出された。

ラットと同様に、抽出及び再溶解により前処理したマウスの胆汁では、前処理していないマウスの胆汁と比較してラジオクロマトグラムに顕著な変化は認められなかった。また、未処置動物由来の糞とともに混合しインキュベーションを実施前の胆汁では、代謝物への変換がわずかに認められた。一方、前処理したマウスの胆汁と比較して、未処置動物由来の糞とともにインキュベーション後のマウスの胆汁では、M1+M7（グルタチオン関連抱合体）並びに M8 及び M9（グルクロン酸抱合体）が顕著に減少し、他の酸化代謝物（M4+M11 及び M12）は増加した。糞とともにインキュベーションすることにより、マウスの胆汁中で多くの代謝物が生成されたが、oveporexton 及び代謝物 M22 はマウスの糞中でのみ検出された。

以上より、ラット及びマウスの胆汁中におけるグルタチオン関連抱合体及びグルクロン酸抱合体などの抱合体は、未処置動物由来の糞とインキュベーションすることにより、未抽出成分又は酸化代謝物に変換されることが示された。

2.6.4.5.2.5 雄サルに単回経口投与時の血漿、尿及び糞中における oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定

添付資料番号：4.2.2.4-8（評価）

雄カニクイザルに非絶食下で[^{14}C]oveporexton 100 mg/kg を単回経口投与したときの in vivo 検体（[redacted]）を用いて、oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定を行った（2.6.5.9E、[redacted]）。雄サルに[^{14}C]oveporexton 100 mg/kg を単回経口投与時の血漿

（0～48 時間）、尿（0～120 時間）及び糞（0～120 時間）における代謝物プロファイルを LC/MS 分析により評価した。

サルに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、oveporexton は代謝を受け、血漿中での TRA に占める割合は、oveporexton（未変化体）が 75.5%、同定された 2 つの代謝物（M4 及び M9）がそれぞれ 14.5%及び 7.9%であった。ヒトの代謝物に関する情報は、2.6.4.5.2.8 を参照のこと。

サルに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、投与後 120 時間までの尿中及び糞中への TRA の累積排泄率は、それぞれ投与量の 7.4%及び 85.3%であった。尿中で、oveporexton（未変化体）は検出されず、同定された 4 つの代謝物の排泄率はそれぞれ投与量の 0.3%～1.8%であった。糞中で、oveporexton（未変化体）の排泄率は投与量の 35.4%であり、同定された 8 つの代謝物の排泄率はそれぞれ投与量の 1.6%～8.0%であった。サルでは酸化的脱フッ素化経路により生成する代謝物の排泄率の合計が投与量の 3.9%（尿中排泄と糞中排泄の合計）を占めた。

以上より、サルに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、oveporexton は代謝を受け、尿中及び糞中への代謝物の排泄率の合計は投与量の 57.3%であった。本試験における代謝物プロファイル及び代謝経路並びに他の動物種との関係は 2.6.4.5.2.6 に示した。

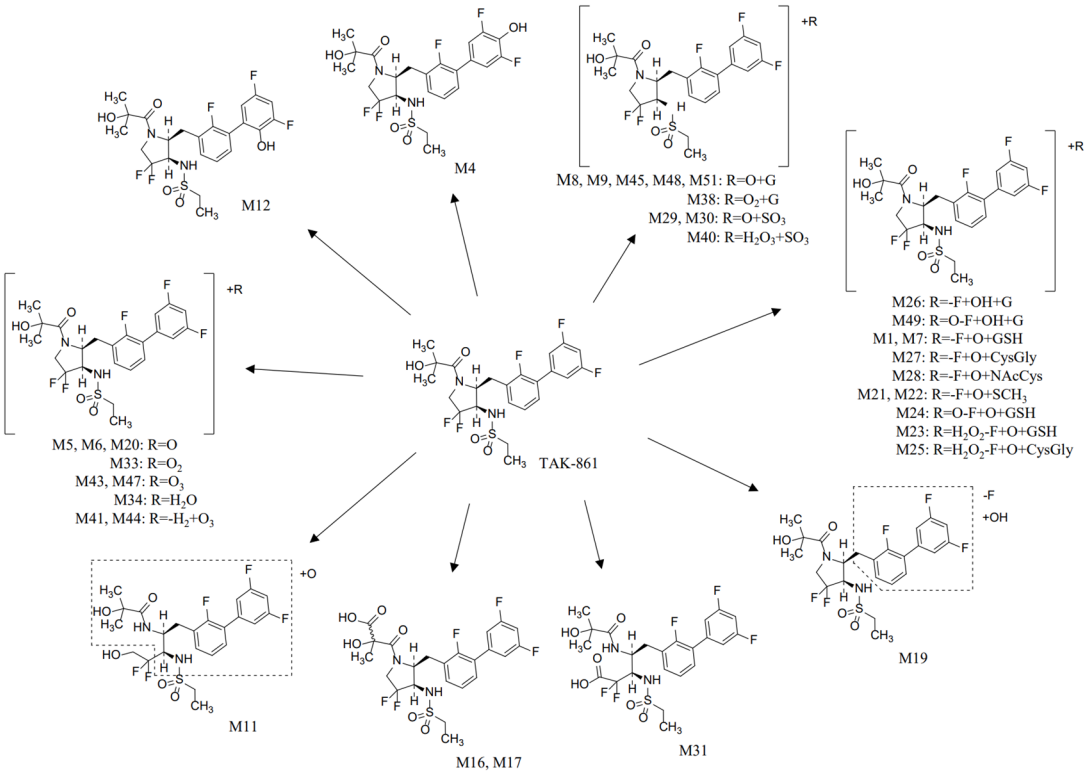
2.6.4.5.2.6 マウス、ラット及びサルに単回投与時の oveporexton の in vivo 代謝

添付資料番号：4.2.2.4-9（評価）

以下の独立した 4 試験を総合的に評価し、マウス、ラット及びサルに単回経口投与したときの oveporexton の in vivo における代謝物の特性及びプロファイルを要約した（2.6.5.11B 及び 2.6.5.11C、[redacted]）。

- 雄マウスの血漿、尿及び糞中における代謝物プロファイリング及び同定（[redacted]）
- 雄マウスの胆汁中における代謝物プロファイリング及び同定（[redacted]）
- 雄ラットの血漿、胆汁、尿及び糞中における代謝物プロファイリング及び同定（[redacted]）
- 雄サルの血漿、尿及び糞中における代謝物プロファイリング及び同定（[redacted]）

マウス、ラット及びサルに[^{14}C]oveporexton を経口投与したとき、血漿、尿、糞及び胆汁中に 44 の代謝物（M1、M4、M5、M6、M7、M8、M9、M11、M12、M16、M17、M19、M20、M21、M22、M23、M24、M25、M26、M27、M28、M29、M30、M31、M32、M33、M34、M35、M36、M37、M38、M39、M40、M41、M42、M43、M44、M45、M46、M47、M48、M49、M50 及び M51）が検出され、LC-HRMS により代謝物の化学構造解析を実施した。Oveporexton の代謝経路は、脱フッ素を伴う酸化及び伴わない酸化、それに続くグルクロン酸抱合、酸化を伴う硫酸抱合、酸化的脱フッ素化（又は更なる酸化）に続くグルタチオン関連抱合、並びに未同定の代謝経路などの複数の代謝経路であることが確認された。動物における oveporexton の推定代謝経路を図 2.6.4.5-2 に示した。



Source: [redacted]

CysGly: cysteinylglycine, G: glucuronic acid, GSH: glutathione, NAcCys: *N*-acetylcysteine, TAK-861: oveporexton.
All structures of metabolites are presumed. Unknown metabolites, M32, M35, M36, M37, M39, M42, M46, and M50, were also detected.

図 2.6.4.5-2　動物における oveporexton の推定代謝経路

すべての動物において、投与した放射能の大部分が排泄された（尿及び糞中への排泄率の合計は投与量の 92.7%超）。マウス、ラット及びサルにおいて、尿中及び糞中への代謝物の排泄率の合計はそれぞれ投与量の 94.5%、85.0%及び 57.3%であったことから、oveporexton はすべての動物種において広範な代謝を受けることが示唆された。マウス、ラット及びサルにおける尿中及び糞中への脱フッ素化体（M19、M21、M22 及び M26）の排泄率の合計は、それぞれ 21.2%、15.0%及び 3.9%であった。糞中の未抽出成分の排泄率は、マウスで投与量の 26.1%、ラットで投与量の 29.1%、サルで投与量の 13.9%であった。これらの結果から、脱フッ素化経路により生成する代謝物及び糞中の未抽出成分はサルと比較してマウス及びラットで多いことが示された。

BDC マウスの胆汁中への酸化的脱フッ素化経路（M1、M7、M27、M28 及び M49）により生成する代謝物の排泄率の合計は、15 mg/kg 投与時で最大 24.5%、600 mg/kg 投与時で最大 14.7%であり、酸化的脱フッ素化体のうち、グルタチオン関連の代謝物（M1、M7、M27 及び M28）の排泄率の合計は、15 mg/kg 投与時で 21.6%、600 mg/kg 投与時で 12.8%であった。BDC ラットの胆汁中では、酸化的脱フッ素化経路のうちグルタチオン関連の代謝物（M1、M7、M25、M27 及び M28）のみが代謝物ピークとして認められ、胆汁中への排泄率の合計は投与量の 38.4%であった。

ラット及びマウスのいずれにおいても、胆汁中の代謝物プロファイルは糞中の代謝物プロファイルと大きく異なっていた。このような差異の原因は不明であるが、1 つの理由として、酸化的脱フッ素化を受けたグルタチオン関連の代謝物が消化管内で微生物叢により他の代謝物に変換されることが考えられる（[redacted]）。

すべての動物において、血漿中の主な構成成分は oveporexton（未変化体）であり、TRA に占める割合は、マウスで 95.6%、ラットで 92.5%、サルで 75.5%であった。なお、すべての動物の血漿中で、すべての脱フッ素化体は検出されていない。

2.6.4.5.2.7 授乳中及び妊娠中の雌ラットに oveporexton を経口投与時の血漿中及び乳汁中における oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定

添付資料番号：4.2.2.4-11（参考）

授乳中及び妊娠中のアルビノ SD ラットに、それぞれ[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したときの授乳中のラットの血漿及び乳汁、並びに母動物及び胎児の血漿に含まれる oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定を行った（2.6.5.9F、[redacted]）。授乳中及び妊娠中のラットに[^{14}C]oveporexton を 100 mg/kg（200 µCi/kg）の用量で単回経口投与後、0.25、1 及び 24 時間時点の血漿中及び乳汁中の代謝物プロファイリングは、LC/MS/MS と放射分析を組み合わせることにより実施した。

授乳中及び妊娠中のラットから採取されたすべての血漿中及び乳汁中の主な構成成分は oveporexton であった（TRA に占める割合は 92.4%～100%）。授乳中のラットで、血漿中及び乳汁中に代謝物は検出されなかった。妊娠中のラットで、検出された代謝物は M5 及び M6 のみであり（TRA に占める割合は 7.6%）、投与後 24 時間の血漿中でのみ認められた。胎児の血漿中で代謝物は検出されなかった。

授乳中及び妊娠中のラットに[^{14}C]oveporexton を 100 mg/kg（200 µCi/kg）の用量で単回経口投与したとき、授乳中のラット、妊娠中のラット及び胎児の血漿中並びに授乳中のラットの乳汁中における主な[^{14}C]oveporexton 関連物質は oveporexton（未変化体）であることが示された。

2.6.4.5.2.8 ヒト in vivo における探索的な oveporexton の代謝物プロファイリング及び同定

添付資料番号：4.2.2.4-12（参考）、5.3.1.1-1（参考）

探索的な評価として、TAK-861-1001 試験で得られたヒトにおける血漿中及び尿中の代謝物の同定を実施し、半定量的 LC/MS 法により各代謝物の相対量を測定した（[redacted]）。健康被験者に oveporexton を 25 mg の用量で単回経口投与後（コホート A5）及び 20 mg の用量で 1 日 1 回反復経口投与後（コホート B2）の血漿検体では 3 つの代謝物（M4、M12 及び M30）が、尿試料では 12 の代謝物（M4、M6、M8、M9、M11、M12、M13、M16、M17、M20、M29 及び M31）が検出された。コホート B2（Day 14）の血漿中での oveporexton（未変化体）に対する代謝物 M4 の割合は 11.9%であったことから、代謝物 M4 はヒト血漿中の主要な代謝物（TRA に占める割合が 10%超）であることが示唆された。しかし、その後の最終的なヒトマスバランス試験（TAK-861-1003 試験）において、ヒトに

おける血漿中の TRA に占める代謝物の割合はいずれも 10%未満であることが確認された（2.7.2、[redacted]）。

2.6.4.5.3 Oveporexton の共有結合性の評価

Firazorexton（TAK-994）は、oveporexton と構造が類似したオレキシン 2 受容体作動薬であるが、第 2 相臨床試験において肝毒性が認められたため、開発中止に至った。申請者は詳細な検討を行い、firazorexton 投与による肝酵素値の上昇は、代謝を介した共有結合の形成（代謝活性化）により惹起されたネオアンチゲン誘発性免疫応答に起因する可能性が高いと結論付けた。

申請者は、この毒性を軽減するためにデザインされた包括的な非臨床スクリーニングの後に、oveporexton を開発対象として選択した。Oveporexton は、firazorexton に比べて著しく薬効薬理作用が強く、firazorexton よりも低い 1 日投与量でナルコレプシータイプ 1 に対し有効性を示す。免疫介在性 DILI における獲得免疫を正確に予測できる非臨床試験はないが（Liu et al., 2021）、肝細胞における 1 日あたりの共有結合量が [redacted] mg 未満の薬剤は、免疫介在性 DILI のリスクが大幅に低いことが示されている（[redacted]）。本項では、代謝活性化の機序及び 1 日あたりの共有結合量を評価する一連の oveporexton の in vitro 試験の結果を示した。

これらの評価に加えて、更なる探索的な毒性評価を 2.6.6 に、臨床安全性情報を 2.7.4 に示した。

2.6.4.5.3.1 ヒト肝細胞における oveporexton の共有結合性の評価

添付資料番号：4.2.2.4-15（参考）、4.2.2.4-16（参考）、4.2.2.4-17（参考）

ヒト肝細胞における[^{14}C]oveporexton の共有結合性を 4 つの試験で評価し、3 つの報告書に示した（2.6.5.10D 及び 2.6.5.10E、[redacted]、[redacted] 及び [redacted]）。プールしたヒト肝細胞とともに[^{14}C]oveporexton 10 µmol/L を 37°C で 2 時間インキュベーションすることにより、各試料のタンパク質濃度に対する放射能の総量（pmol equiv）として共有結合量を測定した。[^{14}C]oveporexton のターンオーバー（代謝速度）を測定し、f_{cvb} を算出した。1 日あたりの共有結合量は、臨床試験で評価したヒトにおける 1 日投与量である 4 及び 7 mg、吸収率（値は 1 に設定）、代謝により消失する割合（値は 1 に設定）及び f_{cvb} を用いて算出した。4 つの試験それぞれの共有結合量、f_{cvb} 及び 1 日あたりの共有結合量の推定値を表 2.6.4.5-1 に示した。以上より、臨床での 1 日投与量である 4 及び 7 mg における 1 日あたりの共有結合量の推定値は、いずれも [redacted] mg/日の閾値を下回ったことから、oveporexton は免疫介在性 DILI のリスクが大きく軽減されていることが示された（[redacted]）。

表 2.6.4.5-1　ヒト肝細胞における oveporexton の共有結合性の評価

Report Number	CVB [a]	f_{cvb}	CVB burden (mg/day) at 4 mg [b]	CVB burden (mg/day) at 7 mg [c]
[redacted]	223.4	0.0528	0.211	0.370 [d]
[redacted]	207.7	0.1416	0.566 [d]	0.991
[redacted] (test 1)	155.8	0.1256	0.502 [d]	0.879
[redacted] (test 2)	122.5	0.1200	0.480 [d]	0.840

[a] CVB formation was determined by relating the total amount of radioactivity (pmol equiv) to the protein concentration in each sample.
[b] The highest daily dose evaluated in Phase 3 clinical trials.
[c] The highest daily dose evaluated in Phase 2 clinical trials.
[d] Values were not included in the original report but calculated based on data contained therein.

2.6.4.5.3.2 ヒト、サル、ラット及びマウスの肝ミクロソームにおける oveporexton の共有結合性

添付資料番号：4.2.2.4-13（参考）

ヒト、サル、ラット及びマウスの肝ミクロソームを用いて、[^{14}C]oveporexton の共有結合性を定量的に評価した（2.6.5.10F、[redacted]）。

複数の CYP による共有結合の相対的寄与率を評価するため、主な CYP（CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4）の阻害剤及び非特異的 CYP 阻害剤を添加した HLM において共有結合性を評価した。NADPH の添加により反応を開始し、37°C で 1 時間インキュベーションした。陰性対照として、[^{14}C]oveporexton をインキュベーション期間の終了時に添加した検体を用いた。また、CYP2C19 の遺伝子型を判定した HLM（CYP2C19 活性なし、中程度の CYP2C19 活性あり又は高活性の CYP2C19 活性）とともに[^{14}C]oveporexton（10 µmol/L）をインキュベーションすることにより、共有結合における CYP2C19 遺伝子多型の影響を評価した。

ミクロソーム沈殿物に結合した TRA（dpm）を LSC により測定し、タンパク質濃度を BCA アッセイ（2 反復測定）により測定し、共有結合量を pmol equivalent [^{14}C]oveporexton/mg microsomal protein として算出した。ヒト、サル、ラット及びマウスの肝ミクロソーム（1 mg/mL）における[^{14}C]oveporexton（10 µmol/L）の共有結合量は、それぞれ 336.2、762.8、565.5 及び 765.4 pmol equivalent to [^{14}C]oveporexton/mg protein であった。

CYP 阻害剤存在下で HLM とインキュベーションした共有結合性の評価では、[^{14}C]oveporexton 関連物質の HLM タンパク質への共有結合には主に CYP3A4 が関与していることが示された。CYP2C19 の遺伝子型を判定した HLM を用いた共有結合性の評価では、[^{14}C]oveporexton の共有結合に対する CYP2C19 の寄与はわずかであり、評価した他のすべての主な CYP（CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 2D6）の寄与もわずかであることが示された。

2.6.4.5.3.3 グルタチオン存在下及び非存在下でのヒト CYP 分子種同定

添付資料番号：4.2.2.4-2（参考）

本試験では、1）ヒト cDNA 発現 CYP ミクロソーム（スーパーソーム）を用いて、[^{14}C]oveporexton を代謝する CYP 分子種を特定し、2）トラッピング試薬としてグルタチオ

ンを用いて、[^{14}C]oveporexton の代謝活性化の機序を評価した（2.6.5.10G、[redacted]）。

分子種同定のため、CYP 発現ミクロソーム（CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1、3A4 及び 3A5）60 µL を 10 µmol/L の[^{14}C]oveporexton とともにインキュベーションした。20 mmol/L の NADPH を 60 µL 添加することにより反応を開始し、60 分後に反応を停止させた。

本試験の結果から、[^{14}C]oveporexton の代謝には、CYP3A4、CYP2C19 及び CYP3A5 が関与することが示された。[^{14}C]oveporexton の消失速度は、CYP3A4、CYP2C19 及び CYP3A5 で、それぞれ 28.25、4.71 及び 5.65 pmol/h/pmol P450 であった。[^{14}C]oveporexton を CYP3A4、CYP2C19 及び CYP3A5 発現ミクロソームとともにインキュベーションしたとき、3 つの酸化代謝物（M4、M11 及び M12）が認められ、同定された。M4 及び M12 の生成には、CYP2C19、CYP3A4 及び CYP3A5 が関与し、M11 の生成には、CYP3A4 のみが関与していた。[^{14}C]oveporexton の代謝に他の CYP 分子種（CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2D6、2E1）の関与は認められなかった。さらに、グルタチオン存在下で[^{14}C]oveporexton を CYP3A4、CYP2C19 及び CYP3A5 発現ミクロソームとともにインキュベーションしたとき、2 つのグルタチオン抱合体（M1 及び M7）が認められたことから、トリフルオロビフェニル基のエポキシ化が代謝活性化に関与している可能性が示唆された。

以上より、[^{14}C]oveporexton は、in vitro において CYP3A4、CYP2C19 及び CYP3A5 により代謝されることが示された。また、グルタチオン存在下で[^{14}C]oveporexton をこれら 3 つの分子種の発現ミクロソームとともにインキュベーションしたとき、グルタチオンによる反応性代謝物の捕捉が認められた。

2.6.4.5.3.4 HLM における[^{14}C]oveporexton の代謝活性化の評価

添付資料番号：4.2.2.4-14（参考）

本試験では、潜在的な反応性代謝物（エポキシド、イミニウム及びアルデヒド）を捕捉する 3 つのトラッピング試薬グルタチオン、KCN 及びセミカルバジド、又はこれらの混合物を添加した HLM において[^{14}C]oveporexton の代謝活性化経路及び[^{14}C]oveporexton からの反応性代謝物の生成を評価した（2.6.5.10H、[redacted]）。

複数のトラッピング試薬（グルタチオン、KCN、セミカルバジド又はこれら 3 つの混合物）5 mmol/L の存在下又は非存在下で、[^{14}C]oveporexton（10 µmol/L）をプールした HLM（1 mg/mL）とともに 37°C で 1 時間インキュベーションした。各条件で 3 回反復測定を行い、放射能を LSC により測定した。タンパク質濃度は BCA アッセイにより定量した。ミクロソーム沈殿物に結合した TRA（dpm）を LSC により測定した。共有結合量を pmol equivalent [^{14}C]oveporexton/mg microsomal protein として算出した。代謝物は β-RAM 及び LC/MS/MS を用いて同定した。

本試験の結果から、共有結合量は、対照試料（385.5 pmol equiv/mg protein）と比較して、グルタチオン（136.5 pmol equiv/mg protein）、KCN（132.9 pmol equiv/mg protein）、セミカルバジド（157.8 pmol equiv/mg protein）及びこれら 3 つの混合物
（68.2 pmol equiv/mg protein）を添加したミクロソームで減少した。3 つのトラッピング試薬を添加したときにいずれも共有結合量が減少したが、これらの反応上清を LC/MS/MS 及び

β-RAM を用いて分析したところ、[^{14}C]oveporexton の代謝は KCN 及びセミカルバジドによって顕著に阻害されることが示された。また、これら 2 つの試料のラジオクロマトグラムにおいて、シアン化物又はセミカルバジドの捕捉ピークは認められなかった。このことから、KCN 及びセミカルバジドを添加した試料で認められた共有結合量の減少は、主に、代謝活性化経路を含めた代謝の阻害によるものであることが示された。一方、グルタチオンを添加した試料では[^{14}C]oveporexton 代謝の阻害は認められず、酸化的脱フッ素化に続くグルタチオン付加体（M1 及び M7）が検出された。

本試験の結果から、oveporexton の代謝活性化は主にエポキシ化反応によって引き起こされ、反応性代謝物であるエポキシドはグルタチオンによって捕捉される可能性があることが示された。

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 マウスに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の薬物動態及びマスバランス試験

添付資料番号：4.2.2.2-4（評価）

雄 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(wt/wt)マウスに非絶食下で[^{14}C]oveporexton を 15 mg/kg の用量で単回経口投与したときの尿中及び糞中への TRA の排泄を評価した（2.6.5.13A、[redacted]）。投与後 24 時間までの尿中及び糞中への TRA 累積排泄率は、それぞれ投与量の 1.0%及び 95.9%であった。投与後 24 時間までの尿中及び糞中への累積排泄率の合計は 96.9%、投与後 48 時間までの尿中及び糞中への累積排泄率の合計は 98.7%であった。

2.6.4.6.2 マウスに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の放射能の胆汁中排泄

添付資料番号：4.2.2.5-1（評価）

BDC 雄 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(wt/wt)マウスに非絶食下で[^{14}C]oveporexton を 15 及び 600 mg/kg の用量で単回経口投与したときの胆汁、尿及び糞中への TRA の排泄を評価した（2.6.5.13B、[redacted]）。15 mg/kg 群では、投与後 24 時間までの胆汁、尿及び糞（消化管内容物を含む）への TRA の累積排泄率は、それぞれ投与量の 69.8%、3.5%及び 21.6%であった。屍体を含めた放射能の総回収率は投与量の 98.3%であった。600 mg/kg 群では、投与後 24 時間までの胆汁、尿及び糞（消化管内容物を含む）への TRA の累積排泄率は、それぞれ投与量の 32.3%、1.5%及び 54.5%であった。屍体を含めた放射能の総回収率は投与量の 98.4%であった。吸収率（TRA の胆汁中排泄率と尿中排泄率の合計）は、15 mg/kg 群では投与量の約 73%であり、600 mg/kg 群では投与量の約 34%に低下した。

2.6.4.6.3 ラットに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の薬物動態及びマスバランス試験

添付資料番号：4.2.2.2-5（評価）

雄 SD ラット及び BDC 雄 SD ラットにいずれも非絶食下で[^{14}C]oveporexton を 100 mg/kg の用量で単回経口投与したときの胆汁、尿及び糞中への TRA の排泄を評価した（2.6.5.13C、[redacted]）。TRA の排泄は、投与後 72 時間までにほぼ完了した。雄 SD ラットでは、投与後 72 時間までの尿中及び糞中への TRA の累積排泄率は、それぞれ投与量の 0.5%及び 98.7%であった。投与後 72 時間までの尿中及び糞中への TRA の累積排泄率の合計は投与量の 99.2%、投与後 96 時間までの尿中及び糞中への TRA の累積排泄率の合計は

投与量の 99.3%であった。BDC ラットでは、投与後 72 時間までの胆汁、尿及び糞（消化管内容物を含む）への TRA の累積排泄率は、それぞれ投与量の 95.3%、1.1%及び 6.4%であり、投与後 72 時間までの胆汁、尿及び糞（消化管内容物を含む）への TRA の累積排泄率の合計は投与量の 102.8%であった。吸収率（TRA の胆汁中排泄率と尿中排泄率の合計）は投与量の約 96%であった。

2.6.4.6.4 サルに[^{14}C]oveporexton を単回経口投与時の薬物動態及びマスバランス試験

添付資料番号：4.2.2.2-6（評価）

雄カニクイザルに非絶食下で[^{14}C]oveporexton を 100 mg/kg の用量で単回経口投与したときの尿中及び糞中への TRA の排泄を評価した（2.6.5.13D、[redacted]）。投与後 168 時間までの尿中及び糞中への TRA の累積排泄率は、それぞれ投与量の 7.7%及び 89.4%であった。投与後 168 時間までの尿中及び糞中への TRA の累積排泄率の合計は投与量の 97.2%であった。

以上より、雄のマウス、ラット及びサルに非絶食下で単回経口投与したとき、[^{14}C]oveporexton 関連物質の吸収は良好であり、主に胆汁を介して糞中に排泄されることが示された。

2.6.4.7 薬物動態学的相互作用

2.6.4.7.1 ヒト肝細胞における oveporexton による CYP 誘導の in vitro 評価

添付資料番号：4.2.2.6-1（評価）

ドナー3 例から調製したヒト凍結肝細胞を用いて、5 つの CYP 分子種（CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 3A4）の遺伝子発現に対する oveporexton（0.1、0.3、1、3、10 及び 30 µmol/L）の誘導作用を評価した（2.6.5.12A、[redacted]）。Oveporexton 30 µmol/L における CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 3A4 の遺伝子発現の変化倍率の平均値は、それぞれ 2.55 倍、4.47 倍、4.42 倍、2.78 倍及び 36.3 倍であった。ドナー3 例から調製した肝細胞の間に顕著な差は認められなかった。CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 3A4 の E_{max} の平均値はそれぞれ 1.89、4.38、4.41、4.62 及び 44.1 であり、CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 3A4 の EC_{50} の平均値はそれぞれ 6.21、2.87、3.54、50.1 及び 2.75 µmol/L であった。以上より、oveporexton は in vitro において CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 3A4 を誘導することが示された。

2.6.4.7.2 HLM における CYP 活性に対する oveporexton の阻害作用

添付資料番号：4.2.2.6-2（評価）

HLM を用いて、7 つの CYP 分子種（CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4/5）のマーカー活性に対する oveporexton（0.1、0.3、1、3、10 及び 30 µmol/L）の阻害作用を評価した（2.6.5.12B、[redacted]）。また、NADPH の存在下で oveporexton とともに HLM を 30 分間プレインキュベーションしたときの CYP 活性に対する oveporexton の時間依存的阻害作用を検討した。プレインキュベーションなしの評価では、oveporexton は CYP2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4/5（ミダゾラム 1'-水酸化）活性を阻害し、IC_{50} はそれぞれ 21、18、13、4.6 及び 18 µmol/L であった。また、oveporexton は CYP1A2、2B6 及び

3A4/5（テストステロン 6β-水酸化）活性に対しては阻害作用を示さなかった（IC_{50}：30 μmol/L 超）。プレインキュベーションありの評価では、oveporexton は CYP2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4/5（ミダゾラム 1'-水酸化及びテストステロン 6β-水酸化）活性を阻害し、IC_{50} はそれぞれ 29、22、16、3.7、4.0 及び 4.7 μmol/L であった。また、oveporexton は CYP1A2 及び 2B6 活性に対しては阻害作用を示さなかった（IC_{50}：30 μmol/L 超）。以上より、oveporexton は in vitro において CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 活性に対して直接的な阻害作用を有することが示された。

2.6.4.7.3 HLM における oveporexton による CYP3A4/5 の時間及び濃度依存的な不活性化速度論

添付資料番号：4.2.2.6-3（参考）

HLM を用いて、oveporexton による CYP3A4/5 の時間及び濃度依存的阻害の速度論パラメータを評価した（2.6.5.12C、[redacted]）。NADPH 存在下で oveporexton（0～100 μmol/L）を HLM とともに 0、5、10、15、20 及び 30 分間インキュベーションしたとき、CYP3A4/5 活性の時間依存的な低下が認められ、k_{inact} は 0.05079/min、K_I は 11.83 μmol/L であった。

以上より、oveporexton は in vitro において HLM 中で CYP3A4/5 活性を時間依存的に阻害することが示された。

2.6.4.7.4 Oveporexton とヒト排出／取り込みトランスポーターとの相互作用の in vitro 評価

添付資料番号：4.2.2.6-4（参考）、4.2.2.6-6（参考）

ヒト排出トランスポーターである Pgp、BCRP 及び BSEP 並びにヒト取り込みトランスポーターである OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対して、oveporexton が阻害作用示す及び oveporexton が基質となる可能性を評価した（2.6.5.15A 及び 2.6.5.15B、[redacted]）。ヒト OATP1B1 及び OATP1B3 を安定発現させた HEK293 細胞を oveporexton（1 μmol/L）とともにインキュベーションすることにより、oveporexton がトランスポーターの基質となる可能性を評価した。Oveporexton は OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。

Pgp 又は BCRP を遺伝子導入した MDCKII 細胞単層膜を oveporexton（0.14～100 μmol/L）とともにインキュベーションすることにより、また BSEP を過剰発現させた反転膜ベシクルを oveporexton（0.014～10 μmol/L）とともにインキュベーションすることにより、各トランスポーターに対する oveporexton の阻害作用を評価した。ヒト MATE1 及び MATE2-K を安定発現させた MDCKII 細胞を oveporexton（0.45 及び 4.5 μmol/L）とともにインキュベーションすることにより、またヒト OAT1、OAT3、OCT1 及び OCT2 を安定発現させた HEK293 細胞を oveporexton（1 及び 10 μmol/L）とともにインキュベーションすることにより、各トランスポーターに対する oveporexton の阻害作用を評価した。

Oveporexton は、100 μmol/L までの濃度で Pgp を介したジゴキシンの輸送及び BCRP を介したプラゾシンの輸送を阻害しなかった。Oveporexton は、BSEP を介したタウロコール酸の輸送を阻害し、IC_{50} は 7.225 μmol/L であった。また、oveporexton は 4.5 μmol/L までの濃

度で MATE1 及び MATE2-K を介したメトホルミンの取り込みを阻害しなかった。Oveporexton は 10 µmol/L までの濃度で、OAT1 を介したテノホビルの取り込み、OAT3 を介した estrone-3-sulfate の取り込み、OCT1 を介したスマトリプタンの取り込み及び OCT2 を介したメトホルミンの取り込みを阻害しなかった。

その後、ヒト ABC（排出）トランスポーターを過剰発現させた細胞から調製した反転膜ベシクルを用いて、ABC（排出）トランスポーター（ヒト MDR3、MRP2、MRP3 及び MRP4）に対する oveporexton の阻害作用を評価した（2.6.5.15C、[redacted]）。

Abcb1KO-MDCKII-MDR3 単層膜を用いた評価において、ジゴキシンの輸送に対する oveporexton（0.14～100 µmol/L：7 濃度）の阻害作用を評価した。Oveporexton は、Abcb1KO-MDCKII-MDR3 単層膜を介したジゴキシンの輸送を濃度依存的に阻害し、最大阻害率は 100 µmol/L で 55%であった。ジゴキシンの排出活性及び低膜透過マーカーの透過量から、この試験系が適切に機能していることが示されたが、本試験では IC_{50} を算出することができなかった。

さらに、ベシクルを用いた in vitro 輸送アッセイにおいて、oveporexton は 100 µmol/L までの濃度で MRP2 を介した $E_2$17βG の輸送を阻害しないことが示された（阻害率は 20%未満）。

本試験において、oveporexton は、MRP3 を介した $E_2$17βG の輸送を阻害し（最大阻害率は 100 µmol/L で 50%）、IC_{50} は 90.47 µmol/L と算出された。Oveporexton は、MRP4 を介した dehydroepiandrosterone の輸送も阻害し（最大阻害率は 100 µmol/L で 67%）、IC_{50} は 59.18 µmol/L と算出された（bottom constraint=0 を適用）。

2.6.4.7.5 OATP1B1 及び OATP1B3 との in vitro 相互作用試験

添付資料番号：4.2.2.6-5（評価）

OATP1B1 及び OATP1B3 を発現させた HEK293 細胞を用いて、典型的基質の取り込みに対する oveporexton の阻害作用を評価した（2.6.5.15D、[redacted]）。Oveporexton（0.3～100 µmol/L）は、OATP1B1 及び OATP1B3 を介した典型的基質の輸送を阻害し、IC_{50} は、それぞれ 0.910 及び 37.7 µmol/L であった。また、30 分間プレインキュベーションしたときも、oveporexton は OATP1B1 及び OATP1B3 を介した典型的基質の輸送を阻害し、IC_{50} は、それぞれ 0.372 及び 18.0 µmol/L であった。

以上より、oveporexton は in vitro において MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3、OCT1 及び OCT2 を阻害しないが、BSEP、OATP1B1 及び OATP1B3 を阻害する可能性があることが示された。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

その他の oveporexton の薬物動態試験は実施していない。

2.6.4.9 考察及び結論

In vitro 試験並びにマウス、ラット及びサルを用いた経口又は静脈内投与試験において、oveporexton の薬物動態特性を評価した。ラット及びサルに oveporexton を単回経口投与したとき、oveporexton は速やかに吸収され、oveporexton の曝露量は、ラットでは用量比を上回

って増加したが、サルでは用量に比例して増加した。ラットに経口投与時の oveporexton のバイオアベイラビリティ（320.2%）については、経口投与時の曝露量が用量比を上回る増加を示したことから過大評価されていると考えられたため、解釈には注意が必要である。サルにおけるバイオアベイラビリティは 32.3%であった。[^{14}C]oveporexton は Caco-2 細胞単層膜試験において高い透過性を示し、ラット及びサルにおいて認められた高い吸収率と一致する結果であった。

分布試験において、[^{14}C]oveporexton 関連物質は、有色 LE ラット及び非有色 SD ラットの組織に広く分布した。[^{14}C]oveporexton 関連物質の曝露量が最も大きかった（AUC_{all} が 3,000 h*μg equiv/g 超）組織は、副腎皮質、副腎及び肝臓であった。[^{14}C]oveporexton 関連物質の曝露量が小さかった（AUC_{all} が 100 h*μg equiv/g 未満）組織は、脊髄、脳（小脳、大脳及び髄質）、水晶体及び骨であり、また、メラニンへの結合を示す所見は認められなかった。授乳中及び妊娠中のいずれのラットでも、血漿中及び乳汁中の主な構成成分は[^{14}C]oveporexton であった。授乳中のラットで、血漿中及び乳汁中に代謝物は検出されなかった。妊娠中のラットで、血漿中で検出された代謝物は M5 及び M6 のみであった（TRA に占める割合は 7.6%）。胎児の血漿中で代謝物は検出されなかった。羊膜、羊水、胎児血液、胎児組織及び胎盤に[^{14}C]oveporexton 関連物質が認められた。以上より、[^{14}C]oveporexton 関連物質は、妊娠中のラットの胎盤を通過して胎児に移行し、また授乳中のラットの乳汁にも分泌されることが示唆された。

In vitro 試験において、[^{3}H]oveporexton の血漿タンパク結合率は 95.5%～97.8%（ラット）、97.2%～97.5%（サル）及び 96.2%～96.4%（ヒト）であった。[^{14}C]oveporexton はヒト血漿中で HSA 及び AGP のいずれにも結合した。[^{14}C]oveporexton の in vitro での血液／血漿中濃度比は 0.698～0.802 であったことから、ラット、サル及びヒトの血球への[^{14}C]oveporexton の分布は小さいことが示唆された。

マウス、ラット及びサルに[^{14}C]oveporexton を経口投与したとき、血漿、尿、糞及び胆汁中に 44 の代謝物が検出された。Oveporexton は、脱フッ素を伴う酸化及び伴わない酸化、それに続くグルクロン酸抱合、酸化を伴う硫酸抱合、酸化的脱フッ素化（又は更なる酸化）に続くグルタチオン関連抱合、並びに未同定の代謝経路により広範な代謝を受けることが確認された。グルタチオン関連の代謝物は、トリフルオロビフェニル基のエポキシ化により生成すると考えられた。マウス、ラット、サル及びヒトの肝細胞において、ヒトに特異的な代謝物は認められなかった。In vitro 及び in vivo のいずれにおいても、脱フッ素化経路により生成する代謝物の割合は、サルよりもげっ歯類で多かった。

ヒト肝細胞において、oveporexton の代謝に対する CYP の寄与率は 100%であった。CYP 発現ミクロソームを用いた試験では、RAF 算出法に基づき、代謝に関与する主な分子種は CYP3A4 であり（97.3%）、CYP2C9 及び 2D6 の関与は小さかった（それぞれ 2.6%及び 0.1%）。

4 つの試験で、[^{14}C]oveporexton（10 μmol/L）をヒト肝細胞とインキュベーションしたときの共有結合量は 122.5～223.4 pmol equivalent/mg protein（2 時間インキュベーション）であった。第 3 相試験で評価した oveporexton の 1 日最大投与量 4 mg/日に基づき、1 日あたりの共有結合量は 0.211～0.566 mg/日と算出された。以上より、oveporexton の 1 日あたりの共有結合量は [redacted] mg/日の閾値を下回ったことから、oveporexton は免疫介在性 DILI のリスクが大き

く軽減されていると考えられた（[redacted]）。免疫介在性 DILI のリスクは低かったが、代謝活性化の機序及び関与する酵素を評価した。HLM 及び CYP 発現ミクロソームを用いた複数の試験から、oveporexton の代謝活性化は主にエポキシ化反応によって引き起こされ、反応性代謝物であるエポキシドはグルタチオンによって捕捉される可能性があること及び共有結合形成に関与する主な CYP は CYP3A4 であることが示された。肝臓への影響についての更なる探索的な毒性評価を 2.6.6 に、臨床安全性情報を 2.7.4 に示した。

排泄試験において、雄のマウス、ラット及びサルに非絶食下で[^{14}C]oveporexton を単回経口投与したとき、[^{14}C]oveporexton 関連物質は主に胆汁を介して糞中に排泄されることが示された。尿中に認められた[^{14}C]oveporexton 関連物質はごくわずかであった。

In vitro において、oveporexton は、取り込みトランスポーターOATP1B1 及び OATP1B3、並びに排出トランスポーターBSEP（ヒト）を阻害し、IC_{50} は、それぞれ 0.910、37.7 及び 7.225 µmol/L であった。また、oveporexton は、排出トランスポーターMRP3（IC_{50}：90.47 µmol/L）、MRP4（IC_{50}：59.18 µmol/L）及び MDR3（IC_{50} は算出不能）も阻害した。Oveporexton は Pgp 及び BCRP を阻害せず（100 µmol/L まで）、また OAT1、OAT3、OCT1 又は OCT2（10 µmol/L まで）、MATE1 及び MATE2-K（4.5 µmol/L まで）、並びに MRP2（100 µmol/L まで）も阻害しなかった。Oveporexton は Pgp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。

ヒト肝細胞を用いた in vitro 誘導試験において、oveporexton は CYP1A2、2B6、2C8、2C9 及び 3A4 に対する誘導作用を示した。また、HLM において、oveporexton は CYP2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4/5（ミダゾラム 1'-水酸化）に対する直接的な阻害作用を示した。HLM を用いた評価において、CYP3A4/5 活性の時間依存的な低下が認められた。

In vitro での DDI パラメータ、oveporexton 2 mg を 3 時間間隔で 1 日 2 回投与後の oveporexton の定常状態における曝露量の予測値、及び ICH M12 DDI ガイドラインに記載されている基本モデルに基づき、oveporexton を介した DDI リスクとして、CYP3A4/5 に対する誘導作用及び時間依存的阻害作用を示す可能性が示された。また、oveporexton の代謝には CYP3A4 が大きく関与していることから、oveporexton は CYP3A4/5 阻害剤及び誘導剤との併用により DDI を受けるリスクがある。したがって、これらのリスクを、生理学的薬物速度論モデル及び臨床試験において更に評価した（2.7.2）。CYP3A4/5 を除き、oveporexton が直接的な CYP 阻害作用又は誘導作用により DDI を引き起こすリスクはないと考えられた。また、トランスポーターを介して oveporexton が DDI を受けるリスク又は DDI を引き起こすリスクもないと考えられた。

2.6.4.10 参考文献一覧

Liu, W., Zeng, X., Liu, Y., Liu, J., Li, C., Chen, L., et al. 2021. The immunological mechanisms and immune-based biomarkers of drug-induced liver injury. *Front Pharmacol,* 12, 723940.（添付なし）

[redacted]

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 2
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 2
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 7
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 9
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 12
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 13
2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合 22
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 23
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 24
2.6.5.9 薬物動態試験：In vivo における代謝 25
2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝 33
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 41
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害 45
2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄 48
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 52
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 53
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 57

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

Test Article: Oveporexton, [^{14}C]Oveporexton, [^{3}H]Oveporexton

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Report	添付資料番号	区分
Absorption						
Permeability	Caco-2 cell monolayers	In vitro	(Japan)		4.2.2.2-1	評価
Absorption	Male rat, Sprague Dawley	PO and IV	(Japan)		4.2.2.2-2	参考
Absorption	Male monkey, Cynomolgus	PO and IV	(Japan)		4.2.2.2-3	参考
Absorption	Male mouse, CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	PO	(Japan)		4.2.2.2-4	評価
Absorption	Male rat, Sprague Dawley	PO	(Japan)		4.2.2.2-5	評価
Absorption	Male monkey, Cynomolgus	PO	(Japan)		4.2.2.2-6	評価
Distribution						
Tissue distribution	Male rat, Long-Evans and Sprague Dawley	PO	(USA)		4.2.2.3-1	参考
Plasma protein binding	Rat, monkey, and human plasma	In vitro	(Japan)		4.2.2.3-2	評価
Plasma protein binding	HSA, AGP, and HLM	In vitro	(Japan)	and	4.2.2.3-3	評価
RBC partitioning	Rat, monkey, and human RBCs	In vitro	(Japan)		4.2.2.3-4	評価

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Oveporexton, [^{14}C]Oveporexton, [^{3}H]Oveporexton

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Report	添付資料番号	区分
Lacteal secretion and feto-placental transfer	Lactating or pregnant female rat, albino Sprague Dawley	PO	[redacted] ([redacted] USA)	[redacted]	4.2.2.3-5	参考
Metabolism						
CYP profiling	Human CYP-expressing microsomes	In vitro	[redacted] (Japan)	[redacted]	4.2.2.4-1	評価
CYP profiling	Human CYP-expressing microsomes	In vitro	Takeda Development Center Americas, Inc. (Cambridge, MA, USA)	[redacted]	4.2.2.4-2	参考
Metabolic stability	Rat, monkey, and human hepatocytes	In vitro	[redacted] (Japan)	[redacted]	4.2.2.4-3	評価
Metabolite profiling	Mouse, rat, monkey, and human hepatocytes	In vitro	[redacted] (Japan)	[redacted]	4.2.2.4-4	評価
Metabolite profiling and identification in plasma, urine, and feces	Male mouse, CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	PO	[redacted] (Japan)	[redacted]	4.2.2.4-5	評価
Metabolite profiling and identification in bile	Male mouse, CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	PO	[redacted] (Japan)	[redacted]	4.2.2.4-6	評価
Metabolite profiling and identification in plasma, bile, urine, and feces	Male rat, Sprague Dawley	PO	[redacted] (Japan)	[redacted]	4.2.2.4-7	評価
Metabolite profiling and identification in plasma, urine, and feces	Male monkey, Cynomolgus	PO	[redacted] (Japan)	[redacted]	4.2.2.4-8	評価
Metabolite profiling	Male mouse, CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt); Male rat, Sprague Dawley; Male monkey, Cynomolgus	PO	[redacted] (Japan)	[redacted]	4.2.2.4-9	評価

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Oveporexton, [^{14}C]Oveporexton, [^{3}H]Oveporexton

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Report	添付資料番号	区分
Metabolite profiling in bile	Male mouse, CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt); Male rat, Sprague Dawley	PO	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.4-10	参考
Metabolite profiling in plasma and milk	Lactating or pregnant female rat, albino Sprague Dawley	PO	Takeda Development Center Americas, Inc. (Cambridge, MA, USA)	[redacted]	4.2.2.4-11	参考
Metabolite profiling and identification in plasma and urine	Healthy adult subjects	PO	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.4-12	参考
CVB of [^{14}C]oveporexton	Mouse, rat, monkey, and human liver microsomes	In vitro	Takeda Development Center Americas, Inc. (Cambridge, MA, USA)	[redacted]	4.2.2.4-13	参考
CVB of [^{14}C]oveporexton	HLM	In vitro	Takeda Development Center Americas, Inc. (Cambridge, MA, USA)	[redacted]	4.2.2.4-14	参考
CVB of [^{14}C]oveporexton	Human hepatocytes	In vitro	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.4-15	参考
CVB of [^{14}C]oveporexton	Human hepatocytes	In vitro	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.4-16	参考
CVB of [^{14}C]oveporexton	Human hepatocytes	In vitro	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.4-17	参考
Excretion						
Excretion (urine and feces)	Male mouse, CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	PO	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.2-4	評価
Excretion (bile, urine, feces)	Male mouse, CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	PO	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.5-1	評価

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Oveporexton, [^{14}C]Oveporexton, [^{3}H]Oveporexton

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Report	添付資料番号	区分
Excretion (bile, urine, feces)	Male rat, Sprague Dawley	PO	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.2-5	評価
Excretion (urine and feces)	Male monkey, Cynomolgus	PO	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.2-6	評価
Pharmacokinetics Drug-Drug Interactions						
CYP induction	Human hepatocytes (3 donors)	In vitro	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.6-1	評価
CYP inhibition	HLM	In vitro	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.6-2	評価
CYP3A4/5 inhibition	HLM	In vitro	[redacted] USA)	[redacted]	4.2.2.6-3	参考
Transporter inhibition and substrate	Human BCRP- and Pgp-transfected MDCKII cell monolayers, inside-out membrane vesicles overexpressing human BSEP prepared in HEK293 cells, MDCKII cells stably expressing human MATE1 and MATE2-K, HEK293 cells stably expressing OAT1, OAT3, OCT1, and OCT2, OATP1B1, and OATP1B3	In vitro	[redacted] Hungary)	[redacted]	4.2.2.6-4	参考
Transporter inhibition	HEK293 cells stably expressing human OATP1B1 and OATP1B3	In vitro	[redacted] Japan)	[redacted]	4.2.2.6-5	評価
Transporter inhibition	MDR3 transfected MDCKII cell monolayers, inside-out membrane vesicles overexpressing human MRP2, MRP3, and MRP4 prepared in HEK293 cells.	In vitro	[redacted] Hungary)	[redacted]	4.2.2.6-6	参考

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Oveporexton, [^{14}C]Oveporexton, [^{3}H]Oveporexton

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Report	添付資料番号	区分
Others						
None						

AGP: alpha(1)-acid glycoprotein; BCRP: breast cancer resistance protein; BSEP: bile salt export pump; CVB: covalent binding; CYP: cytochrome P450; HEK: human embryonic kidney; HLM: human liver microsomes; HSA: human serum albumin; IV: intravenous(ly); MATE: multidrug and toxin extrusion; MDCK: Madin-Darby canine kidney; MDR: multidrug resistance protein; MRP: multidrug resistance associated protein; OAT: organic anion transporter; OATP: organic anion transporting polypeptide; OCT: organic cation transporter; Pgp: P-glycoprotein; PO: oral(ly); RBC: red blood cell.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2A 分析方法及びバリデーション試験

Test Article: Oveporexton

Species (Strain)	Method	Analyte	Matrix	Sample Volume (µL)	Linear Range (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	Within-Run Accuracy (%)	Within-Run Precision (%CV)	Report	添付資料番号	区分
Mouse (BALB/cByJJcl)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	10	1 to 2000	1	100.0 to 107.5	2.5 to 5.4	[redacted]	4.2.2.1-2	評価
Mouse (CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	10	NR	1	98.1 to 118.0	3.8 to 6.0	[redacted]	4.2.2.1-2	評価
Mouse (BALB/cByJJcl)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	10	1 to 1000	1	91.4 to 102.7	0.8 to 4.9	[redacted]	4.2.2.1-3	評価
Mouse (CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	10	NR	1	96.3 to 107.7	1.2 to 5.9	[redacted]	4.2.2.1-3	評価
Mouse (BALB/cByJJcl)	LC/MS/MS	M4	Plasma	10	1 to 1000	1	99.0 to 99.9	1.3 to 7.1	[redacted]	4.2.2.1-3	評価
Mouse (CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	LC/MS/MS	M4	Plasma	10	NR	1	95.0 to 100.4	1.7 to 3.8	[redacted]	4.2.2.1-3	評価
Rat (Sprague Dawley)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	10	1 to 2000	1	93.7 to 98.9	1.8 to 8.9	[redacted]	4.2.2.1-4	評価
Rat (Sprague Dawley)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	10	1 to 1000	1	92.9 to 105.6	2.4 to 4.0	[redacted]	4.2.2.1-5	評価
Rat (Sprague Dawley)	LC/MS/MS	M4	Plasma	10	1 to 1000	1	96.3 to 103.0	0.9 to 8.7	[redacted]	4.2.2.1-5	評価
Rat (Lister Hooded)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	10	1 to 1000	NR	88.8 to 98.0	2.0 to 4.2	[redacted]	4.2.2.1-6	評価
Rat (Lister Hooded)	LC/MS/MS	M4	Plasma	10	1 to 1000	NR	95.7 to 99.8	1.1 to 4.5	[redacted]	4.2.2.1-6	評価
Rabbit (New Zealand White)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	10	1 to 1000	1	94.9 to 101.0	0.7 to 3.7	[redacted]	4.2.2.1-7	評価
Rabbit (New Zealand White)	LC/MS/MS	M4	Plasma	10	1 to 1000	1	97.2 to 103.1	1.0 to 5.0	[redacted]	4.2.2.1-7	評価
Rabbit (New Zealand White)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	10	1 to 2000	1	99.4 to 103.1	2.0 to 9.8	[redacted]	4.2.2.1-8	評価
Monkey (Cynomolgous)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	10	1 to 2000	1	93.7 to 99.1	2.0 to 3.9	[redacted]	4.2.2.1-9	評価

%CV: percent coefficient of variation; LC/MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LLOQ: lower limit of quantification; M4: oveporexton metabolite M4; NR: not reported.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2B 分析方法及びバリデーション試験

Test Article: Oveporexton

Species (Strain)	Method	Analyte	Matrix	Matrix Effect Precision (%)	Carry Over (LLOQ/IS)	Freeze-Thaw	Short/Long Term Stability	Recovery QC Samples (%)	Report	添付資料番号	区分
Mouse (BALB/cByJJcl)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	5.5 to 7.0	≤20%/≤5.0%	6 cycles [a]	18 h RT/122 D	96.2 to 107.9	[redacted]	4.2.2.1-2	評価
Mouse (CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	2.2 to 2.9	≤20%/≤5.0%	NR	16 h RT/NR	NR	[redacted]	4.2.2.1-2	評価
Mouse (BALB/cByJJcl)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	2.9 to 3.7	≤20%/≤5.0%	6 cycles [a]	21 h RT/125 D	94.8 to 97.3	[redacted]	4.2.2.1-3	評価
Mouse (CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	2.8 to 3.0	NR	NR	22 h RT/NR	NR	[redacted]	4.2.2.1-3	評価
Mouse (BALB/cByJJcl)	LC/MS/MS	M4	Plasma	1.5 to 2.6	NR	NR	NR	93.8 to 97.6	[redacted]	4.2.2.1-3	評価
Mouse (CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)	LC/MS/MS	M4	Plasma	1.0 to 1.9	NR	NR	NR	NR	[redacted]	4.2.2.1-3	評価
Rat (Sprague Dawley)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	1.9 to 2.9	≤20%/≤5.0%	6 cycles [a]	14 h RT/122 D	98.7 to 101.9	[redacted]	4.2.2.1-4	評価
Rat (Sprague Dawley)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	3.5 to 4.0	≤20%/≤5.0%	6 cycles [a]	19 h RT/122 D	94.8 to 96.4	[redacted]	4.2.2.1-5	評価
Rat (Sprague Dawley)	LC/MS/MS	M4	Plasma	4.9 to 5.0	NR	NR	NR	91.2 to 102.6	[redacted]	4.2.2.1-5	評価
Rat (Lister Hooded)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	1.2 to 5.3	NR	NR	24 h RT/NR	NR	[redacted]	4.2.2.1-6	評価
Rat (Lister Hooded)	LC/MS/MS	M4	Plasma	2.7 to 5.7	NR	NR	NR	NR	[redacted]	4.2.2.1-6	評価
Rabbit (New Zealand White)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	2.0 to 2.2	≤20%/≤5.0%	6 cycles [a]	20 h RT/273 D	94.4 to 98.9	[redacted]	4.2.2.1-7	評価
Rabbit (New Zealand White)	LC/MS/MS	M4	Plasma	1.0 to 2.7	NR	NR	NR	92.7 to 97.9	[redacted]	4.2.2.1-7	評価
Rabbit (New Zealand White)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	2.7 to 6.4	≤20%/≤5.0%	6 cycles [a]	15 h RT/121 D	95.0 to 104.3	[redacted]	4.2.2.1-8	評価
Monkey (Cynomolgus)	LC/MS/MS	Oveporexton	Plasma	3.0 to 4.1	≤20%/≤5.0%	6 cycles [a]	18 h RT/122 D	101.4 to 106.0	[redacted]	4.2.2.1-9	評価

D: days; IS: internal standard; LC/MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LLOQ: lower limit of quantification; M4: oveporexton metabolite M4; NR: not reported; QC: quality control; RT: room temperature.

[a] Freeze thaw for 6 cycles at –30°C to –15°C/room temperature and –70°C or below/room temperature.

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

2.6.5.3A 薬物動態試験：単回投与後の吸収

Test Article: Oveporexton

Report:	[redacted]			[redacted]		
添付資料番号	4.2.2.2-2			4.2.2.2-3		
Species:	Rat			Monkey		
Sex (M/F)/Number of Animals:	M/3 [a]			M/3 [b]		
Feeding Condition:	Fed			Fed		
Vehicle/Formulation:	DMA/1,3-butanediol (1:1, v/v)	0.5% (w/v) MC solution		DMA/1,3-butanediol (1:1, v/v)	0.5% (w/v) MC solution	
Method of Administration:	IV	PO		IV	PO	
Dose (mg/kg):	1	10	30	0.3	1	3
Sample:	Plasma			Plasma		
Analyte:	Oveporexton			Oveporexton		
Assay:	LC/MS/MS			LC/MS/MS		
PK Parameters:						
AUC_{24} (h*ng/mL)	481 ± 63	15,400 ± 2100	70,400 ± 12,300	1200 ± 270	1270 ± 110	4080 ± 520
AUC_{∞} (h*ng/mL)	481 ±63	14,400 ± 2800	70,800 ±12,400	1220 ± 280	1290 ± 120	4300 ± 710
Bioavailability (%)	-	320.2 [c]	-	-	32.3 ± 4.7	-
CL (mL/h/kg)	2100 ± 280	-	-	253 ± 51	-	-
C_{max} (ng/mL)	596 ± 43 [d]	1760 ± 120	5290 ± 850	338 ± 40 [d]	104 ± 10	379 ± 30
$t_{1/2}$ (h)	0.7 ± 0.2	3.4 ± 1.0	3.2 ± 0.1	3.5 ± 0.6	4.3 ± 0.2	5.4 ± 2.0
t_{max} (h)	-	2.0 ± 0.0	3.3 ± 1.2	-	2.7 ± 1.3	2.0 ± 0.0
V_{ss} (mL/kg)	1820 ± 20	-	-	1140 ± 60	-	-

AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{∞}: area under the concentration-time curve from time 0 to infinity; CL: clearance; C_{max}: maximum observed concentration; DMA: N, N-dimethylacetamide; F: female(s); IV: intravenous(ly); LC/MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M: male(s); MC: methylcellulose; PK: pharmacokinetic(s); PO: oral(ly); SD: standard deviation; $t_{1/2}$: half-life; t_{max}: time of first occurrence of C_{max}; V_{ss}: volume of distribution at steady state; v/v: volume per volume; w/v: weight per volume.

Data presented as mean ± SD.

[a] The number shown represents the animals used per group.

[b] The same animals were used for each dose and route of administration with a ≥7-day washout period between doses.

[c] Because of the nonlinear PK in rats after PO administration, the absolute bioavailability in rats was considered to be overestimated.

[d] C_{5min} is shown for IV administration groups.

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収（続き）

2.6.5.3B 薬物動態試験：単回投与後の吸収

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report:	[redacted]		[redacted]		[redacted]	
添付資料番号	4.2.2.2-4		4.2.2.2-5		4.2.2.2-6	
Species:	Mouse		Rat		Monkey	
Sex (M/F)/Number of Animals:	M/3 [a]		M/3 [a]		M/3 [a]	
Feeding Condition:	Fed		Fed		Fed	
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution		0.5% (w/v) MC solution		0.5% (w/v) MC solution	
Method of Administration:	PO		PO		PO	
Dose (mg/kg [MBq/kg]):	15 (7.37)		100 (3.72)		100 (2.98)	
Specific Radioactivity (MBq/mg):	3.92		3.92		3.92	
Sample:	Blood	Plasma	Blood	Plasma	Blood	Plasma
Analyte:	TRA		TRA		TRA	
Assay:	LSC		LSC		LSC	
PK Parameters:						
C_{max} (µg equiv/mL)	2.76	3.80	12.0	16.3	15.3	21.4
t_{max} (h)	2.0	2.0	2.0	1.0	6.7	6.7
$t_{1/2}$ (h)	3.3	2.3	8.6	5.6	18.9	21.1
Time for $t_{1/2}$ Calculation (h)	2-24	2-24	8-72	8-48	0-120	0-120
AUC_t (h*µg equiv/mL)	19.6	28.8	230	294	393	549
Time for AUC Calculation (h)	0-24	0-24	0-72	0-48	0-120	0-120
AUC_∞ (h*µg equiv/mL)	19.7	28.8	231	295	402	565
Blood-to-Plasma AUC Ratio	0.681 [b]		0.781 [c]		0.716 [d]	

AUC: area under the concentration-time curve; AUC_t: area under the concentration-time curve from time 0 to time t; AUC_∞: area under the concentration-time curve from time 0 to infinity; C_{max}: maximum observed concentration; equiv: equivalents; F: female(s); LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; PK: pharmacokinetic(s); PO: oral(ly); $t_{1/2}$: half-life; t_{max}: time of first occurrence of C_{max}; TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

The mean value of 3 animals is presented for the PK parameters.

[a] The number shown represents the animals used per group or cohort.

[b] The blood-to-plasma AUC ratio was calculated as AUC_{24} (blood)/AUC_{24} (plasma).

[c] The blood-to-plasma AUC ratio was calculated as AUC_{72} (blood)/AUC_{48} (plasma).

[d] The blood-to-plasma AUC ratio was calculated as AUC_{120} (blood)/AUC_{120} (plasma).

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収（続き）

2.6.5.3C 薬物動態試験：In vitro 膜透過性試験

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.2-1

Study System:	Caco-2 cell monolayers incubated for 2 hours at 37°C. The transport mechanisms of oveporexton were evaluated in both the A-to-B and B-to-A directions using Caco-2 cell monolayer system in the absence or presence of efflux pump inhibitors quinidine (for Pgp), Ko143 (for BCRP), and GF120918 (for Pgp and BCRP).
Initial Concentration:	0.1, 1, and 10 µmol/L
Assay:	LSC

Compound	P_{app}, A-to-B × 10^{-6} (cm/sec)	P_{app}, B-to-A × 10^{-6} (cm/sec)	P_{app} Ratio
[^{14}C]Oveporexton (0.1 µmol/L)	19.7	33.0	1.7
[^{14}C]Oveporexton (1 µmol/L)	18.0	28.7	1.6
[^{14}C]Oveporexton (10 µmol/L)	22.2	29.4	1.3
[^{14}C]Oveporexton (1 µmol/L) [a]	12.9	16.5	1.3
[^{3}H]digoxin (3 µmol/L)	0.535	11.6	21.7
[^{3}H]E3S (0.1 µmol/L)	1.85	28.7	15.5

Compound	P_{app}, A-to-B × 10^{-6} (cm/sec)	P_{app}, B-to-A × 10^{-6} (cm/sec)	P_{app} Ratio
[^{14}C]Oveporexton (1 µmol/L)	17.0 ± 1.6	27.8 ± 0.9	1.6
[^{14}C]Oveporexton (1 µmol/L) + quinidine (30 µmol/L)	24.5 ± 0.8	21.4 ± 2.1	0.9
[^{14}C]Oveporexton (1 µmol/L) + Ko143 (0.3 µmol/L)	17.3 ± 1.1	24.1 ± 0.9	1.4
[^{14}C]Oveporexton (1 µmol/L) + GF120918 (10 µmol/L)	23.2 ± 0.7	21.1 ± 2.2	0.9
[^{3}H]digoxin (3 µmol/L)	0.855 ± 0.119	12.8 ± 0.7	15.0
[^{3}H]E3S (0.1 µmol/L)	1.64 ± 0.25	23.7 ± 1.2	14.5
[^{3}H]atenolol (10 µmol/L)	0.492 ± 0.022	0.633 ± 0.027	1.3
[^{3}H]propranolol (10 µmol/L)	24.5 ± 0.6	28.2 ± 0.9	1.2
[^{3}H]minoxidil (10 µmol/L)	5.41 ± 0.09	5.57 ± 0.17	1.0

A-to-B: apical-to-basolateral; B-to-A: basolateral-to-apical; BCRP: breast cancer resistance protein; BSA: bovine serum albumin; E3S: estrone-3-sulfate; LSC: liquid scintillation counting; P_{app}: apparent permeability; Pgp: P-glycoprotein; SD: standard deviation.

Data presented as mean (N=2) or mean ± SD (N=3).

[a] Caco-2 cell monolayers were incubated in the presence of 1% BSA.

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

反復投与後の吸収を評価した試験は実施していない。

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5A 薬物動態試験：臓器分布

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

	Report: [redacted]
	添付資料番号: 4.2.2.3-1
Species (Strain):	Rat (Long-Evans and Sprague Dawley)
Sex (M/F)/Number of Animals:	M/1 per timepoint
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution
Method of Administration:	PO
Dose (mg/kg [µCi/kg]):	100 (~200)
Specific Activity (µCi/mg):	107.5
Analyte:	TRA
Assay:	QWBA (tissue); LSC (blood and plasma)
Sampling Time:	0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 168, and 336 hours (Long-Evans); 2, 4, 24, and 168 hours (Sprague Dawley)

Tissues/Organs		Concentration (µg equiv/g) for Tissue or (µg equiv/mL) for Blood or Plasma										
Tissue Type	Tissues/Organs	0.5 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	96 h	168 h	336 h
Long-Evans												
NA	Blood	2.280	9.325	11.681	10.197	7.042	0.436	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
NA	Plasma	3.960	14.322	16.124	13.057	9.786	0.459	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Vascular/ lymphatic	Blood (cardiac)	2.916	7.722	9.842	8.646	7.532	0.738	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Bone marrow	3.154	16.663	20.911	26.585	14.781	0.379	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Lymph node	2.859	16.249	33.774	24.716	16.160	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Spleen	3.867	19.665	20.225	25.739	14.820	0.311	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Thymus	2.729	16.168	18.305	20.223	14.298	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

2.6.5.5A 薬物動態試験：臓器分布（続き）

Tissues/Organs		Concentration (µg equiv/g) for Tissue or (µg equiv/mL) for Blood or Plasma										
Tissue Type	Tissues/Organs	0.5 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	96 h	168 h	336 h
Excretory/ metabolic	Bile (in duct)	3407.36	1396.73	297.199	341.484	541.116	85.789	13.815	4.081	1.188	BQL	BQL
	Kidney (cortex)	10.744	37.623	45.557	56.109	35.531	2.319	1.159	0.984	0.560	0.322	BQL
	Kidney (inner medulla)	7.398	27.699	36.023	37.446	24.225	0.630	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Kidney (outer medulla)	9.525	37.899	45.940	50.743	32.959	2.111	1.222	1.022	0.662	0.290	BQL
	Liver	153.836	151.953	128.361	133.393	108.551	21.024	8.792	5.756	5.105	2.731	0.498
	Urinary bladder	1.662	8.872	14.203	14.558	4.071	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Central nervous system	Brain (cerebellum)	0.586	2.849	3.700	4.052	2.068	0.302	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Brain (cerebrum)	0.558	2.814	3.289	3.389	1.868	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Brain (medulla)	0.519	3.176	4.492	4.717	2.439	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Spinal cord	0.636	2.925	4.445	4.700	2.473	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Endocrine	Adrenal gland	22.171	67.576	101.658	116.974	81.523	23.432	14.968	10.674	8.413	6.338	2.185
	Adrenal gland (cortex)	22.773	68.869	111.701	124.009	86.599	25.858	16.125	11.673	9.149	6.501	2.305
	Adrenal gland (medulla)	14.781	59.403	67.226	98.418	58.658	12.669	7.384	6.603	5.699	4.667	1.610
	Pituitary gland	7.411	30.477	31.274	30.437	26.401	0.538	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Thyroid	9.378	33.844	35.873	38.693	21.889	0.353	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Secretory	Harderian gland	3.259	29.851	60.547	75.916	40.313	0.815	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Mammary gland region	0.800	11.778	37.024	56.543	28.072	0.423	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Pancreas	9.753	43.580	49.903	56.384	39.728	0.337	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Salivary gland	6.333	31.081	42.475	37.850	30.881	0.468	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Fatty	Adipose (brown)	1.269	20.206	57.369	64.247	33.061	0.324	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Adipose (white)	0.393	5.316	18.658	62.872	45.357	1.001	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Dermal	Skin (nonpigmented)	1.246	9.951	20.551	23.406	15.375	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Skin (pigmented)	1.533	9.062	13.254	16.836	10.084	0.313	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

2.6.5.5A 薬物動態試験：臓器分布（続き）

Tissues/Organs		Concentration (µg equiv/g) for Tissue or (µg equiv/mL) for Blood or Plasma										
Tissue Type	Tissues/Organs	0.5 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	96 h	168 h	336 h
Reproductive	Epididymis	0.917	4.482	11.480	25.593	12.922	0.469	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Prostate gland	1.614	13.338	16.045	21.666	9.351	0.281	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Seminal vesicles	1.078	3.589	7.501	13.440	5.758	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Testis	0.445	2.481	6.584	10.069	7.078	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Skeletal/ muscular	Bone	BQL	1.592	1.979	2.943	0.679	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Heart	9.018	33.448	40.883	34.096	28.023	0.493	0.271	BQL	BQL	BQL	BQL
	Skeletal muscle	3.286	13.016	27.027	24.967	17.030	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Respiratory	Lung	5.816	24.023	24.070	24.024	15.636	0.558	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Alimentary canal	Cecum	4.549	26.727	49.639	29.019	28.223	7.645	0.583	0.326	BQL	BQL	BQL
	Cecum (contents)	BQL	1.096	11.192	1599.982	1696.636	525.327	27.143	10.031	0.872	BQL	BQL
	Esophagus	4.450	15.792	20.684	16.177	10.339	0.377	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Large intestine	2.385	13.019	26.176	29.811	15.546	2.898	0.795	0.419	BQL	BQL	BQL
	Large intestine (contents)	0.391	6.175	8.273	45.234	5916.838	761.939	28.535	19.004	0.958	BQL	BQL
	Oral mucosa	2.860	9.395	17.140	11.860	7.974	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Small intestine	6.434	28.698	48.404	98.646	38.074	1.327	0.504	BQL	BQL	BQL	BQL
	Small intestine (contents)	9028.860	5990.022	5384.479	2396.915	1973.803	468.610	29.558	11.423	1.994	BQL	BQL
	Stomach (gastric mucosa)	28.802	38.622	40.755	43.637	31.975	1.825	1.200	1.039	0.546	0.543	0.443
	Stomach (contents)	6448.886	3698.955	3210.223	4136.260	1240.284	18.621	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Ocular	Eye (lens)	BQL	BQL	BQL	2.139	0.540	0.415	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Eye (uvea)	1.920	6.593	11.142	16.702	10.377	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Sprague Dawley												
NA	Blood	NA	NA	11.026	10.788	NA	1.069	NA	NA	NA	BQL	NA
NA	Plasma	NA	NA	15.733	13.658	NA	1.431	NA	NA	NA	BQL	NA

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

2.6.5.5A 薬物動態試験：臓器分布（続き）

Tissues/Organs		Concentration (µg equiv/g) for Tissue or (µg equiv/mL) for Blood or Plasma										
Tissue Type	Tissues/Organs	0.5 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	96 h	168 h	336 h
Vascular/ lymphatic	Blood (cardiac)	NA	NA	11.541	12.645	NA	0.910	NA	NA	NA	BQL	NA
	Bone marrow	NA	NA	26.163	31.334	NA	BQL	NA	NA	NA	BQL	NA
	Lymph node	NA	NA	27.528	29.653	NA	0.511	NA	NA	NA	BQL	NA
	Spleen	NA	NA	22.817	35.536	NA	0.498	NA	NA	NA	BQL	NA
	Thymus	NA	NA	23.467	29.536	NA	0.500	NA	NA	NA	BQL	NA
Excretory/ metabolic	Bile (in duct)	NA	NA	500.641	357.670	NA	90.987	NA	NA	NA	0.371	NA
	Kidney (cortex)	NA	NA	50.201	63.661	NA	2.400	NA	NA	NA	0.586	NA
	Kidney (inner medulla)	NA	NA	34.824	45.221	NA	0.654	NA	NA	NA	BQL	NA
	Kidney (outer medulla)	NA	NA	52.016	60.250	NA	1.486	NA	NA	NA	0.657	NA
	Liver	NA	NA	107.717	127.979	NA	21.761	NA	NA	NA	2.542	NA
	Urinary bladder	NA	NA	14.154	15.881	NA	0.380	NA	NA	NA	BQL	NA
	Urinary bladder (contents)	NA	NA	11.151	3.209	NA	3.750	NA	NA	NA	BQL	NA
Central nervous system	Brain (cerebellum)	NA	NA	5.135	5.647	NA	BQL	NA	NA	NA	BQL	NA
	Brain (cerebrum)	NA	NA	4.303	4.566	NA	BQL	NA	NA	NA	BQL	NA
	Brain (medulla)	NA	NA	5.687	6.576	NA	BQL	NA	NA	NA	BQL	NA
	Spinal cord	NA	NA	5.543	6.247	NA	BQL	NA	NA	NA	BQL	NA
Endocrine	Adrenal gland	NA	NA	123.221	131.763	NA	22.865	NA	NA	NA	7.221	NA
	Adrenal gland (cortex)	NA	NA	130.259	142.693	NA	23.672	NA	NA	NA	7.817	NA
	Adrenal gland (medulla)	NA	NA	83.177	84.947	NA	16.972	NA	NA	NA	2.978	NA
	Pituitary gland	NA	NA	43.677	54.662	NA	0.653	NA	NA	NA	BQL	NA
	Thyroid	NA	NA	55.371	52.902	NA	1.264	NA	NA	NA	BQL	NA

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

2.6.5.5A 薬物動態試験：臓器分布（続き）

Tissues/Organs		Concentration (µg equiv/g) for Tissue or (µg equiv/mL) for Blood or Plasma										
Tissue Type	Tissues/Organs	0.5 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	96 h	168 h	336 h
Secretory	Harderian gland	NA	NA	86.875	88.121	NA	1.337	NA	NA	NA	BQL	NA
	Mammary gland region	NA	NA	38.774	72.839	NA	0.718	NA	NA	NA	BQL	NA
	Pancreas	NA	NA	71.564	78.716	NA	1.199	NA	NA	NA	BQL	NA
	Salivary gland	NA	NA	57.223	64.852	NA	0.932	NA	NA	NA	BQL	NA
Fatty	Adipose (brown)	NA	NA	69.104	75.271	NA	1.008	NA	NA	NA	BQL	NA
	Adipose (white)	NA	NA	44.929	96.129	NA	2.555	NA	NA	NA	BQL	NA
Dermal	Skin	NA	NA	17.964	27.995	NA	0.291	NA	NA	NA	BQL	NA
Reproductive	Epididymis	NA	NA	18.981	29.336	NA	0.669	NA	NA	NA	BQL	NA
	Prostate gland	NA	NA	29.536	25.014	NA	0.794	NA	NA	NA	BQL	NA
	Seminal vesicles	NA	NA	9.505	19.066	NA	0.285	NA	NA	NA	BQL	NA
	Testis	NA	NA	9.404	16.232	NA	0.333	NA	NA	NA	BQL	NA
Skeletal/ muscular	Bone	NA	NA	2.370	1.406	NA	BQL	NA	NA	NA	BQL	NA
	Heart	NA	NA	45.523	50.631	NA	0.884	NA	NA	NA	BQL	NA
	Skeletal muscle	NA	NA	29.807	33.764	NA	0.287	NA	NA	NA	BQL	NA
Respiratory tract	Lung	NA	NA	36.131	38.155	NA	0.730	NA	NA	NA	BQL	NA
Alimentary canal	Cecum	NA	NA	36.999	37.545	NA	8.102	NA	NA	NA	BQL	NA
	Cecum (contents)	NA	NA	8.201	804.863	NA	661.996	NA	NA	NA	BQL	NA
	Esophagus	NA	NA	25.208	31.545	NA	0.802	NA	NA	NA	BQL	NA
	Large intestine	NA	NA	33.846	37.749	NA	0.586	NA	NA	NA	BQL	NA
	Large intestine (contents)	NA	NA	3.204	43.362	NA	2167.498	NA	NA	NA	0.364	NA
	Oral mucosa	NA	NA	18.019	21.675	NA	BQL	NA	NA	NA	BQL	NA
	Small intestine	NA	NA	72.770	79.969	NA	2.158	NA	NA	NA	BQL	NA
	Small intestine (contents)	NA	NA	8033.126	2049.383	NA	406.621	NA	NA	NA	BQL	NA
	Stomach (gastric mucosa)	NA	NA	53.344	61.398	NA	2.815	NA	NA	NA	1.349	NA
	Stomach (contents)	NA	NA	2018.854	3058.805	NA	122.542	NA	NA	NA	BQL	NA

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

2.6.5.5A 薬物動態試験：臓器分布（続き）

Tissues/Organs		Concentration (µg equiv/g) for Tissue or (µg equiv/mL) for Blood or Plasma										
Tissue Type	Tissues/Organs	0.5 h	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	96 h	168 h	336 h
Ocular	Eye (lens)	NA	NA	0.446	1.024	NA	0.480	NA	NA	NA	BQL	NA
	Eye (uvea)	NA	NA	23.230	15.406	NA	0.280	NA	NA	NA	BQL	NA

The blood-to-plasma ratio ranged from 0.576 (0.5 hours) to 0.950 (24 hours) in Long-Evans rats and from 0.701 (2 hours) to 0.790 (4 hours) in Sprague Dawley rats.

BQL: below the quantitation limit; equiv: equivalents; F: female(s); LLOQ: lower limit of quantification; LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; NA: not applicable; PO: oral(ly); QWBA: quantitative whole body autoradiography; TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

The LLOQ was 0.271 µg equiv/g tissue.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

2.6.5.5B 薬物動態試験：臓器分布

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

	Report: [redacted]
	添付資料番号: 4.2.2.3-1
Species (Strain):	Rat (Long-Evans and Sprague Dawley)
Sex (M/F)/Number of Animals:	M/1 per timepoint
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution
Method of Administration:	PO
Dose (mg/kg[µCi/kg]):	100 (~200)
Specific Activity (µCi/mg):	107.5
Analyte:	TRA
Assay:	QWBA (tissue); LSC (blood and plasma)
Sampling Time:	0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 168, and 336 hours (Long-Evans); 2, 4, 24, and 168 hours (Sprague Dawley)
PK Parameters:	

Tissues/Organs	C_{max} (µg equiv/g or mL)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{all} (h*µg equiv/g or mL)	AUC_{∞} (h*µg equiv/g or mL)
Long-Evans					
Blood	11.681	2	4.272	132.116	132.841
Plasma	16.124	2	3.979	179.676	180.245
Adipose (brown) [a]	64.247	4	ND	631.674	ND
Adipose (white) [a]	62.872	4	ND	694.377	ND
Adrenal (cortex) [b]	124.009	4	115.9	4065.811	4451.117
Adrenal (medulla)	98.418	4	132.6	2592.516	2900.586
Adrenal gland	116.974	4	118.5	3812.379	4185.895
Blood (cardiac)	9.842	2	5.4	138.031	134.879
Bone [a]	2.943	4	ND	19.782	ND
Bone marrow [a]	26.585	4	ND	280.586	ND
Brain (cerebellum) [a]	4.052	4	ND	46.856	ND
Brain (cerebrum) [a]	3.389	4	ND	36.170	ND
Brain (medulla) [a]	4.717	4	ND	47.921	ND

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

2.6.5.5B 薬物動態試験：臓器分布（続き）

Tissues/Organs	C_{max} (µg equiv/g or mL)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{all} (h*µg equiv/g or mL)	AUC_{∞} (h*µg equiv/g or mL)
Cecum	49.639	2	9.5	640.781	641.347
Epididymis [a]	25.593	4	ND	236.419	ND
Esophagus	20.684	2	3.6	204.556	201.981
Eye (lens) [a]	2.139	4	ND	20.117	ND
Eye (uvea) [a]	16.702	4	ND	176.494	ND
Harderian gland [a]	75.916	4	ND	762.016	ND
Heart [a]	40.883	2	5.9	489.802	488.853
Kidney (cortex)	56.109	4	63.3	788.894	791.257
Kidney (inner medulla) [a]	37.446	4	ND	445.696	ND
Kidney (outer medulla)	50.743	4	56.3	746.568	745.765
Large intestine	29.811	4	17.2	382.210	387.581
Liver	153.836	1	70.9	3253.337	3304.289
Lung	24.070	2	3.6	296.622	292.804
Lymph node [a]	33.774	2	ND	300.025	ND
Mammary gland region [a]	56.543	4	ND	523.579	ND
Oral mucosa [a]	17.140	2	ND	149.506	ND
Pancreas [a]	56.384	4	ND	685.588	ND
Pituitary gland	31.274	2	3.2	439.555	435.617
Prostate gland [a]	21.666	4	ND	199.006	ND
Salivary gland	42.475	2	3.0	521.910	518.314
Seminal vesicles [a]	13.440	4	ND	112.382	ND
Skeletal muscle [a]	27.027	2	ND	297.147	ND
Skin (nonpigmented) [a]	23.406	4	ND	262.881	ND
Skin (pigmented) [a]	16.836	4	ND	185.052	ND
Small intestine [a]	98.646	4	6.7	812.661	811.517
Spinal cord [a]	4.700	4	ND	48.009	ND
Spleen [a]	25.739	4	ND	278.657	ND
Stomach (gastric mucosa)	43.637	4	744.2	773.977	1249.615
Testis [a]	10.069	4	ND	112.946	ND
Thymus [a]	20.223	4	ND	244.597	ND
Thyroid [a]	38.693	4	ND	425.911	ND

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

2.6.5.5B 薬物動態試験：臓器分布（続き）

Tissues/Organs	C_{max} (µg equiv/g or mL)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{all} (h*µg equiv/g or mL)	AUC_{∞} (h*µg equiv/g or mL)
Urinary bladder [a]	14.558	4	ND	113.174	ND
Sprague Dawley					
Blood	11.026	2	ND	228.268	ND
Plasma	15.733	2	ND	299.046	ND

The tissue-to-blood (cardiac) AUC_{all} ratio ranged from 0.146 (eye [lens]) to 29.456 (adrenal [cortex]) in Long Evans rats. The blood-to-plasma AUC_{all} ratio was 0.735 in Long-Evans rats and 0.763 in Sprague Dawley rats.

AUC_{∞}: area under the concentration-time curve from time 0 to infinity; AUC_{all}: area under the concentration-time curve including all timepoints; C_{max}: maximum observed concentration; equiv: equivalents; F: female(s); LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; ND: not determined; PK: pharmacokinetic(s); PO: oral(ly); QWBA: quantitative whole body autoradiography; r^2: coefficient of determination; $t_{1/2}$: half-life; t_{max}: time of first occurrence of C_{max}; TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

[a] The $t_{1/2}$ and AUC_{∞} values for these tissues/organs were obtained from insufficient data points and/or the resulting r^2 values were outside of acceptance criteria (<0.85); thus, these values should be considered as estimates or ND.

[b] The highest exposure was observed with this tissue before weighting.

2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合

Test Article: [^{3}H]Oveporexton and [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted], [redacted] and [redacted]

添付資料番号：4.2.2.3-2、4.2.2.3-3

Study System: In vitro

Target Entity, Test System, and Method: The in vitro protein binding ratios of [^{3}H]oveporexton in the plasma of rats, monkeys, and humans, and the binding ratios of [^{14}C]oveporexton in HSA solution, AGP solution, and HLM were determined by equilibrium dialysis at 37°C for 8 hours. TRA was measured by LSC.

Assay: LSC

Matrix	Test Article	Concentration (μg/mL)	Plasma protein binding (%)	Plasma unbound fraction (%)	Report
Rat plasma	[^{3}H]Oveporexton	0.05	97.8	2.2	[redacted]
		0.5	97.5	2.5	
		5	95.5	4.5	
Monkey plasma		0.05	97.4	2.6	
		0.5	97.5	2.5	
		5	97.2	2.8	
Human plasma		0.05	96.3	3.7	
		0.5	96.4	3.6	
		5	96.2	3.8	
4% HSA solution	[^{14}C]Oveporexton	0.05	89.4	10.6	[redacted] and [redacted]
		0.5	89.8	10.2	
		5	89.2	10.8	
0.18% AGP solution		0.05	83.2	16.8	
		0.5	82.3	17.7	
		5	77.3	22.7	
4% HSA/0.18% AGP solution		0.05	95.8	4.2	
		0.5	96.0	4.0	
		5	95.5	4.5	
0.2 mg protein/mL HLM suspension		0.05	26.0	74.0	
		0.5	25.4	74.6	
		5	28.4	71.6	
1 mg protein/mL HLM suspension		0.05	68.6	31.4	
		0.5	67.9	32.1	
		5	66.8	33.2	

The mean values for triplicate assay are presented.

AGP: alpha(1)-acid glycoprotein; HLM: human liver microsomes; HSA: human serum albumin; LSC: liquid scintillation counting; TRA: total radioactivity.

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.3-5

Lacteal Secretion and Feto-Placental Transfer of [^{14}C]Oveporexton in Rats						
Species (Strain)/Sex:	Rat (albino Sprague Dawley)/Female					
Group (Day)/Number of Animals:	Pregnant (GD 19)/n = 14; Lactating (PND 2-4)/n = 10					
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution					
Method of Administration:	PO					
Dose (mg/kg [µCi/kg]):	100 (~200)					
Sample Collection Postdose (h):	0.25, 1, 8, 24, 48					
Analyte:	TRA					
Specific Activity (µCi/mg):	68.5					
Assay:	LSC or QWBA					
	Mean Radioactivity Concentrations (µg equivalents/mL or µg equivalents/g) [a]					
Sample Collection Postdose (h)	0.25	1	8	24	48	
Maternal plasma (PND 2-4) [b]	2.913	11.453	19.337	9.142	2.258	
Milk (PND 2-4) [b]	3.642	29.419	113.936	2.146	2.171	
Maternal blood (GD 19) [c]	0.737	10.076	11.792	7.763	0.616	
Fetal blood [c]	BQL	3.224	3.230	3.257	0.250	
Amnion [c]	0.557	20.032	24.264	15.030	1.615	
Amniotic fluid [c]	0.228	0.638	1.275	1.627	BQL	
Placenta [c]	0.551	21.502	25.600	15.435	0.750	

BQL: below the quantitation limit; GD: gestation day; LSC: liquid scintillation counting; MC: methylcellulose; n: number; PND: postnatal day; PO: oral(ly); QWBA: quantitative whole body autoradiography; TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

[a] µg equivalents/mL for plasma; µg equivalents/g for all other tissues (milk, blood, amnion, amniotic fluid, and placenta)

[b] Determined by LSC

[c] Determined by QWBA

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8A 薬物動態試験：血球への分布

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.3-4

Study System: In vitro

Target Entity, Test System, and Method: The distribution and blood-to-plasma concentration ratios of [^{14}C]oveporexton in the red blood cells of rats, monkeys, and humans were determined by the measurement of TRA by LSC.

Species	Concentration (μg/mL)	Distribution Ratio (%)	Blood-to-Plasma Concentration Ratio
Rat	0.05	12.4	0.698
	0.5	14.6	0.714
	5	24.9	0.802
Monkey	0.05	22.9	0.725
	0.5	24.0	0.736
	5	23.1	0.727
Human	0.05	17.8	0.743
	0.5	18.0	0.750
	5	18.0	0.754

LSC: liquid scintillation counting; TRA: total radioactivity.

Data are presented as the mean of triplicate assays.

2.6.5.9 薬物動態試験：In vivo における代謝

2.6.5.9A 薬物動態試験：In vivo における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.4-5

Species (Strain):	Mice (CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt))
Sex (M/F)/Number of Animals:	M/3 per time point
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution
Method of Administration:	PO
Dose (mg/kg [MBq/kg]):	15 (7.37)
Analyte:	TRA
Specific Radioactivity (MBq/mg):	3.92
Assay:	HPLC and LSC (metabolite identification and structure determined by LC/MS)

Dosed Radioactivity and Excretion Ratios of Oveporexton and Metabolites

	Calculated Exposure	Dosed Radioactivity (%) and Excretion Ratios to The Dose (%) in Sampling Period (h)	
Oveporexton and Metabolites	Plasma AUC_{24} (h*μg equiv/mL) [a]	Urine (0-24)	Feces (0-24)
TRA	28.128 (100.0)	1.0 (100.0)	95.9 (100.0)
Oveporexton	26.880 (95.6)	-	2.4 (2.5)
M4	NA	0.1 (10.0)	NA
M4 + M11	-	NA	11.7 (12.2)
M5 + M6	0.984 (3.5)	NA	NA
M5 + M6 + M34	NA	-	2.4 (2.5)
M8	-	0.1 (10.0)	-
M9	-	0.2 (20.0)	-
M12	-	-	9.9 (10.3)
M16 + M32	-	-	2.0 (2.1)
M17	-	-	5.0 (5.2)
M19	-	-	12.9 (13.5)
M20	-	-	3.1 (3.2)
M21	-	-	6.6 (6.9)
M22	-	-	1.7 (1.8)
M26	-	0.0 (0.0)	-
Others	0.264 (0.9)	0.6 (60.0)	12.1 (12.6)
Unextracted	-	-	26.1 (27.2)

-: not detected; AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; equiv: equivalents; F: female(s); HPLC: high performance liquid chromatography; LC/MS: liquid chromatography with mass spectrometry; LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; NA: not applicable; TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.
The concentrations of the total radioactivity were calculated from the radioactivity of the pooled plasma and the specific radioactivity of dosing formulation prepared in study [redacted]
Data from this study are also summarized in Report [redacted]
[a] Figures in parentheses represent the ratio of AUC_{24} of each substance to that of the total radioactivity (%).

2.6.5.9 薬物動態試験：In vivo における代謝（続き）

2.6.5.9B 薬物動態試験：In vivo における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

		Report: [redacted]
		添付資料番号: 4.2.2.4-6
Species (Strain):	Mice (CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt))	
Sex (M/F)/Number of Animals:	M/4 per dose	
Feeding Condition:	Fed	
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution	
Method of Administration:	PO	
Dose (mg/kg [MBq/kg]):	15 (7.4) and 600 (37)	
Analyte:	TRA	
Specific Radioactivity (MBq/mg):	(not specified)	
Assay:	HPLC and LSC (metabolite identification and structure determined by LC/HRMS	
Dosed Radioactivity and Excretion Ratios of Oveporexton and Metabolites in bile		
	Dosed Radioactivity (%) and Excretion Ratios to The Dose (%) in Sampling Period (h)	
Oveporexton and Metabolites	15 mg/kg (0-24)	600 mg/kg (0-24)
TRA	69.8 (100.0)	32.3 (100.0)
M1 + M7	18.6 (26.6)	10.8 (33.4)
M8	9.3 (13.3)	4.1 (12.7)
M9	15.2 (21.8)	5.1 (15.8)
M17	3.7 (5.3)	1.2 (3.7)
M27 + M28	3.0 (4.3)	2.0 (6.2)
M35 + M49 + M50	2.9 (4.2)	1.9 (5.9)
M51	-	1.2 (3.7)
Others	17.1 (24.5)	6.0 (18.6)

-: not detected; F: female(s); HPLC: high performance liquid chromatography; LC/HRMS: liquid chromatography/high resolution mass spectrometry; LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; PO: oral(ly); TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

The bile samples from the mice collected in the study [redacted], conducted at [redacted] were supplied by the sponsor.

Data from this study are also summarized in Report [redacted]

2.6.5.9 薬物動態試験：In vivo における代謝（続き）

2.6.5.9C 薬物動態試験：In vivo における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

	Report: [redacted]
	添付資料番号: 4.2.2.4-7
Species (Strain):	Rat (Sprague Dawley)
Sex (M/F)/Number of Animals:	M/3 for plasma and bile and 4 for urine and feces
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution
Method of Administration:	PO
Dose (mg/kg [MBq/kg]):	100 (3.94) (plasma), 100 (3.72) (urine and feces), and 100 (3.75) (bile)
Analyte:	TRA
Specific Radioactivity (MBq/100 mg):	3.94 (plasma) and 3.92 (urine, feces, and bile)
Assay:	HPLC and LSC (metabolite identification and structure determined by LC/MS)

Dosed Radioactivity and Excretion Ratios of Oveporexton and Metabolites

	Calculated Exposure	Dosed Radioactivity (%) and Excretion Ratios to The Dose (%) in Sampling Period (h)		
Oveporexton and Metabolites	Plasma AUC_{24} (h*µg equiv/mL) [a]	Urine (0-24)	Feces (0-48)	Bile (0-48)
TRA	242.448 (100.0)	0.5 (100.0)	97.6 (100.0)	95.1 (100.0)
Oveporexton	224.352 (92.5)	-	13.1 (13.4)	-
M1 + M7 + M25	-	-	-	30.9 (32.5)
M4	-	-	7.7 (7.9)	-
M5 + M6	18.096 (7.5)	NA	NA	NA
M5 + M6 + M34	NA	-	1.9 (1.9)	-
M8	-	-	-	7.5 (7.9)
M9	NA	0.0 (0.0)	NA	NA
M9 + M26 + M37	-	NA	-	0 (0.0)
M11	-	-	1.2 (1.2)	-
M12	-	-	1.4 (1.4)	-
M16 + M31	-	-	4.9 (5.0)	0 (0.0)
M17	-	-	8.7 (8.9)	9.3 (9.8)
M19	-	-	3.3 (3.4)	-
M20	-	-	2.1 (2.2)	-
M21	-	-	3.9 (4.0)	-
M22	-	-	7.8 (8.0)	-

2.6.5.9 薬物動態試験：In vivo における代謝（続き）

2.6.5.9C 薬物動態試験：In vivo における代謝（続き）

Dosed Radioactivity and Excretion Ratios of Oveporexton and Metabolites				
	Calculated Exposure	Dosed Radioactivity (%) and Excretion Ratios to The Dose (%) in Sampling Period (h)		
Oveporexton and Metabolites	Plasma AUC_{24} (h*µg equiv/mL) [a]	Urine (0-24)	Feces (0-48)	Bile (0-48)
M23 + M24	-	-	-	0 (0.0)
M27 + M28	-	-	-	7.5 (7.9)
M29 + M41 + M42	-	-	-	0 (0.0)
M30 + M43 + M44	-	-	-	0 (0.0)
M33	-	-	0.6 (0.6)	-
M35 + M36	-	-	-	0 (0.0)
M38	NA	0.1 (20.0)	NA	NA
M38 + M39 + M40	-	NA	-	0 (0.0)
M45 + M46 + M47	-	-	-	0 (0.0)
M48	-	-	-	0 (0.0)
Others	0.000 (0.0)	0.4 (80.0)	11.9 (12.3)	39.9 (41.9)
Unextracted	NA	NA	29.1 (29.8)	NA

-: not detected; AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; equiv: equivalents; F: female(s); HPLC: high performance liquid chromatography; LC/MS: liquid chromatography with mass spectrometry; LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; NA: not applicable; PO: oral(ly); TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

Excretion ratios of the total radioactivity in urine, feces, and bile were obtained from study [redacted]

Data from this study are also summarized in Report [redacted]

[a] Figures in parentheses represent the ratio of AUC_{24} of each substance to that of the total radioactivity (%).

2.6.5.9 薬物動態試験：In vivo における代謝（続き）

2.6.5.9D 薬物動態試験：In vivo における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.4-10

Species (Strain):	Mouse (CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)); Rat (Sprague Dawley)
Sex (M/F)/Number of Animals:	Mouse: M/4 for bile and 3 for feces; Rat: M/4 for feces and 3 for bile
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution
Method of Administration:	PO
Dose (mg/kg):	Mice: 15; Rats: 100 mg/kg
Analyte:	TRA
Specific Radioactivity (MBq/mg):	Not Specified
Assay:	HPLC with flow scintillation analyzer

Dosed Radioactivity and Excretion Ratios of Oveporexton and Metabolites

	Radioactive proportion (%) of Oveporexton and metabolites in Mice		Radioactive proportion (%) of Oveporexton and metabolites in Rats	
Oveporexton and Metabolites	Bile	Feces	Bile	Feces
Oveporexton	-	2.5	-	15.1
M1 + M7	35.2	-	NA	NA
M1 + M7 + M25	NA	NA	34.3	-
M4	NA	NA	-	10.3
M4 + M11	-	13.0	NA	NA
M5 + M6 + M34	-	2.8	-	1.8
M8	15.5	-	12.4	-
M9	20.8	-	NA	NA
M9 + M26 + M37	NA	NA	<LLOQ	-
M11	NA	NA	-	<LLOQ
M12	-	11.7	-	1.5
M16 + M31	NA	NA	<LLOQ	7.7
M16 + M32	-	2.6	NA	NA
M17	5.2	5.3	<LLOQ	8.1
M19	-	13.3	NA	NA
M19 + M33	NA	NA	-	4.0

2.6.5.9 薬物動態試験：In vivo における代謝（続き）

2.6.5.9D 薬物動態試験：In vivo における代謝（続き）

Dosed Radioactivity and Excretion Ratios of Oveporexton and Metabolites				
	Radioactive proportion (%) of Oveporexton and metabolites in Mice		Radioactive proportion (%) of Oveporexton and metabolites in Rats	
Oveporexton and Metabolites	Bile	Feces	Bile	Feces
M20	-	3.3	-	2.7
M21	-	7.5	-	4.6
M22	-	1.7	-	8.8
M23 + M24	NA	NA	<LLOQ	-
M27 + M28	4.2	-	<LLOQ	-
M29 + M41 + M42	NA	NA	<LLOQ	-
M30 + M43 + M44	NA	NA	<LLOQ	-
M35 + M49 + M50	<LLOQ	-	NA	NA
M38 + M39 + M40	NA	NA	<LLOQ	-
M48	NA	NA	<LLOQ	-
Others	19.1	11.5	53.3	10.8
Unextracted	-	24.8	-	24.6

-: not detected; F: female(s); HPLC: high performance liquid chromatography; LLOQ: lower limit of quantification; M: male(s); MC: methylcellulose; NA; not applicable; PO: oral(ly); TRA: total adioactivity; w/v: weight per volume.

The bile and feces samples from the mice were collected in the study [redacted] and [redacted], conducted at [redacted] and at [redacted] respectively.

The bile and feces samples from the rats were collected in the study [redacted] and pooled in the study [redacted]

2.6.5.9 薬物動態試験：In vivo における代謝（続き）

2.6.5.9E 薬物動態試験：In vivo における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.4-8

Species (Strain):	Monkey (Cynomolgus)
Sex (M/F)/Number of Animals:	M/3
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution
Method of Administration:	PO
Dose (mg/kg [MBq/kg]):	100 (2.98)
Analyte:	TRA
Specific Radioactivity (MBq/mg):	3.92
Assay:	HPLC and LSC (metabolite identification and structure determined by LC/MS)

Dosed Radioactivity and Excretion Ratios of Oveporexton and Metabolites

	Calculated Exposure	Dosed Radioactivity (%) and Excretion Ratios to The Dose (%) in Sampling Period (h)	
Oveporexton and Metabolites	Plasma AUC_{48} (h*μg equiv/mL) [a]	Urine (0-120)	Feces (0-120)
TRA	465.168 (100)	7.4 (100)	85.3 (100)
Oveporexton	351.072 (75.5)	-	35.4 (41.5)
M4	67.392 (14.5)	NA	NA
M4 + M11	NA	-	8.0 (9.4)
M8	-	1.8 (24.3)	-
M9	36.912 (7.9)	1.5 (20.3)	-
M12	-	-	1.6 (1.9)
M16 + M31	-	-	4.3 (5.0)
M17	-	-	8.0 (9.4)
M19	-	-	1.7 (2.0)
M21	-	-	1.9 (2.2)
M26	-	0.3 (4.1)	-
M36	-	0.8 (10.8)	-
Others	9.792 (2.1)	3.0 (40.5)	10.5 (12.3)
Unextracted	NA	NA	13.9 (16.3)

-: not detected; AUC_{48}: area under the concentration-time curve from time 0 to 48 hours; equiv: equivalents; F: female(s); HPLC: high performance liquid chromatography; LC/MS: liquid chromatography with mass spectrometry; LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; NA: not applicable; PO: oral(ly); TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

The concentrations of the total radioactivity were calculated from the radioactivity of the pooled plasma and the specific radioactivity of dosing formulation prepared in study [redacted]

Data from this study are also summarized in Report [redacted]

[a] Figures in parentheses represent the ratio of AUC_{48} of each substance to that of the total radioactivity (%).

2.6.5.9 薬物動態試験：In vivo における代謝（続き）

2.6.5.9F 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.4-11

Feto-Placental Transfer of Oveporexton and Metabolites				
Species (Strain)/Sex:		Rat (Sprague Dawley)/Female		
Group (Day)/Number of Animals:		Pregnant (GD 19)/n = 12; Lactating (PND 2-4)/n = 16		
Vehicle/Formulation:		0.5% (w/v) MC solution		
Method of Administration:		PO		
Dose (mg/kg [μCi/kg]):		100 (200)		
Sample Collection Postdose (h):		0.25, 1, 24		
Analyte:		TRA		
Specific Activity (μCi/mg):		68.5		
Assay:		HPLC and LSC (metabolite identification and structure determined by LC/MS/MS)		
		Extraction Recovery (%) and %Distribution of Oveporexton and Metabolites in Rat Plasma and Milk		
				%Distribution
Matrix	Time Postdose (h)	Extraction Recovery (%)	Oveporexton (%)	M5/M6 (%)
Lactating Rat Plasma	0.25	103	100	0
	1	104	100	0
	24	87	100	0
Lactating Rat Milk	0.25	103	100	0
	1	109	100	0
	24	103	100	0
Pregnant Rat Plasma	0.25	102	100	0
	1	97	100	0
	24	99	92.4	7.6
Pregnant Rat Fetal Plasma	24	91	100	0

GD: gestation day; HPLC: high performance liquid chromatography; LC/MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LSC: liquid scintillation counting; MC: methylcellulose; PO: oral(ly); n: number; PND: postnatal day; TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝

2.6.5.10A 薬物動態試験：In vitro における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.4-3

In Vitro Metabolic Stability of [^{14}C]Oveporexton by Hepatocytes from Humans and Animals				
Study System:	Rat, monkey, and human hepatocytes			
Reaction Time and condition:	0, 0.5, 1, 1.5, and 2 hours under 5% CO_2 at 37°C (5.9×10^5 cells/mL)			
Initial Concentration:	1 µmol/L			
Assay:	HPLC following LSC detection			
Incubation Time (h)	[^{14}C]Oveporexton Remaining (%)			
	Rat	Monkey	Human	
			Without ABT	With ABT
0	100.0	100.0	100.0	100.0
0.5	60.1	83.2	82.1	104.5
1	50.6	77.4	72.9	104.5
1.5	48.9	66.2	65.4	103.8
2	41.7	64.5	59.8	103.2
k (h^{-1})	0.391	0.221	0.251	0 [a]
r^2	0.842	0.951	0.975	0.237
$CL_{int(hep)}$ (µL/h/10^6 cells)	663	375	426	0

A: y-intercept; ABT: 1-aminobenzotriazole; HPLC: high performance liquid chromatography; $CL_{int(hep)}$: intrinsic clearance for the reaction in hepatocytes; k: first-order rate constant; LSC: liquid scintillation counting; r^2: coefficient of determination; t: incubation time.

The k values were calculated with the following equation, % remaining = Ae^{-kt}, using the available % remaining of [^{14}C]oveporexton at all timepoints.

[a] The k value was regarded as zero because the calculated k value was negative.

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

2.6.5.10B 薬物動態試験：In vitro における代謝

Test Article: Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.4-1

Contribution of CYP Isoforms to the In Vitro Metabolism of Oveporexton	
Study System:	Human CYP-expressing microsomes
Reaction Time and condition:	0, 5 (CYP3A4 only), 10, 20, 30, 40, and 50 (except CYP3A4) minutes at 37°C in the presence of an NADPH-generating system
Initial Concentration:	1 µmol/L

Remaining Ratio and the CL_{int} for the In Vitro Metabolism of Oveporexton with CYP-Expressing Microsomes and the Relative Contribution Ratio Among CYPs

CYP Isoform	P450 Conc (pmol/mL)	Protein Conc (mg/mL)	% of Non-Incubated Sample							CL_{int} (µL/min/pmol P450)	RAF	Contribution Ratio (%)
			Incubation Time									
			0 min	5 min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min			
CYP1A2	50	0.95	100.0	NA	108.1	107.7	106.9	107.2	107.0	0	25.5	0.0
CYP2B6	50	0.95	100.0	NA	103.8	103.7	107.0	105.2	105.9	0	21.8	0.0
CYP2C8	50	0.95	100.0	NA	102.1	101.8	102.6	103.9	103.8	0	30.2	0.0
CYP2C9	50	0.95	100.0	NA	93.6	95.3	92.4	96.4	93.3	0.0165	22.0	2.6
CYP2C19	50	0.95	100.0	NA	100.4	103.5	102.1	97.2	103.7	0	3.03	0.0
CYP2D6	50	0.95	100.0	NA	96.8	96.5	95.7	95.7	95.8	0.0147	0.766	0.1
CYP3A4	20	0.95	100.0	93.0	91.0	87.8	82.2	78.8	NA	0.275	48.6	97.3
Control	NA	0.95	100.0	98.2	96.6	96.4	98.8	100.4	98.4	NA	NA	NA

CL_{int}: intrinsic clearance; Conc: concentration; CYP: cytochrome P450; NA: not applicable; NADPH: reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; RAF: relative activity factor.

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

2.6.5.10C 薬物動態試験：In vitro における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.4-4

In Vitro Metabolite Profiling of [^{14}C]Oveporexton by Mouse, Rat, Monkey, and Human Hepatocytes	
Study System:	Mouse, rat, monkey, and human hepatocytes
Reaction Time and condition:	4 hours under 5% CO_2 at 37°C with seeding density of cells of 3.0×10^5 viable cells/495 µL/well
Initial Concentration:	10 µmol/L
Assay	LC/MS and HPLC with on-line flow scintillation analyzer

Compound	Percent of Total Radioactivity				Relative Formation Ratio (%)				Proposed Transformation
	Mouse	Rat	Monkey	Human	Mouse	Rat	Monkey	Human	
Oveporexton	78.34	73.61	79.06	68.16	NA	NA	NA	NA	NA
M1 and M7 [a,b]	7.89	13.21	2.67	3.26	51.8	70.8	19.4	14.9	Oxidative defluorination and glutathione conjugation
M4	1.38	0.84	2.48	2.70	9.1	4.5	18.1	12.3	Monooxygenation
M5 and M6 [a]	1.67	3.30	2.39	1.36	11.0	17.7	17.4	6.2	Monooxygenation
M8	1.22	0.75	1.36	5.67	8.0	4.0	9.9	25.9	Monooxygenation and glucuronidation
M9	1.72	0.18	0.56	0.37	11.3	1.0	4.1	1.7	Monooxygenation and glucuronidation
M10	BQL	BQL	1.82	5.34	BQL	BQL	13.3	24.4	Monooxygenation and sulfation
M11	BQL	0.22	0.52	1.43	BQL	1.2	3.8	6.5	Oxidative ring opening and monooxygenation
M12	1.35	0.17	1.01	1.45	8.9	0.9	7.4	6.6	Monooxygenation
M13	BQL	BQL	0.92	0.32	BQL	BQL	6.7	1.5	Glucuronidation
Others [c]	6.43	7.72	7.21	9.94	NA	NA	NA	NA	NA

BQL: below the quantitation limit; HPLC: high performance liquid chromatography; LC/MS: liquid chromatography with mass spectrometry; NA: not applicable.

[a] The peaks of 2 metabolites overlapped on the radio-chromatogram.

[b] M7 was not detected in human hepatocytes.

[c] The percentage of the total radioactivity of others was calculated by subtracting those of oveporexton and the metabolites from 100%.

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

2.6.5.10D 薬物動態試験：In vitro における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

					Report: [redacted]
					添付資料番号: 4.2.2.4-15
CVB of [^{14}C]Oveporexton in Human Hepatocytes					
Study System:	Pooled human hepatocytes				
Reaction Time and Condition:	0 and 2 hours under 5% CO_2 at 37°C (6×10^5 cells/mL)				
Initial Concentration:	10 µmol/L				
Assay:	LSC				
CVB (pmol/mg protein)	Incubation Time (h)	Turnover (%)	f_{cvb}	Daily Dose (mg/day)	CVB Burden (mg/day)
223.4	2	28	0.0528	4	0.211

CVB: covalent binding; D: dose; f_a: fraction of the dose absorbed; f_{cvb}: fraction of metabolism leading to covalent binding; f_m: fraction of the elimination via metabolism; LSC: liquid scintillation counting.
CVB burden = $D \times f_a \times f_m \times f_{cvb}$. Both f_a and f_m were set to a value of 1.

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

2.6.5.10E 薬物動態試験：In vitro における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

				Report: [redacted] and [redacted]		
				添付資料番号: 4.2.2.4-16、4.2.2.4-17		
CVB of [^{14}C]Oveporexton in Human Hepatocytes						
Study System:	Pooled human hepatocytes					
Reaction Time and Condition:	0 and 2 hours under 5% CO_2 at 37°C (6×10^5 cells/mL)					
Initial Concentration:	10 µmol/L					
Assay:	HPLC with LSC					
Test Number	CVB (pmol/mg protein)	Incubation Time (h)	Turnover (%)	f_{cvb}	Daily Dose (mg/day)	CVB Burden (mg/day)
1 [a]	155.8	2	13	0.1256	7	0.879
2 [a]	122.5	2	11	0.1200	7	0.840
3 [b]	207.7	2	15	0.1416	7	0.991

CVB: covalent binding; D: dose; f_a: fraction of the dose absorbed; f_{cvb}: fraction of metabolism leading to covalent binding; f_m: fraction of the elimination via metabolism; HPLC: high performance liquid chromatography; LSC: liquid scintillation counting.

CVB burden = $D \times f_a \times f_m \times f_{cvb}$. Both f_a and f_m were set to a value of 1.

[a] Evaluated in report [redacted]

[b] Evaluated in report [redacted]

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

2.6.5.10F 薬物動態試験：In vitro における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton
Report: [redacted]
添付資料番号: 4.2.2.4-13

In Vitro Assessment of Covalent Binding of [^{14}C]Oveporexton in Human, Monkey, Rat, and Mouse Liver Microsomes		
Study System:	Mouse, rat, monkey, and human liver microsomes	
Reaction Time and condition:	1 hour at 37°C	
Initial Concentration:	10 µmol/L for microsomes across species; 10 µmol/L for mechanistic studies with CYP inhibitors	
Assay:	LSC detection and BCA for protein concentration	
Covalent Binding of [^{14}C]Oveporexton fortified with NADPH in Liver Microsomes from Different Species		
Condition	Covalent Binding (pmol Equivalent Oveporexton/mg Protein)	
HLM (without NADPH)	57.0 ± 8.5	
HLM	336.2 ± 19.4	
MkLM	762.8 ± 45.0	
RLM	565.5 ± 88.5	
MsLM	765.4 ± 23.0	
Covalent Binding of [^{14}C]Oveporexton in HLMs with CYP inhibitors (Test 1)		
CYP Inhibitor	Inhibited CYP	Covalent Binding (pmol Equivalent of Oveporexton/mg Protein)
None (Positive Control)	NA	470.3 ± 51.0
Furafylline	1A2	503.7 ± 3.8
Sulfaphenazol	2C9	602.2 ± 55.5
Ticlopidine	2C19/2B6	373.2 ± 51.2
Ketoconazole	3A	92.3 ± 1.8
1-aminobenzotriazole	Pan-CYP (excluding 2C9)	76.9 ± 8.9
Negative Control [a]	NA	18.8 ± 4.6
Covalent Binding of [^{14}C]Oveporexton in HLMs with CYP inhibitors (Test 2)		
CYP Inhibitor	Inhibited CYP	Covalent Binding (pmol Equivalent of Oveporexton/mg Protein)
None (Positive Control)	NA	270.6 ± 7.2
Quinidine	2D6	287.3 ± 7.0
Negative Control [a]	NA	21.2 ± 3.3
Covalent Binding of [^{14}C]Oveporexton in HLMs with CYP inhibitors (Test 3)		
CYP Inhibitor	Inhibited CYP	Covalent Binding (pmol Equivalent of Oveporexton/mg Protein)
None (Positive Control)	NA	238.2 ± 8.2
Montelukast	2C8	233.7 ± 12.6

BCA: bicinchoninic acid; CYP: cytochrome P450; HLM: human liver microsomes; LSC: liquid scintillation counting; MkLM: monkey liver microsomes; MsLM: mouse liver microsomes; NA: not applicable; NADPH: reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; RLM: rat liver microsomes; SD: standard deviation.
N = 3 per experimental condition, except N = 2 for the negative control. Data are presented as mean ± SD.
[a] A negative control group was added by spiking 5 µL of [^{14}C]oveporexton after 1-hour incubation instead of adding before the incubation.

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

2.6.5.10G 薬物動態試験：In vitro における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.4-2

Human CYP Mapping of [^{14}C]Oveporexton with and without GSH in Recombinant Human Microsomes	
Study System:	Human CYP-expressing microsomes. CYP isoforms evaluated included CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4, and CYP3A5.
Reaction Time and condition:	1 hour at 37°C with or without the presence of GSH
Initial Concentration:	10 µmol/L
Assay:	LC/MS/MS

Percentage of Total Reactivity of [^{14}C]Oveporexton and metabolites following a 1 hour incubation with Human CYP-expressing microsomes with or without the presence of GSH

Compound	Relative Distribution (%)						Proposed Transformation in Recombinant Human CYP-expressing Microsomes
	CYP3A4	CYP3A4 + GSH	CYP3A5	CYP3A5 + GSH	CYP2C19	CYP2C19 + GSH	
Oveporexton	71.75	59.96	94.35	91.93	95.29	95.39	Parent
M1/M7	-	14.38	-	2.09	-	2.92	-F+Oxidation+GSH on trifluorobiphenyl moiety
M4	4.46	2.32	3.62	3.62	2.64	-	+Oxidation on bifluorobenzene ring
M11	3.42	3.16	-	-	-	-	Oxidative ring opening of pyrrolidine ring
M12	12.62	8.43	2.03	2.36	2.07	1.69	+Oxidation on bifluorobenzene ring

-: not detected; CYP: cytochrome P450; GSH: reduced glutathione; LC/MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometry.

[^{14}C]Oveporexton metabolism was mediated by CYP3A4, CYP2C19, and CYP3A5. CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6, and CYP2E1 had no detectable contribution to [^{14}C]oveporexton metabolism.

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

2.6.5.10H 薬物動態試験：In vitro における代謝

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.4-14

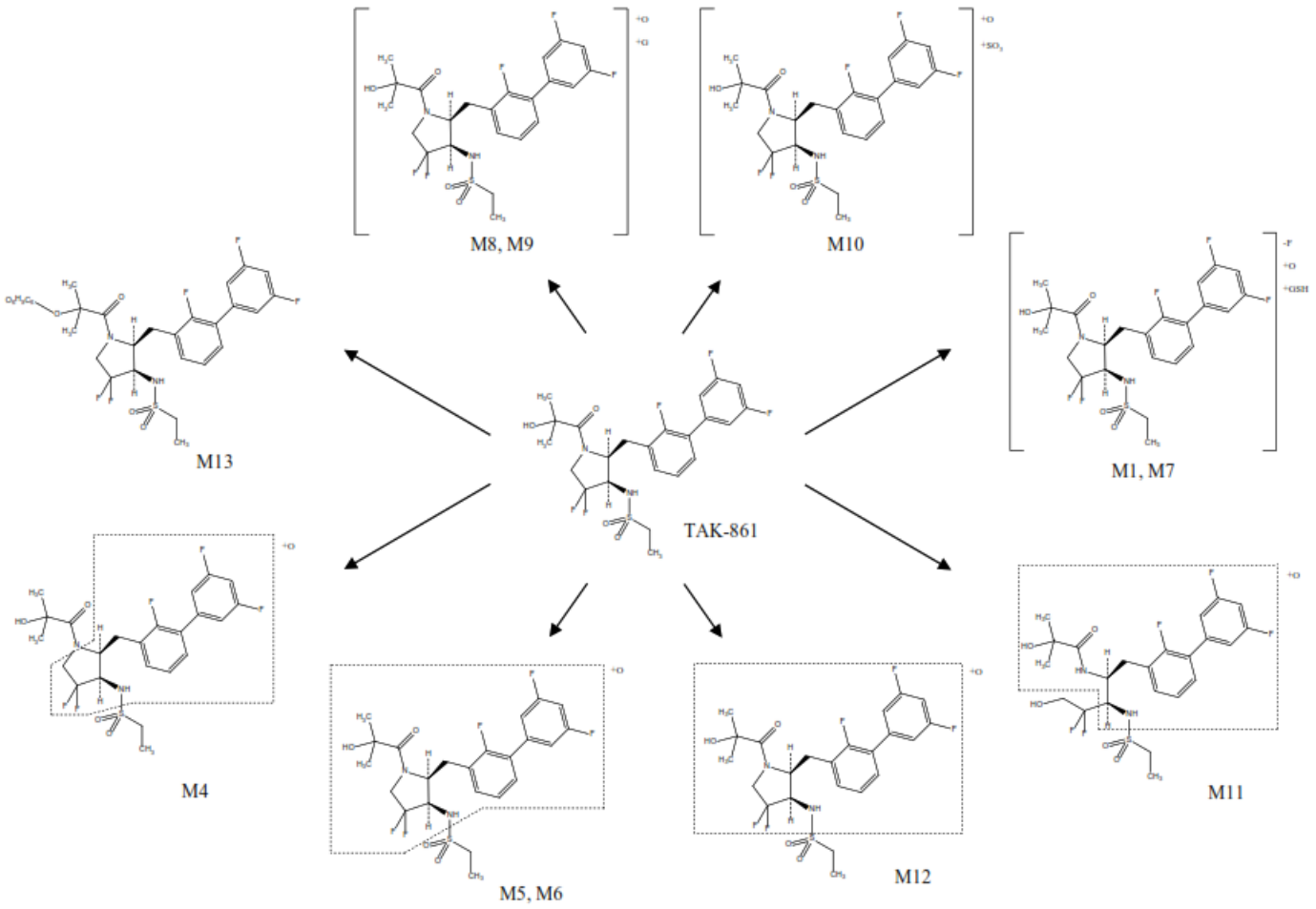
Bioactivation Evaluation of [^{14}C]Oveporexton in Human Liver Microsomes Fortified with Glutathione, Potassium Cyanide, and Semicarbazide					
Study System:	HLM				
Reaction Time and condition:	1 hour at 37°C				
Initial Concentration:	10 µmol/L				
Assay:	LSC detection and BCA for protein concentration				
% Distribution of Total Radioactivity of [^{14}C]Oveporexton and Metabolites in HLM in the Presence or Absence of Trapping Reagents					
	% Distribution				
Metabolite	Control	GSH	KCN	Semicarbazide	Mixture [a]
Oveporexton	78.99	80.62	96.13	90.83	98.26
M1, M7		6.06	-	-	-
M4	7.97	5.76	2.23	4.27	1.74
M11	2.86	3.25	-	2.08	-
M12	7.06	4.3	1.64	2.82	-
Theoretical vs Observed CVB of [^{14}C]Oveporexton in HLM in the Presence of Trapping Reagents					
CYP Inhibitor	Control	GSH	KCN	Semicarbazide	Mixture [a]
% Oveporexton	79.0	80.6	96.1	90.8	98.3
% Metabolites	21.0	19.4	3.9	9.2	1.7
Normalized Metabolism	100.0	92.4	18.6	43.8	8.1
$CVB_{observed}$ (pmol equiv/mg protein)	385.5	136.5	132.9	157.8	68.2
$CVB_{theoretical}$ (pmol equiv/mg protein)	385.5	356.2	71.7	168.8	31.2

-: not detected; BCA: bicinchoninic acid; CVB: covalent binding; CYP: cytochrome P450; equiv: equivalents; GSH: glutathione; HLM: human liver microsomes; KCN: potassium cyanide; LSC: liquid scintillation counting.

[a] mixture of GSH, KCN, and semicarbazide.

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

2.6.5.11A 薬物動態試験：動物及びヒトの肝細胞における推定代謝経路（in vitro）

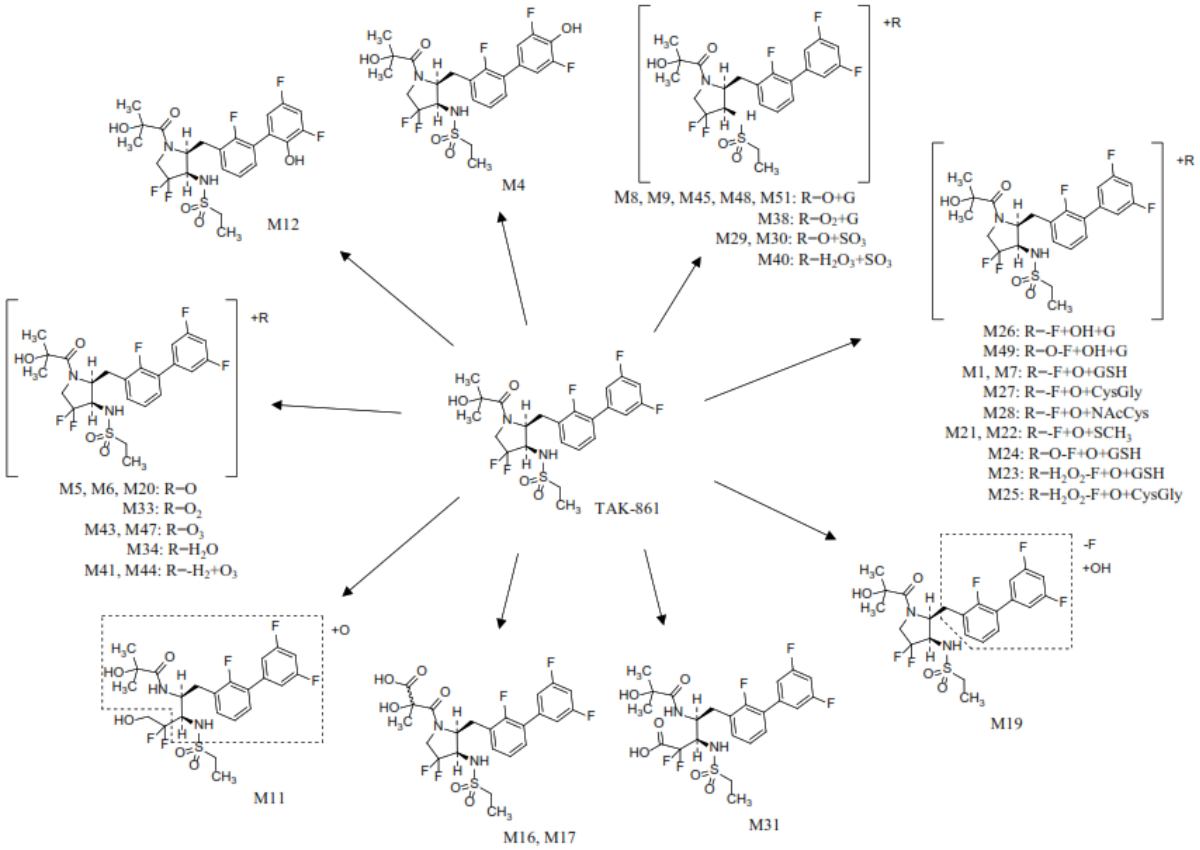


Source: [redacted]

TAK-861: oveporexton.

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路（続き）

2.6.5.11B 薬物動態試験：動物における推定代謝経路（in vivo）



Source: [redacted]

CysGly: cysteinylglycine, G: glucuronic acid, GSH: glutathione, NAcCys: *N*-acetylcysteine, TAK-861: oveporexton.

All structures of metabolites are presumed. Unknown metabolites, M32, M35, M36, M37, M39, M42, M46, and M50 were also detected.

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路（続き）

2.6.5.11C 薬物動態試験：動物の血漿、尿、糞便及び胆汁中の代謝物（in vivo）

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Species/Dose	% (AUC_{24}) of total [^{14}C]Oveporexton dose	Excretion Ratio to the Dose (%) in Sampling Period (h)		
	Plasma	Urine (0-24 [a])	Feces (0-24 [b])	Bile (0-24 [c])
Male Mice/ 15 mg/kg [^{14}C]Oveporexton (PO) [redacted] 添付資料番号: 4.2.2.4-5	Oveporexton (95.6) M5 + M6 (3.5) Others (0.9)	M4 (10.0) M8 (10.0) M9 (20.0) M26 (0.0) Others (60.0)	Oveporexton (2.5) M4 + M11 (12.2) M5 + M6 + M34 (2.5) M12 (10.3) M16 + M32 (2.1) M17 (5.2) M19 (13.5) M20 (3.2) M21 (6.9) M22 (1.8) Others (12.6) Unextracted (27.2)	N/A
Male Mice/ 15 mg/kg [^{14}C]Oveporexton (PO) 600 mg/kg [^{14}C]Oveporexton (PO) [redacted] 添付資料番号: 4.2.2.4-6	N/A	N/A	N/A	15 mg/kg [^{14}C]Oveporexton M1 + M7 (26.6) M8 (13.3) M9 (21.8) M17 (5.3) M27 + M28 (4.3) M35 + M49 + M50 (4.2) Others (24.5) 600 mg/kg [^{14}C]Oveporexton M1 + M7 (33.4) M8 (12.7) M9 (15.8) M17 (3.7) M27 + M28 (6.2) M35 + M49 + M50 (5.9) M51 (3.7) Others (18.6)

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路（続き）

2.6.5.11C 薬物動態試験：動物の血漿、尿、糞便及び胆汁中の代謝物（in vivo）（続き）

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Species/Dose	% (AUC_{24}) of total [^{14}C]Oveporexton dose	Excretion Ratio to the Dose (%) in Sampling Period (h)		
	Plasma	Urine (0-24 [a])	Feces (0-24 [b])	Bile (0-24 [c])
Male Rats/ 100 mg/kg [^{14}C]Oveporexton (PO) [redacted] 添付資料番号: 4.2.2.4-7	Oveporexton (92.5) M5 + M6 (7.5) Others (0.0)	M9 (0.0) M38 (20.0) Others (80.0)	Oveporexton (13.4) M4 (7.9) M5 + M6 + M34 (1.9) M11 (1.2) M12 (1.4) M16 + M31 (5.0) M17 (8.9) M19 (3.4) M20 (2.2) M21 (4.0) M22 (8.0) M33 (0.6) Others (12.3) Unextracted (29.8)	M1 + M7 + M25 (32.5) M8 (7.9) M17 (9.8) M27 + M28 (7.9) Others (41.9) M9, M26, M37, M16, M31, M23, M24, M29, M41, M42, M30, M43, M44, M35, M36, M38, M39, M40, M45, M46, M47, M48 (all were <LLOQ)
Male Monkeys/ 100 mg/kg [^{14}C]Oveporexton (PO) [redacted] 添付資料番号: 4.2.2.4-8	Oveporexton (75.5) [d] M4 (14.5) [d] M9 (7.9) [d] Others (2.1) [d]	M8 (24.3) M9 (20.3) M26 (4.1) M36 (10.8) Others (40.5)	Oveporexton (41.5) M4 + M11 (9.4) M12 (1.9) M16 + M31 (5.0) M17 (9.4) M19 (2.0) M21 (2.2) Others (12.3) Unextracted (16.3)	N/A

AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{48}: area under the concentration-time curve from time 0 to 48 hours; LLOQ: lower limit of quantification; N/A: not applicable; PO: oral(ly).

[a] 0 to 120 hours for [redacted]

[b] 0 to 48 hours in [redacted] and 0 to 120 hours in [redacted]

[c] 0 to 48 hours in [redacted]

[d] Values were calculated as $\%AUC_{48}$.

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害

2.6.5.12A 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導

Test Article: Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.6-1

In Vitro Evaluation of Oveporexton as an Inducer of CYPs	
Type of Study:	Induction of human CYP by Oveporexton
Study System:	Human hepatocytes (3 donors: HU8219, HU8222, and HU8290)
Reaction Time:	48 hours at 37°C
Initial Concentration:	0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, and 30 µmol/L
Marker Activity:	The changes in gene expression of CYP1A2, 2B6, 2C8, 2C9, and 3A4 were determined.
Positive Control:	Omeprazole (50 µmol/L; CYP1A2), phenobarbital (1000 µmol/L; CYP2B6), and rifampicin (10 µmol/L; CYP2C8, 2C9, and 3A4)
The EC_{50} and E_{max} of Oveporexton in Lots HU8219, HU8222, and HU8290 were for CYP1A2, 0.0943 to 9.69 µmol/L and 0.988 to 2.99; for CYP2B6, 1.93 to 3.64 µmol/L and 3.56 to 5.78; for CYP2C8, 0.949 to 7.60 µmol/L and 3.03 to 6.34; for CYP2C9, 1.02 to 147 µmol/L and 1.83 to 9.85; and for CYP3A4, 1.60 to 4.37 µmol/L and 34.8 to 60.4, respectively.	

Compound	Conc (µmol/L)	Fold Change					% of Positive Control				
		CYP1A2	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP3A4	CYP1A2	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP3A4
Oveporexton	0.1	1.32 ± 0.24	1.07 ± 0.02	1.18 ± 0.06	1.12 ± 0.17	1.69 ± 0.28	0.3 ± 0.3	0.9 ± 0.1	4.7 ± 3.9	9.1 ± 9.1	1.5 ± 0.1
	0.3	1.51 ± 0.35	1.32 ± 0.13	1.45 ± 0.13	1.22 ± 0.15	4.07 ± 1.17	0.5 ± 0.3	4.0 ± 1.0	12.5 ± 11.4	17.0 ± 4.4	6.6 ± 0.4
	1	1.56 ± 0.34	2.02 ± 0.32	2.30 ± 0.21	1.61 ± 0.48	12.9 ± 6.0	0.5 ± 0.3	12.9 ±2.0	34.7 ± 28.0	41.8 ± 16.9	24.6 ± 2.6
	3	1.65 ± 0.23	2.97 ± 0.29	2.95 ± 0.93	1.73 ± 1.09	25.9 ± 18.4	0.6 ± 0.2	25.8 ± 4.0	38.9 ± 3.3	25.3 ± 94.8	48.6 ± 20.3
	10	2.10 ± 0.31	5.22 ± 1.01	4.77 ± 0.29	2.50 ± 0.61	43.3 ± 16.8	1.0 ± 0.5	54.8 ± 9.6	99.8 ± 76.9	123.4 ± 22.3	90.4 ± 10.4
	30	2.55 ± 0.76	4.47± 0.98	4.42 ± 1.39	2.78 ± 0.23	36.3 ± 10.8	1.4 ± 1.0	45.6 ± 12.3	103.1 ± 106.3	171.7 ± 103.5	76.7 ± 7.4
Omeprazole	50	122 ± 29	NA	NA	NA	NA	100.0	NA	NA	NA	NA
Phenobarbital	1000	NA	8.82 ± 1.95	NA	NA	NA	NA	100.0	NA	NA	NA
Rifampicin	10	NA	NA	6.13 ± 2.68	2.29 ± 0.65	48.1 ± 18.9	NA	NA	100.0	100.0	100.0

Conc: concentration; CYP: cytochrome P450; EC_{50}: half-maximal effective concentration; E_{max}: maximal induction effect; n: number; NA: not applicable; SD: standard deviation.

n = 3. Data presented as mean ± SD.

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害（続き）

2.6.5.12B 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害

Test Article: Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.6-2

In Vitro Evaluation of Oveporexton as an Inhibitor of CYPs	
Type of Study:	Inhibition of human CYP activity by Oveporexton
Study System:	Each CYP substrate was incubated with HLM with or without 30 minutes pre-incubation of Oveporexton.
Reaction Time:	10 minutes for CYP1A2, 2B6, and 3A4/5 (testosterone); 20 minutes for CYP2C8 and 2D6; 5 minutes for CYP2C9 and CYP3A4/5 (midazolam); and 30 minutes for CYP2C19.
Initial Concentration:	0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, and 30 µmol/L
Assay:	LC/MS/MS

CYP Isoform	Marker Activity	Without Pre-incubation		With Pre-incubation	
		IC_{50} (µmol/L)	Inhibition at 30 µmol/L (%)	IC_{50} (µmol/L)	Inhibition at 30 µmol/L (%)
CYP1A2	Phenacetin *O*-deethylation	>30	-3.8	>30	-6.2
CYP2B6	Bupropion hydroxylation	>30	32.3	>30	27.6
CYP2C8	Paclitaxel 6α-hydroxylation	21	56.9	29	52.1
CYP2C9	Diclofenac 4′-hydroxylation	18	63.8	22	61.2
CYP2C19	(*S*)-mephenytoin 4′-hydroxylation	13	73.5	16	69.5
CYP2D6	Bufuralol 1′-hydroxylation	4.6	73.9	3.7	79.2
CYP3A4/5	Midazolam 1′-hydroxylation	18	59.9	4.0	82.6
CYP3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	>30	46.8	4.7	78.7

CYP: cytochrome P450; HLM: human liver microsomes; IC_{50}: half-maximal inhibitory concentration; LC/MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometry.

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導/阻害（続き）

2.6.5.12C 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害

Test Article: Oveporexton

				Report: [redacted]
				添付資料番号: 4.2.2.6-3
Time- and Concentration-Dependent Inactivation Kinetics of CYP3A4/5 by Oveporexton in Human Liver Microsomes				
Type of Study:	Kinetic study of time dependent inhibition of human CYP3A4/5 by Oveporexton			
Study System:	Oveporexton was pre-incubated in 96-well plates in triplicate with 1.0 mg/mL HLM. Upon completion of pre-incubation, the pre-incubated mixture and 200-µM testosterone were incubated at 37°C.			
Reaction Time:	8 minutes with pre-incubation periods of 0, 5, 10, 15, 20, and 30 minutes			
Initial Concentration:	0, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, and 100 µM			
Assay:	LC/MS/MS			
Compound	Substrate	k_{inact} (min^{-1})	K_I (µM)	k_{inact}/K_I (mL/min*µmol)
Oveporexton	Testosterone	0.05079	11.83	4.29
Verapamil	Testosterone	0.07632	7.184	10.62

CYP: cytochrome P450; HLM: human liver microsomes; k_{inact}: maximal inactivation rate constant; K_I: concentration of compound producing 50% of the k_{inact} value; LC/MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometry.

2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄

2.6.5.13A 薬物動態試験：累積排泄

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

			Report: [redacted]
			添付資料番号: 4.2.2.2-4
Species:	Mouse/CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt)		
Sex (M/F)/Number of Animals/Group:	M/3		
Feeding Condition:	Fed		
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution		
Method of Administration:	PO		
Dose (mg/kg [MBq/kg]):	15 (7.37)		
Specific Radioactivity (MBq/mg):	3.92		
Analyte:	TRA		
Assay:	LSC		
Excretion Route:	Urine	Feces	Total
Time After Administration (h)	Cumulative Excretion Ratio of Radioactivity to Dose (%)		
24	1.0 ± 0.0	95.9 ± 1.9	96.9 ± 1.9
48	1.1 ± 0.0	97.6 ± 1.0	98.7 ± 1.0

F: female(s); LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; n: number; PO: oral(ly); SD: standard deviation; TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

Data presented as mean ± SD (n = 3).

2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄（続き）

2.6.5.13B 薬物動態試験：累積排泄

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

										Report: [redacted]
										添付資料番号: 4.2.2.5-1
Species:	Mouse/CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (wt/wt) (BDC)									
Sex (M/F)/Number of Animals/Group:	M/4									
Feeding Condition:	Fed									
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution									
Method of Administration:	PO									
Dose (mg/kg [MBq/kg]):	15 (7.4)					600 (37)				
Specific Radioactivity (MBq/mg):	4.03									
Analyte:	TRA									
Assay:	LSC									
Excretion Route:	Bile	Urine	Feces [a]	Carcass	Total	Bile	Urine	Feces [a]	Carcass	Total
Time After Administration (h)	Cumulative Excretion and Residual Ratios of Radioactivity to Dose (%)									
24	69.8 ± 7.3	3.5 ± 3.6	21.6 ± 2.6	3.4 ± 2.3	98.3 ± 1.6	32.3 ± 9.1	1.5 ± 0.6	54.5 ± 7.3	10.1 ± 8.8	98.4 ± 1.0

BDC: bile duct cannulated; F: female(s); LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; n: number; PO: oral(ly); SD: standard deviation; TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

Data presented as mean ± SD (n = 4).

[a] The recovery in the gastrointestinal contents was included.

2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄（続き）

2.6.5.13C 薬物動態試験：累積排泄

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.2-5

Species:	Rat/Sprague Dawley			Rat/Sprague Dawley (BDC)			
Sex (M/F)/Number of Animals/Group:	M/4			M/3			
Feeding Condition:	Fed			Fed			
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution			0.5% (w/v) MC solution			
Method of Administration:	PO			PO			
Dose (mg/kg [MBq/kg]):	100 (3.72)			100 (3.94)			
Specific Radioactivity (MBq/mg):	3.92			3.92			
Analyte:	TRA			TRA			
Assay:	LSC			LSC			
Excretion Route:	Urine	Feces	Total	Bile	Urine	Feces [a]	Total
Time After Administration (h)	Cumulative Excretion Ratio of Radioactivity to Dose (%)						
8	0.1 ± 0.0	-	NE	18.2 ± 7.0	0.0 ± 0.1	-	NE
24	0.5 ± 0.1	72.9 ± 8.8	73.4 ± 8.8	72.2 ± 15.5	0.8 ± 1.1	5.2 ± 2.0	78.3 ± 18.0
48	0.5 ± 0.1	97.6 ± 1.4	98.1 ± 1.4	95.1 ± 3.1	1.1 ± 1.2	6.3 ± 2.5	102.5 ± 0.5
72	0.5 ± 0.1	98.7 ± 1.2	99.2 ± 1.1	95.3 ± 3.1	1.1 ± 1.3	6.4 ± 2.4	102.8 ± 0.6
96	0.5 ± 0.1	98.9 ± 1.2	99.3 ± 1.2	NA	NA	NA	NA

-: not collected; BDC: bile duct cannulated; F: female(s); LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; n: number; NA: not applicable; NE: not estimated; PO: oral(ly); SD: standard deviation; TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

Data presented as mean ± SD (n = 3 or 4).

[a] The recovery in the gastrointestinal contents was included.

2.6.5.13 薬物動態試験：累積排泄（続き）

2.6.5.13D 薬物動態試験：累積排泄

Test Article: [^{14}C]Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.2-6

Species:	Monkey/Cynomolgus		
Sex (M/F)/Number of Animals/Group:	M/3		
Feeding Condition:	Fed		
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) MC solution		
Method of Administration:	PO		
Dose (mg/kg [MBq/kg]):	100 (2.98)		
Specific Radioactivity (MBq/mg):	3.92		
Analyte:	TRA		
Assay:	LSC		
Excretion Route:	Urine	Feces	Total
Time After Administration (h)	Cumulative Excretion Ratio of Radioactivity to Dose (%)		
8	0.9 ± 0.3	-	NE
24	3.2 ± 1.4	31.2 ± 33.6	34.4 ± 32.8
48	5.2 ± 2.4	50.3 ± 37.5	55.6 ± 37.1
72	6.2 ± 2.8	72.6 ± 14.9	78.8 ± 14.2
96	6.7 ± 2.9	81.5 ± 9.0	88.2 ± 8.6
120	7.4 ± 2.6	85.3 ± 5.8	92.7 ± 5.3
144	7.6 ± 2.7	87.8 ± 3.7	95.3 ± 2.9
168	7.7 ± 2.7	89.4 ± 2.3	97.2 ± 1.6

-: not collected; F: female(s); LSC: liquid scintillation counting; M: male(s); MC: methylcellulose; n: number; NE: not estimated; PO: oral(ly); SD: standard deviation; TRA: total radioactivity; w/v: weight per volume.

Data presented as mean ± SD (n = 3).

2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄

胆汁中排泄は 2.6.5.13B 及び 2.6.5.13C に示した。

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15A 薬物動態試験：薬物相互作用

Test Article:Oveporexton

Report: [redacted]

添付資料番号: 4.2.2.6-4

Evaluation of Oveporexton as an inhibitor of human drug transporters: BCRP, BSEP, Pgp, MATE1, MATE2-K, OAT1, OAT3, OCT1, and OCT2			
Type of Study:	Inhibition of BCRP and Pgp by Oveporexton	Inhibition of BSEP by Oveporexton	Inhibition of MATE1, MATE2-K, OAT1, OAT3, OCT1, and OCT2 by Oveporexton
Study System:	MDCKII cell monolayers transfected with BCRP or Pgp	Inside-out membrane vesicles stably transfected with BSEP	HEK293 cells stably transfected with OAT1, OAT3, OCT1, or OCT2 and MDCKII cells stably transfected with MATE1 or MATE2-K
Incubation Time:	1 hour (BCRP) and 2 hours (Pgp) at 37°C	5 minutes at 37°C	15 minutes (MATE1), 5 minutes (MATE2-K), 2 minutes (OAT1), 1 minute (OAT3 and OCT2), 3 minutes (OCT1) at 37°C
Initial Concentration:	0.14, 0.41, 1.23, 3.7, 11.11, 33.33, and 100 µmol/L	0.014, 0.041, 0.123, 0.37, 1.11, 3.33, and 10 µmol/L	0.45 and 4.5 µmol/L (MATE1 and MATE2-K); 1 and 10 µmol/L (OAT1, OAT3, OCT1, and OCT2)
Analyte:	TRA	TRA	TRA
Assay:	LSC	LSC	LSC

Human Transporter Isoform	Maximum % Inhibition	IC_{50} (µmol/L)	Probe Substrate	Positive Control	Relative % Inhibition by Positive Control
BCRP	NIO	NA	[7-Methoxy-^{3}H]prazosin (1 µmol/L)	Ko143 (1 µmol/L)	1.13 and 1.01 [a]
Pgp	NIO	NA	[^{3}H(G)]digoxin (1 µmol/L)	Valspodar (10 µmol/L)	1.48 and 1.57 [a]
BSEP	59	7.225 [b]	[^{3}H(G)]TC (0.2 µmol/L)	Cyclosporin A (10 µmol/L)	97
MATE1	NIO	NA	[Biguanidine-^{14}C]metformin (10 µmol/L)	Pyrimethamine (1 µmol/L)	95
MATE2-K	NIO	NA	[Biguanidine-^{14}C]metformin (10 µmol/L)	Pyrimethamine (10 µmol/L)	100
OAT1	NIO	NA	[Adenine-2,8-^{3}H]tenofovir (5 µmol/L)	Probenecid (300 µmol/L)	98
OAT3	NIO	NA	[^{3}H]E3S (1 µmol/L)	Probenecid (500 µmol/L)	98
OCT1	NIO	NA	[Methyl-^{3}H]sumatriptan (10 µmol/L)	Verapamil (300 µmol/L)	100
OCT2	NIO	NA	[Biguanidine-^{14}C]metformin (10 µmol/L)	Verapamil (300 µmol/L)	95

BCRP: breast cancer resistance protein; BSEP: bile salt export pump; E3S: estrone-3-sulfate; HEK: human embryonic kidney; IC_{50}: half-maximal inhibitory concentration; LSC: liquid scintillation counting; MATE: multidrug and toxin extrusion; MDCK: Madin-Darby canine kidney; NA: not applicable; NIO: no interaction observed; OAT: organic anion transporter; OCT: organic cation transporter; Pgp: P-glycoprotein; TC: taurocholate; TRA: total radioactivity.

Data are presented as the mean of triplicate assays.

[a] Efflux ratios are reported for 2 separate experiments.

[b] The bottom was constrained to 0, and the hillslope was constrained to -1.

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

2.6.5.15B 薬物動態試験：薬物相互作用

Test Article: Oveporexton

	Report: [redacted]
	添付資料番号: 4.2.2.6-4
Evaluation of Oveporexton as a substrate of human drug transporters: OATP1B1 and OATP1B3	
Type of Study:	Oveporexton as a substrate of OATP1B1 and/or OATP1B3
Study System:	HEK293 cells
Incubation Time:	1, 5, 10, and 20 minutes at 37°C
Initial Concentration:	1 µmol/L
Analyte:	Oveporexton
Assay:	LC/MS/MS

Substrate Assessment (OATP1B1)						
Accumulation (pmol/mg protein)						
Compound	Conditions		In Transporter Expressing Cells	In Control Cells	Active Transport	Fold Accumulation
	Concentration (µmol/L)	Time (min)				
Oveporexton	1	1	20.4 ± 1.13	18.2 ± 2.83	2.20 ± 3.05	1.12
		5	33.7 ± 2.44	38.6 ± 8.60	-4.88 ± 8.94	0.87
		10	56.1 ± 4.38	47.3 ± 7.71	8.79 ± 8.87	1.19
		20	55.0 ± 2.35	52.1 ± 8.49	2.95 ± 8.81	1.06
Positive Control (Accumulation in CPM)						
$E_2$17βG	1	3	7618 ± 486	368 ± 206	7250 ± 528	20.7
+ rifampicin	50		222 ± 23.4	111 ± 11.4	111 ± 26.0	2.00
Substrate Assessment (OATP1B3)						
Accumulation (pmol/mg protein)						
Compound	Conditions		In Transporter Expressing Cells	In Control Cells	Active Transport	Fold Accumulation
	Concentration (µmol/L)	Time (min)				
Oveporexton	1	1	22.6 ± 2.20	21.0 ± 1.17	1.58 ± 2.49	1.07
		5	41.5 ± 1.93	42.9 ± 3.54	-1.44 ± 4.03	0.97
		10	47.1 ± 10.8	52.1 ± 8.68	-5.02 ± 13.8	0.90
		20	58.2 ± 6.57	61.5 ± 5.83	-3.21 ± 8.78	0.95
Positive Control (Accumulation in CPM)						
CCK-8	1	2	1809± 159	25.0 ± 1.73	1784 ± 159	72.4
+ rifampicin	50		79.0 ± 15.1	20.3 ± 2.89	58.7 ± 15.4	3.89

CCK-8: cholecystokinin-8; CPM: counts per minute; $E_2$17βG: estradiol-17-β-glucuronide; HEK: human embryonic kidney; LC/MS/MS: liquid chromatography with tandem mass spectrometry; n: number; OATP: organic anion transporting polypeptide; SD: standard deviation.
Data are presented as the mean ± SD (n = 3).

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

2.6.5.15C 薬物動態試験：薬物相互作用

Test Article: Oveporexton

		Report: [redacted]
		添付資料番号: 4.2.2.6-6
Evaluation of Oveporexton as an inhibitor of human drug transporters: MDR3, MRP2, MRP3, and MRP4		
Type of Study:	Inhibition of MDR3 by Oveporexton	Inhibition of MRP2, MRP3, and MRP4 vesicular transport by Oveporexton
Study System:	MDCKII cell monolayers transfected with MDR3	HEK293 cells stably transfected with MRP2, MRP3, and MRP4
Incubation Time:	3 hours at 37°C	1.5 minutes (MRP4), 5 minutes (MRP2), 10 minutes (MRP3) at 37°C
Initial Concentration:	0.14, 0.41, 1.23, 3.7, 11.11, 33.33, and 100 µmol/L	0.14, 0.41, 1.23, 3.7, 11.11, 33.33, and 100 µmol/L
Assay:	Bidirectional permeability assay	Vesicular transport assay

Human Transporter Isoform	Maximum % Inhibition	IC_{50} (µmol/L)	Probe Substrate	Positive Control
MDR3	55	NA	Digoxin (1 µmol/L)	Itraconazole (2 µmol/L)
MRP2	NIO	NA	$E_2$17βG (100 µmol/L)	Benzbromarone (200 µmol/L)
MRP3	50	90.47 [a]	$E_2$17βG (10 µmol/L)	MK-571 (150 µmol/L)
MRP4	67	59.18 [a]	DHEAS (0.5 µmol/L)	MK-571 (150 µmol/L)

BSEP: bile salt export pump; DHEAS: dehydroepiandrosterone; $E_2$17βG: estradiol-17-β-glucuronide; HEK: human embryonic kidney; IC_{50}: half-maximal inhibitory concentration; MDCK: Madin-Darby canine kidney; MDR: multidrug resistance protein; MRP: multidrug resistance associated protein; NA: not applicable; NIO: no interaction observed.

Data are presented as the mean of triplicate assays.

Mouse BSEP data included in the report was superseded by human BSEP data and so not summarized here.

[a] Bottom constrained to 0.

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

2.6.5.15D 薬物動態試験：薬物相互作用

Test Article: Oveporexton

	Report: [redacted]
	添付資料番号: 4.2.2.6-5
Inhibitory Effects of Oveporexton on OATP1B1 and OATP1B3 Uptake	
Type of Study:	OATP1B1 and OATP1B3 uptake with and without preincubation
Study System:	[^{3}H]$E_2$17βG (0.1 µmol/L) uptake into OATP1B1 or OATP1B3 expressing HEK293 cells was tested with or without 30 minutes pre-incubation of Oveporexton.
Incubation Time:	2 minutes at 37°C
Initial Concentration:	0, 0.3, 1, 3, 10, 30, and 100 µmol/L
Assay:	LSC

Human Transporter Isoform	IC_{50} (µmol/L)		Probe Substrate	Positive Control	% of Positive Control Without Pre-incubation	% of Positive Control With Pre-incubation
	Without Pre-incubation	With Pre-incubation				
OATP1B1	0.910	0.372	[^{3}H]$E_2$17βG	Rifampicin (10 µmol/L) and cyclosporin A (0.3 µmol/L)	47.3 [a]	4.7 [a]
OATP1B3	37.7	18.0	[^{3}H]$E_2$17βG	Rifampicin (10 µmol/L) and cyclosporin A (0.3 µmol/L)	60.2 [a]	8.6 [a]

$E_2$17βG: estradiol-17-β-glucuronide; HEK: human embryonic kidney; IC_{50}: half-maximal inhibitory concentration; LSC: liquid scintillation counting; OATP: organic anion transporting polypeptide.

[a] The data shown are from the positive control cyclosporin A.

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

該当する試験は実施していない。