

博士学位論文

*In silico* 薬物動態シミュレーションを  
用いた製剤設計への応用研究

加藤 隆史

2021

## 目次

目次.....	1
略号一覧 .....	2
緒言.....	3
第1章 薬物動態モデル及び溶出試験法を組み合わせた難水溶性化合物における吸収性の予測方法の構築.....	7
第1節 序論 .....	7
第2節 材料及び方法.....	8
第3節 結果及び考察.....	13
第4節 小括 .....	22
第2章 生理学的薬物動態モデリングを適用した消化管 P 糖タンパク質の薬物体内動態への影響における定量的解析.....	23
第1節 序論 .....	23
第2節 材料及び方法.....	24
第3節 結果及び考察.....	33
第4節 小括 .....	44
第3章 生理学的薬物動態モデリングを適用した経口固形製剤の溶出試験規格 (Clinically relevant specification (CRS)) 設定方法の構築.....	45
第1節 序論 .....	45
第2節 材料及び方法.....	46
第3節 結果及び考察.....	51
第4節 小括 .....	61
総括.....	62
学術雑誌掲載論文目録.....	64
謝辞.....	65
引用文献 .....	66

### 略号一覧

略号	内容
ACAT	Advanced compartmental absorption and transit
ASF	Absorption scale factor
AUC	Area under the concentration-time curve : 血中濃度-時間曲線下面積
BCS	Biopharmaceutics classification system
BE	Bioequivalence : 生物学的同等性
Caco-2	Human colon carcinoma cells : ヒト小腸様細胞株
CL	Clearance : クリアランス
C <sub>max</sub>	Maximum plasma concentration : 最高血中濃度
CPP	Critical process parameter : 重要工程パラメータ
CQA	Critical quality attribute : 重要品質特性
CRS	Clinically relevant specification
CYP	Cytochrome P450 : チトクローム P-450
CV	Coefficient variation
DDI	Drug-drug interaction : 薬物間相互作用
IVIVC	<i>In vitro/in vivo</i> correlation : <i>in vitro-in vivo</i> 相関
K <sub>p</sub>	Plasma partition coefficients
P-gp	P-glycoprotein : P-糖タンパク質
GMP	Good manufacturing practice
MC	Methylcellulose : メチルセルロース
mdr	Mouse multidrug resistance
NHANES	National health and nutrition examination survey
PEAR	Population estimates for age-related
PBPK	Physiologically based pharmacokinetic : 生理学的薬物速度論
%PE	Percent prediction error
PEG	Polyethylene glycol : ポリエチレングリコール
PK	Pharmacokinetic : 薬物動態
P/O	Predicted-to-observed
PVP	Polyvinylpyrrolidone : ポリビニルピロリドン
PXRD	Powder X-ray diffraction : 粉末 X 線回折
SLS	Sodium lauryl sulfate : ラウリル硫酸ナトリウム
T <sub>max</sub>	Time to maximum plasma concentration

## 緒言

医薬品の製剤開発において目標とする血中濃度-時間曲線、すなわち吸収性を達成するような処方及び製造方法を設計することは临床上の有効性並びに安全性を保証するために重要である。製剤の処方及び製造方法の開発を経て試作された候補製剤は、臨床試験を行うことで有効性並びに安全性を確認する必要がある。また、開発途中や上市後の処方変更や製造方法変更に応じて臨床試験を行う場合があり、特に難水溶性化合物では 1 回の臨床試験で目標とする血中濃度-時間曲線を達成することは容易ではない。そのため、試作製剤の設計と臨床試験を繰り返すことがあり、結果的に上市までに費やすコストや開発期間は増大することとなる。現在、新薬を 1 品目上市するまでには 1000 億円以上のコストと 10 年以上の開発期間が必要と言われているが、多くの臨床試験が必要となれば開発コストはさらに上昇し開発期間も延長する。したがって、製剤開発を効率的かつ適切に進めるためには、より優れた製剤開発システムを適用して候補製剤を設計し、臨床試験での成功確率を高めることが重要である。錠剤やカプセル剤などの経口固形製剤は通常、経口投与後に製剤が崩壊し主薬が溶解することによって消化管内で吸収される。経口固形製剤では通常、溶出試験法を適用した製剤の溶出性が評価されているが、これは生体内 (*in vivo*) での製剤溶出性並びに吸収性を予測するための評価系として有用となる。溶出試験法は製剤の品質試験において溶出試験規格に適合しているかどうかを判定するために行われており、併せて著しい生物学的非同等を防ぐことを目的とした試験方法でもある。溶出試験規格については、経口固形製剤の溶出性が生物学的利用能 (バイオアベイラビリティ) に著しい影響を与える場合、許容できないバイオアベイラビリティを示す製造品を排除し得るような規格を設定し、また、溶出性がバイオアベイラビリティに影響しない場合、临床上許容可能な製造品が適合するような規格を設定することが望ましい。このように、溶出試験法を製剤開発に適用することで消化管内での薬物溶出性を推定し、薬物体内動態をより正確に把握可能となることから、*in vivo* 溶出性を記述できるような様々な溶出試験法が検討されている<sup>1)-17)</sup>。

経口固形製剤のバイオアベイラビリティを予測するための方法として、*in vitro-in vivo* 相関 (IVIVC) モデルが研究されている<sup>13), 14)</sup>。IVIVC モデルは、製剤の *in vitro* 特性 (薬物の溶出率又は量) と関連する *in vivo* 応答 (薬物血中濃度又は吸収量) との関係を表す数数学的予測モデルとして定義されている<sup>18)</sup>。経口固形製剤の溶出試験等の *in vitro* 試験を適用した IVIVC モデルを開発することで、臨床試験から得られた結果の予測、処方設計支援、及び製剤製造における工程管理の支援が可能となる。例えば、非臨床試験や臨床試験で投与さ

れた様々な物理化学的性質を有する薬物の製剤、速放錠や徐放錠などの剤形、及び異なる処方製剤の溶出性と血中濃度-時間曲線に基づき IVIVC モデルが構築されている<sup>19-17)</sup>。近年、製剤のバイオアベイラビリティを考慮した試験法として、臨床試験で投与された製剤の血中濃度-時間曲線と 관련된溶出曲線が得られるような溶出試験法が開発された事例が報告されている<sup>19)-22)</sup>。例えば、Metaxalone 速放錠について、臨床試験から得られた結果を活用し、新たに開発した数理モデルを組み合わせることにより予測精度の高い IVIVC モデルを開発した事例が報告されている<sup>20)</sup>。製剤のバイオアベイラビリティと良好な相関関係を示すような溶出試験法は対象とする薬物の物理学的特性や生理学的特性に依存しているため、様々な溶出試験法又は条件を用いた評価を行うことで最適な IVIVC モデルを開発する必要がある。しかしながら、これまでに開発されている多くの IVIVC モデルは主に製剤の溶出試験法を用いた評価結果に基づき構築されているため、より精度の高い IVIVC モデルを開発するためには消化管内で薬物が溶出した後の吸収、分布、代謝、及び排泄の体内動態の影響についても考慮する必要がある。多くの薬物は消化管、肝臓、及び腎臓等に発現している代謝酵素やトランスポーターの影響により代謝及び排泄されることから、より正確な製剤のバイオアベイラビリティを予測するためにはこれらの影響を考慮した IVIVC モデルを開発する必要がある。P-糖タンパク質 (P-glycoprotein、P-gp) は、様々な薬物を細胞外へ排出するトランスポーターであり、様々な基質及び阻害剤との薬物間相互作用 (Drug-Drug Interaction、DDI) の影響が生じることが知られている<sup>23)</sup>。また、P-gp は脳や腎臓などの臓器に加え、消化管上皮細胞に発現しており、P-gp の基質となる薬物の吸収抑制に関与していることが知られている。消化管上皮細胞に発現している P-gp は、腸細胞から管腔への薬物排泄に重要な役割を果たしており、P-gp の基質となる薬物は、P-gp による排泄を阻害する薬物との併用によってバイオアベイラビリティが向上することが知られている<sup>24)-27)</sup>。近年、DDI に関する規制文書が欧州医薬品庁、米国食品医薬品局、及び医薬品医療機器総合機構によって公開されている<sup>28)-31)</sup>。これら規制文書には、P-gp を介した DDI 評価の重要性について記されており、DDI の影響に関する *in vitro* 及び *in vivo* 評価を行うことが推奨されている。したがって、開発過程において開発化合物の DDI 評価を行うためには、頑健な定量的評価方法を確立することが望ましい<sup>32)</sup>。

近年、薬物の吸収、分布、代謝、及び排泄の影響を考慮した吸収性予測モデルとして生理学的薬物速度論 (Physiologically based pharmacokinetics、PBPK) モデルが検討されている。PBPK モデルは生理学的、物理化学的、及び生化学的な要因を踏まえたメカニズムに基づい

た数理的薬物動態モデルとして知られている。PBPK モデルは、これらのメカニズムに基づくモデル構造及び入力因子により表現され、薬物の吸収、分布、代謝、及び排泄を考慮した薬物等の組織内及び血中濃度推移の動的予測を可能とする。PBPK モデルを適用したヒトの薬物体内動態の予測結果は、前臨床試験、臨床試験、及び規制当局への申請にも適用されている<sup>33)-37)</sup>。また、上記の規制文書には DDI の影響を定量的に予測するための PBPK モデルの有用性についても記されている<sup>38)-41)</sup>。PBPK モデルを適用した吸収性予測により特定の臨床試験実施の必要性、実施時期、及び方法に関する意思決定に対して有用な情報が提供できる可能性があり、PBPK モデルを適用した臨床試験におけるバイオアベイラビリティの予測事例が報告されている<sup>42)-45)</sup>。例えば、Repaglinide や Cyclosporine について肝臓トランスポーターの評価結果を含む *in vitro* データを用い PBPK モデルを構築することで、臨床試験における DDI を精度良く記述できた<sup>46),47)</sup>。また、溶出試験法を用いて得られた経口固形製剤の溶出曲線を *in vivo* 溶出性と仮定し、これを PBPK モデルに組み込むことで溶出性の異なる製剤が吸収性に与える影響について予測された事例も報告されている<sup>48),49)</sup>。

以上より、優れた製剤開発システムとして経口固形製剤の非臨床及び臨床試験から得られた結果を精度良く記述し、これらを予測できるような PBPK モデルの構築及び溶出試験法の開発により、溶出性の異なる製剤が吸収性に与える影響について精度良く予測できる、製剤設計に応用可能な新たな吸収性の予測方法となる可能性が期待される。また、臨床試験から得られた結果を活用した溶出試験法及び PBPK モデルを開発することにより生物学的同等性 (Bioequivalence, BE) を判定可能な溶出試験規格 (Clinically relevant specification (CRS)) が設定できる可能性も期待される。

本論文では、難水溶性化合物を対象とした経口固形製剤の薬物動態 (PK) モデリング及び溶出試験法を組み合わせた新規の吸収性の予測方法の開発と製剤設計への適用を試みた。また、臨床試験から得られた結果に基づき構築した PBPK モデルの適用による、消化管 P-gp が体内動態に及ぼす影響に関する新規の定量的解析方法について検討した。さらに、臨床試験から得られた結果を活用した PBPK モデルの適用により、BE を判定可能な新たな溶出試験規格の設定方法について検討した。

第 1 章では、難水溶性化合物を対象とした経口製剤のバイオアベイラビリティの予測方法を開発し、本方法を製剤設計に応用することを目的に、PK モデリング及び溶出試験法を組み合わせた PK の予測方法について検討した。難水溶性化合物の CS-758 をモデル化合物に用い、ラットへの CS-758 溶液の経口投与後の血中濃度-時間曲線に基づき、PK モデルを

構築した。溶出試験法として日本薬局方一般試験法溶出試験法（パドル法）を適用し、CS-758 懸濁液の溶出性を評価した。CS-758 懸濁液を用いて様々な溶出試験条件を検討し、得られた溶出曲線を構築した PK モデルに組み込むことで、懸濁液のラットへの経口投与後の血中濃度-時間曲線を調べた。さらに、選定した溶出試験法及び PK モデルを用い、CS-758 及びポリビニルピロリドン（PVP）を重量比 1:1 で調製した固体分散体の吸収性を予測することで溶出性の異なる製剤の吸収性が予測可能か検証した。

第 2 章では、モデル化合物としてエドキサバントシル酸塩水和物（以下、エドキサバン）を用い、消化管に発現している P-gp が経口固形製剤の吸収性に与える影響を定量的に解析することを目的に、PBPK モデルを構築しシミュレーションによる解析を行った。エドキサバンの物理化学的特性及び生理学的特性、非臨床試験、及び臨床試験に関する情報に基づき、消化管 P-gp の影響を組み込んだ PBPK モデルを構築した。構築した PBPK モデルを用いて消化管 P-gp の有無がエドキサバンの吸収性に与える影響を評価した。

第 3 章では、BE 試験結果を活用した PBPK モデリングにより CRS の設定手法を検討した。評価には難水溶性のモデル化合物を用い、BE 試験で投与された 3 種のモデル製剤を用いた。はじめに、モデル化合物の物理化学的特性及び生理学的特性、モデル化合物の臨床試験から得られた結果に基づき PBPK モデルを構築した。次に、溶出試験法の選定を目的に、様々な溶出試験条件にてスクリーニング試験を行った。さらに、モデル製剤の吸収性が PBPK モデルを用いて予測可能か検証することを目的に、得られた 3 種のモデル製剤の溶出曲線を PBPK モデルに組み込むことによって吸収性を調べた。最後に、生物学的に非同等となる可能性がある製造品を排除するための溶出試験規格、すなわち CRS を設定することを目的に、溶出試験法の規格時点及びその時点における規定された有効成分の溶出率（Q 値）について検討した。

## 第1章 薬物動態モデル及び溶出試験法を組み合わせた難水溶性化合物における吸収性の予測方法の構築

### 第1節 序論

近年、溶出試験によって得られた経口製剤の溶出曲線を PK モデルに組み込むことによる新たな IVIVC モデルを適用した吸収性の予測が開発されている。PK モデルとして Advanced Compartmental Absorption and Transit (ACAT) モデルが知られているが、本モデルを適用することで製剤の溶出、消化管からの吸収、小腸における代謝、及び担体輸送などの消化管に関連する多くの要素を考慮した複雑な生体内での薬物挙動を *in silico* で表現することが可能となる<sup>50)</sup>。これまでに溶解性が良好な Biopharmaceutics Classification System (BCS) クラス 1 又は 3 相当の化合物を用い製した速放性及び徐放性製剤の溶出曲線を PK モデルに組み込むことで、これら製剤の吸収性が予測されている<sup>48),49)</sup>。一方で、難水溶性の BCS クラス 2 又は 4 相当の化合物については吸収性の予測が困難とされている。したがって、本予測方法が難水溶性化合物に適用することができれば、難水溶性化合物を用いた製剤処方及び製造方法の変更が吸収性に与える影響についても予測することが可能となる。一方で、本予測方法の確立に向けては予測精度について考慮する必要があり、本予測方法の信頼性を確保することを目的とした予測精度の判断基準を設定することが重要となる。

本章では、経口製剤の設計に適用可能となる吸収性の予測方法の構築を目的に、難水溶性化合物を用いた経口製剤を用いて、ラットの PK モデリング及び溶出試験法を組み合わせた新規の吸収性の予測方法の開発と製剤設計への適用を試みた。本研究では、難水溶性化合物である CS-758 をモデル化合物として使用した。



## 第 2 節 材料及び方法

### 1. 材料

CS-758 は第一三共株式会社製を使用した。メチルセルロース (MC) #400 及びラウリル硫酸ナトリウム (SLS) はナカライテスク株式会社製を、リン酸緩衝液である溶出試験第 2 液 (JP2 液) は関東化学株式会社製を、ポリエチレングリコール (PEG) 400 及びポリソルベート 80 は Sigma-Aldrich 製を、ポリビニルピロリドン (PVP) K-30 は BASF ジャパン株式会社製を使用した。メタノールは特級品として、和光純薬株式会社製を使用した。

### 2. 方法

#### 2.1 CS-758 溶液及び懸濁液の調製

CS-758 溶液は、10 mg の CS-758 原薬を PEG400/ポリソルベート 80 (1:1 (w/w)) 溶液 4 mL に完溶させることにより調製した。CS-758 懸濁液は、10 mg の CS-758 原薬を 10 mL の 0.5%MC 溶液に均一に懸濁させることにより調製した。

#### 2.2 スプレードライ法を適用した CS-758 固体分散体の調製

CS-758 溶液の経口投与によるラット PK 試験の結果、ラットのバイオアベイラビリティは約 53%であった<sup>51)</sup>。難水溶性化合物の溶解性を改善させるための実用的かつ汎用的な調製法として固体分散体が開発されており<sup>52)</sup>、難水溶性化合物の CS-758 を固体分散体とすることでバイオアベイラビリティを向上させることが期待される。

CS-758 固体分散体はスプレードライ法により調製した。はじめに、CS-758 原薬及び PVP K-30 を質量比 1:1 にて、乳鉢を用いて混合することで、物理混合末を作製した。次に、物理混合末をメタノールに溶解させ、スプレードライヤー B-290 (BÜCHI Labortechnik AG 製) を用いて噴霧乾燥することで CS-758 固体分散体を調製した。噴霧乾燥工程では製造条件として、給気温度を 100°C に、排気温度を 60°C に、アスピレーターを 100%に、スプレー液速度を 15 mL/min にそれぞれ設定した。

#### 2.3 粉末 X 線解析による CS-758 固体分散体の同定

調製した固体分散体中の CS-758 原薬の結晶化度は粉末 X 線回折 (PXRD) により同定した。試料の X 線測定は株式会社リガク製の粉末 X 線回折装置 Rint2200/PC を用い、室温で測定した。測定は 40 kV/40 mA の Cu ターゲットの K $\alpha$ 線を用い平行ビーム法を用いて、5°

から 40°(2θ)まで 4°/min の速度で測定した。

CS-758 原薬、CS-758 原薬と PVPK-30 の物理混合末、及び CS-758 固体分散体の粉末 X 線回折パターンを Figure 1-1 に示す。PVP は結晶性を持たない高分子であるため物理混合末の粉末 X 線回折パターンに現れた回折ピークはすべて CS-758 原薬由来のピークである。スプレードライ法で調製した CS-758 固体分散体の粉末 X 線回折パターンからは CS-758 原薬由来の回折ピークは観測されずハローパターンを示した。よって、固体分散体中の CS-758 原薬は非晶質であることが同定された。

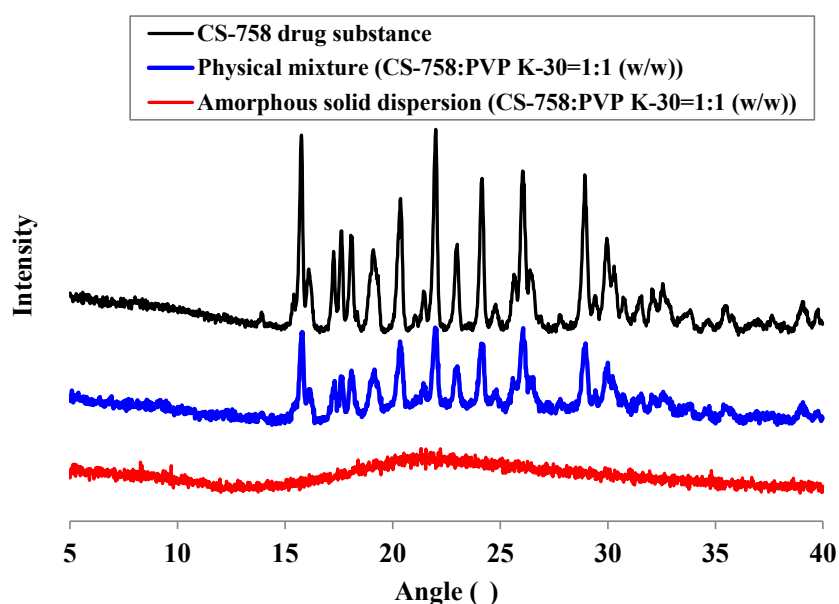


Figure 1-1 PXRD pattern of unprocessed CS-758 drug substance, physical mixture of CS-758 drug substance and PVP K-30, and CS-758 amorphous solid dispersion.

## 2.4 溶出試験

溶出試験法は、CS-758 溶液、懸濁液、及び固体分散体を、日本薬局方一般試験法溶出試験法（パドル法）により、試験液 500 mL を用いパドル回転数 75 回転で試験を行った。溶液、懸濁液、及び固体分散体中に CS-758 はそれぞれ 125 mg が含まれている。溶出試験には溶出試験器（富山産業株式会社製）を、溶出量の定量には紫外可視分光光度計（株式会社島津製作所製）を用いた。試験液は pH 6.9 相当の JP2 液又は SLS をそれぞれ 0.1、0.15、及び 0.2 w/v% を含む JP2 液を用いた。溶出試験機の各ベッセルに 500 mL の試験液を加えベッセル内温度は 37°C に設定した。それぞれの試料は n = 3 で試験を実施し、5、10、15、20、30、45、60、90、120、150、180、210、240、270、300、330、及び 360 分後、自動サンプリ

ング装置にて試験液を孔径 0.45  $\mu\text{m}$  のメンブランフィルターでろ過し試料溶液とした。試料溶液は吸光度測定後、自動的に試験槽内に戻された。

## 2.5 ラットを用いた薬物体内動態試験

CS-758 溶液は CS-758 原薬 10 mg を PEG400 とポリソルベート 80 との質量比 1 対 1 の混合溶液 4 mL に完溶させた後、生理食塩水を加えて 10 mL とした。CS-758 懸濁液は CS-758 原薬 10 mg を 10 mL の 0.5%MC 溶液中に均一に懸濁させることで調製した。CS-758 固体分散体懸濁液は CS-758 固体分散体 20 mg を 10 mL の 0.5%MC 溶液に均一に懸濁させることで調製した。CS-758 溶液及び懸濁液は雄性ラットに絶食下にて 5 mg/5 mL/kg の用量で単回経口投与した。また、CS-758 固体分散体懸濁液は雄性ラットに絶食下にて 10 mg/5 mL/kg の用量で単回経口投与した。単回経口投与ではシリンジを連結させたカテーテルを留置し試料を直接胃内に投与した。投与後は水を含むシリンジに切り替え、飲水させた。ヘパリン処理したシリンジを用いて、投与前及び投与後 0.5、1、2、4、8、24 時間にて頸静脈から血液を採血した。採取した血液は遠心分離して血漿を採取し LC-MS/MS を用いて CS-758 の未変化体濃度を測定した。

## 2.6 薬物動態モデルの構築

薬物動態解析・製剤設計ソフトウェア GastroPlus (Simulations Plus 製) を用い PK モデルを構築した。GastroPlus には ACAT モデルが組み込まれており<sup>53)</sup>、本モデルを適用することにより CS-758 の血中濃度-時間曲線を推定した。CS-758 の PK モデルは、CS-758 の物理化学的特性、生理学的特性、及び溶液経口投与後のラット PK 試験結果に基づき構築した。CS-758 の PK モデル構築に用いた入力因子を Table 1-1 に示す。CS-758 の物理化学的特性及び PK パラメータの推定値は、GastroPlus に内蔵されているモジュールである ADMET Predictor を用いて算出した。ADMET Predictor は化合物の経口吸収に関連する 150 以上もの吸収、分布、代謝、排泄、及び毒性に関連する物性を化合物の分子構造から高精度かつ高速に予測することができるモジュールである<sup>54)</sup>。PK モデル構築では、GastroPlus の Compound tab 内の Dosage form として IR-Solution を選択し Gut-physiology tab 内の Physiology 及び ASF model として Rat-Physiological-Fasted 及び Opt logD Model SA/V 6.1 を選択した。Table 1-1 に示した物理化学的特性及び PK パラメータの内、分配係数 (Log P)、酸解離定数 (pKa)、膜透過係数 ( $P_{\text{eff}}$ )、全血液中薬物濃度/血漿中薬物濃度比 (Blood/plasma concentration ratio)、及び血漿

タンパク非結合率 (Fraction unbound in plasma) は CS-758 の分子構造に基づき ADMET Predictor により推定された。CS-758 の溶解度は溶解度試験により得られた値を採用した。PK モデルは2-コンパートモデルを採用し、クリアランス、分布容積、及び消失速度定数 ( $K_{12}$  及び  $K_{21}$ ) のパラメータをラットへの溶液投与後の血中濃度-時間曲線と一致するよう GastroPlus に内蔵されているモジュールである Optimization module により最適化した。その他のパラメータは GastroPlus に内蔵されているデフォルト設定されている初期値を採用した。

Table 1-1 Physicochemical and pharmacokinetic parameters for CS-758 used for construction of a PK model.

Input parameter	Value
Molecular weight	543
Log P	4.74 <sup>b</sup>
pKa	3.28 <sup>b</sup>
Reference solubility (mg/mL)	0.00003 at pH4.0
Solubility (mg/mL) <sup>a</sup>	0.00003 at pH1.2 0.00003 at pH4.0 0.00005 at pH6.9
Simulated $P_{eff}$ (cm/sec)	2.46 <sup>b</sup>
Blood/plasma concentration ratio	0.76 <sup>b</sup>
Fraction unbound in plasma	0.24 <sup>b</sup>
Vc (L/kg)	4.08 <sup>c</sup>
CL (L/hr/kg)	0.2 <sup>c</sup>
$k_{12}$ (1/hr)	0.11 <sup>c</sup>
$k_{21}$ (1/hr)	0.012 <sup>c</sup>

Vc: volume of central compartment

CL: clearance

<sup>a</sup> Used for "Solubility vs pH Data (.spd)" in GastroPlus

<sup>b</sup> Calculated by ADMET predictor

<sup>c</sup> Optimized by GastroPlus using rat plasma concentration-time profiles after orally administered with CS-758 solution

構築した PK モデルに溶出試験を用いて得た試料の溶出曲線を組み込み、これを *in vivo* 溶出挙動と仮定することで時間-血中濃度を推定した。GastroPlus の Compound tab 内の Dosage form として CR-Dispersed を選択することにより溶出曲線を組み込み、時間-血中濃度を推定した。*In vivo* 溶出挙動は以下に示す Weibull 関数による計算式を用いて推定した<sup>55),56)</sup>。

$$\%Dose\ Released = Max \times [1 - f \times \exp(-(t - T_{lag})^b / A)]$$

Max: percentage of maximum dissolution release

$T_{lag}$ : lag time for dissolution

F: fraction of dissolution profile

T: time

A: the time scale factor

b: the shape factor

## 2.7 薬物動態モデルの予測精度の評価

構築した PK モデルの予測精度は Absolute percent prediction error (%PE) を指標として評価した。 %PE は FDA ガイダンスを参考に設定した<sup>18)</sup>。本ガイダンスに基づき、評価に用いたサンプルの最高血中濃度 ( $C_{max}$ ) 及び血中濃度-時間曲線下面積 (AUC) の %PE が 15%以下を満足した時、予測精度は良好と判断した。以下に %PE の計算式を示す。

$$\%PE = [(Observed\ value - Predicted\ value) / Observed\ value] \times 100$$

### 第3節 結果及び考察

#### 1. CS-758 の PK モデル構築

CS-758 溶液のラットへの経口投与後の実測及び予測の血中濃度-時間曲線を Figure 1-2 に、 $C_{max}$ 、 $AUC_{0-24}$ 、 $T_{max}$  の実測値と予測値、及び%PE を Table 1-2 に示す。その結果、Figure 1-2 に示したように、実測及び予測の血中濃度-時間曲線は同様に求めることができた。また、 $C_{max}$  及び  $AUC_{0-24}$  の%PE はそれぞれ 6%及び 1%であり、予測精度の判定基準として設定した 15%以下を満足した。よって、構築した PK モデルはクリアランス、分布容積、及び消失速度定数の最適化により良好な予測精度が示された。したがって、構築した PK モデルは溶出曲線を PK モデルに組み込むことによる血中濃度-時間曲線の推定に適用可能と判断した。

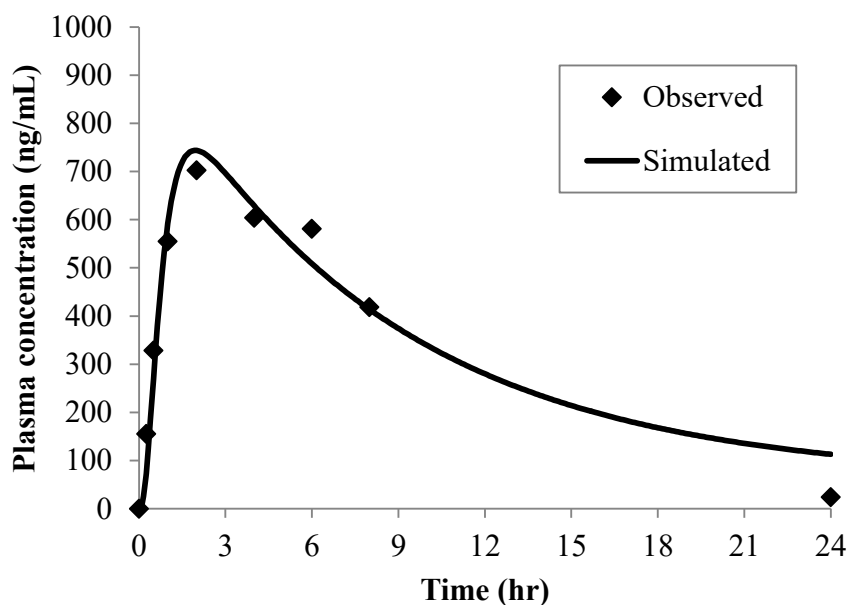


Figure 1-2 Observed and simulated rat plasma concentration-time profiles after orally administered with CS-758 solution.

The simulated profile (solid line) was obtained using ACAT model based on the physicochemical and pharmacokinetic properties, and the mean observed rat plasma concentration-time profiles (closed diamond) after orally administered with CS-758 solution ( $n = 3$ ).

Table 1-2  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-24}$ , and  $T_{max}$  predicted from a simulated rat  $C_p$ -time profile and those calculated from a mean observed rat  $C_p$ -time profile after orally administered with CS-758 solution (n=3). %PEs of  $C_{max}$  and  $AUC_{0-24}$  were calculated based on the observed and simulated data.

	Observed <sup>a</sup> (n = 3)	Simulated	Absolute percent prediction error (%PE)
$C_{max}$ (ng/mL)	703	744	6
$AUC_{0-24}$ (ng/mL·hr)	7963	7907	1
$T_{max}$ (hr)	2	2	-

<sup>a</sup> Calculated by GastroPlus

%PE was evaluated as a reference of Guidance for Industry, Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of *In Vitro/In Vivo* Correlations

## 2. CS-758 懸濁液の吸収性予測及び溶出試験条件の検討

CS-758 の血中濃度-時間曲線を推定可能な溶出試験法の選定を目的に、CS-758 懸濁液を用いて様々な溶出試験条件を検討した。溶出試験により得られた CS-758 懸濁液の溶出曲線を構築した PK モデルに組み込むことにより CS-758 懸濁液のラットへの経口投与後の血中濃度-時間曲線を推定した。溶出試験法の検討では試験液として JP2 液又は SLS をそれぞれ 0.1、0.15、及び 0.2% を含む JP2 液を用いた。SLS は界面活性剤として用いられる添加剤であり、難水溶性化合物の溶出性を向上させることを目的に溶出試験液に添加されることがある。Table 1-1 に示したように、pH 6.9 のリン酸緩衝液を用いた場合、CS-758 原薬の溶解度は 0.05 µg/mL と極めて低いことが明らかとなっていることから本検討では SLS を添加した試験液を用いた。JP2 液及び SLS をそれぞれ 0.1、0.15、及び 0.2% を含む JP2 液を用いたパドル法による CS-758 懸濁液の平均溶出曲線を Figure 1-3 に示す。その結果、SLS を含まない JP2 液では 360 分時点の CS-758 懸濁液の平均溶出率が約 1% と極めて低い値を示した。一方、試験液への SLS 添加量が増えると CS-758 の溶出性が向上し、0.2% の SLS を含む JP2 液を用いた場合、360 分時点の CS-758 懸濁液の平均溶出率として約 23% を示した。

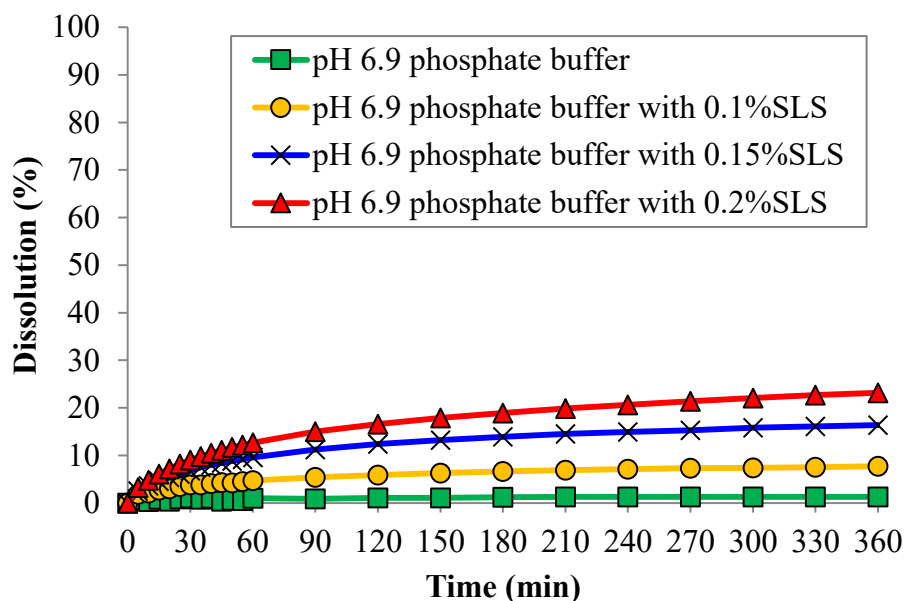


Figure 1-3 Mean dissolution profiles (n=3) for CS-758 suspension using USP apparatus II in pH 6.9 phosphate buffer with various concentration of SLS (0, 0.1, 0.15, and 0.2%).

500 mL of dissolution media was filled in vessels and the media in the vessel were kept at 37°C. Stirring speed of paddle was set at 75 rpm. The dissolution testing was conducted using 125 mg of CS-758 drug substance for all dosage forms.

溶出試験液を用いて得られたそれぞれの平均溶出曲線を PK モデルに組み込むことで、CS-758 懸濁液のラットへの経口投与後の血中濃度-時間曲線と一致するような溶出試験条件を探索した。2.6 項に示した Weibull 関数による計算式に基づき、Weibull 関数で表現される各入力因子の値がそれぞれの平均溶出曲線と一致するよう GastroPlus を用いて最適化した。JP2 液及び SLS を 0.1、0.15、及び 0.2% を含む JP2 液を用いた平均溶出曲線から算出された Weibull 関数の入力因子の値を Table 1-3 に示す。Weibull 関数により推定された溶出曲線は *in vivo* 溶出曲線と仮定され、これを PK モデルに組み込むことにより、CS-758 懸濁液の血中濃度-時間曲線を推定した。また、CS-758 懸濁液の血中濃度-時間曲線から得られた  $C_{max}$  及び AUC に基づき %PE を評価することで、最も予測精度の良好な溶出試験条件を調べた。



Table 1-3 Weibull parameters fitted to the mean dissolution profiles of CS-758 suspension in pH 6.9 phosphate buffer) with various concentration of SLS.

SLS concentration in pH6.9 phosphate buffer (w/v%)	Parameter for Weibull function				
	Max	T <sub>lag</sub>	f	A	b
0	73.162	0	1	83.482	0.25097
0.1	9.2416	0	1	1.4060	0.51395
0.15	17.732	0	1	1.3093	0.65299
0.2	27.122	0	1	1.6133	0.61828

Max: Percentage of maximum release

T<sub>lag</sub>: Lag time

f: Fraction

A: Time scale factor

b: Shape factor

ラットへの CS-758 懸濁液の経口投与後における実測及び予測の血中濃度-時間曲線を Figure 1-4 に、C<sub>max</sub>、AUC<sub>0-24</sub>、及び T<sub>max</sub> の実測値と予測値、及び%PE を Table 1-4 に示す。その結果、構築した PK モデルに 0.15%SLS を含む JP2 液を用いた平均溶出曲線を組み込んで求めた場合に C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>0-24</sub> の%PE がそれぞれ 4%及び 0.5%と最も良好な予測精度を有することが明らかとなった。一方、その他の試験液を用いた平均溶出曲線を組み込んで血中濃度-時間曲線を求めた場合は C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>0-24</sub> の%PE はともに 30%以上であり、%PE の判定基準を満たさなかった。本結果から、CS-758 懸濁液の経口投与後の血中濃度-時間曲線の予測精度が最も良好な溶出試験条件として 0.15%の SLS を含む JP2 液 500 mL 及びパドル回転数 75 回転であることが明らかとなった。本試験条件を用いて CS-758 懸濁液の溶出曲線を求めた場合、360 分時点の平均溶出率が約 16%と低値を示し試験時間内に主薬が完溶しなかったが、CS-758 懸濁液の血中濃度-時間曲線を推定可能な試験条件であることが考えられた。また、CS-758 は難水溶性化合物であることから、本結果により懸濁液中の CS-758 原薬は消化管内では完全に溶出していない可能性が示唆された。本検討で界面活性剤として溶出試験液に添加した SLS はラット等の胃液や腸液の成分として含まれていないが、溶出試験条件として SLS を添加することにより CS-758 懸濁液の血中濃度-時間曲線が推定可能となることが明らかとなった。

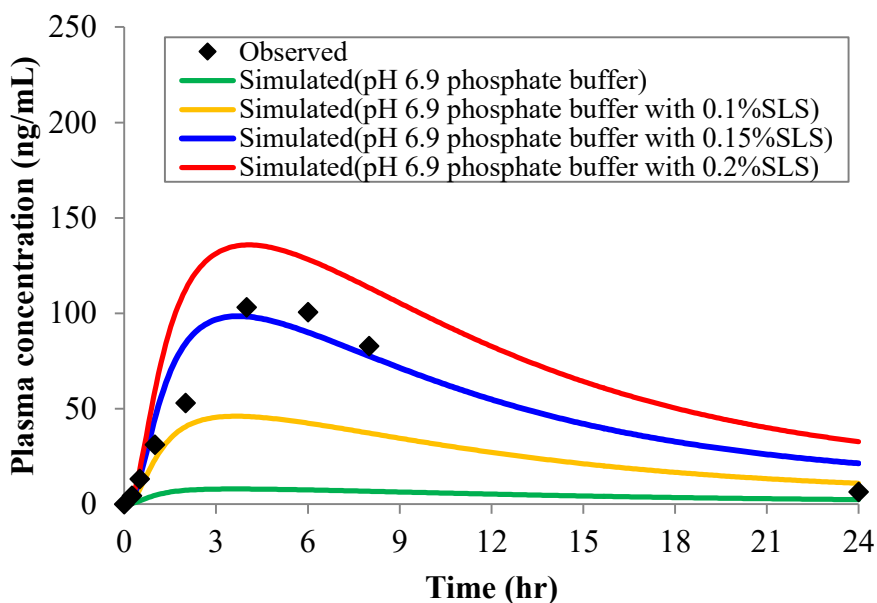


Figure 1-4 Simulated rat plasma concentration-time profiles after orally administered with CS-758 suspension using Weibull parameters fitted to the dissolution profiles in pH 6.9 phosphate buffer with various concentration of SLS (0, 0.1, 0.15, and 0.2%).

The rat plasma concentration-time profiles of CS-758 suspension were predicted using the integrated PK model into evaluated in vitro dissolution profiles as shown in Figure 1-3. The rat plasma concentration-time profiles of CS-758 suspension are shown as simulated profiles (solid lines) and a mean observed profile (closed diamond, n=3).

Table 1-4  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-24}$ , and  $T_{max}$  predicted from simulated rat plasma concentration -time profiles using dissolution data in pH 6.9 phosphate buffer with various concentration of SLS and those calculated from a mean observed  $C_p$ -time profile after orally administered with CS-758 suspension (n=3). %PEs of  $C_{max}$  and  $AUC_{0-24}$  were calculated based on the observed and simulated data.

	Observed <sup>a</sup> (n = 3)	Without SLS		0.1% SLS		0.15% SLS		0.2% SLS	
		Simulated	Absolute percent prediction error (%PE)	Simulated	Absolute percent prediction error (%PE)	Simulated	Absolute percent prediction error (%PE)	Simulated	Absolute percent prediction error (%PE)
$C_{max}$ (ng/mL)	103	7.9	92	46	55	99	4	136	32
$AUC_{0-24}$ (ng/mL·hr)	1315	120	91	638	51	1309	0.5	1903	45
$T_{max}$ (hr)	4	4	-	4	-	4	-	4	-

<sup>a</sup> Calculated by GastroPlus

%PE was evaluated as a reference of Guidance for Industry, Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of *In Vitro/In Vivo* Correlations

以上より、PK モデルを用いることによってラットへの CS-758 懸濁液の経口投与後の血中濃度-時間曲線を推定できる、良好な予測精度を示す溶出試験条件が探索できた。本結果に基づき、選定した溶出試験条件を用いて得られた溶出曲線を PK モデルに組み込むことで CS-758 懸濁液と異なる溶出性を示す製剤の血中濃度-時間曲線を精度良く推定できる可能性が示唆された。

### 3. CS-758 固体分散体懸濁液の吸収性予測による PK モデルの妥当性の検証

構築した PK モデルを用い、選定した溶出試験条件を用いて得られた CS-758 固体分散体懸濁液の溶出曲線を組み込むことでラットへの吸収性が予測可能か検証した。0.15%SLS を含む JP2 液を用いたパドル法による CS-758 懸濁液及び固体分散体懸濁液の平均溶出曲線を Figure 1-5 に示す。その結果、CS-758 固体分散体懸濁液の 360 分時点の平均溶出率は約 47% であり、CS-758 懸濁液の平均溶出率と比較して溶出性が向上することが明らかとなった。これは、固体分散体中の CS-758 が非晶質として存在しており結晶の溶解度を超える過飽和を示したことが理由と考えられた。

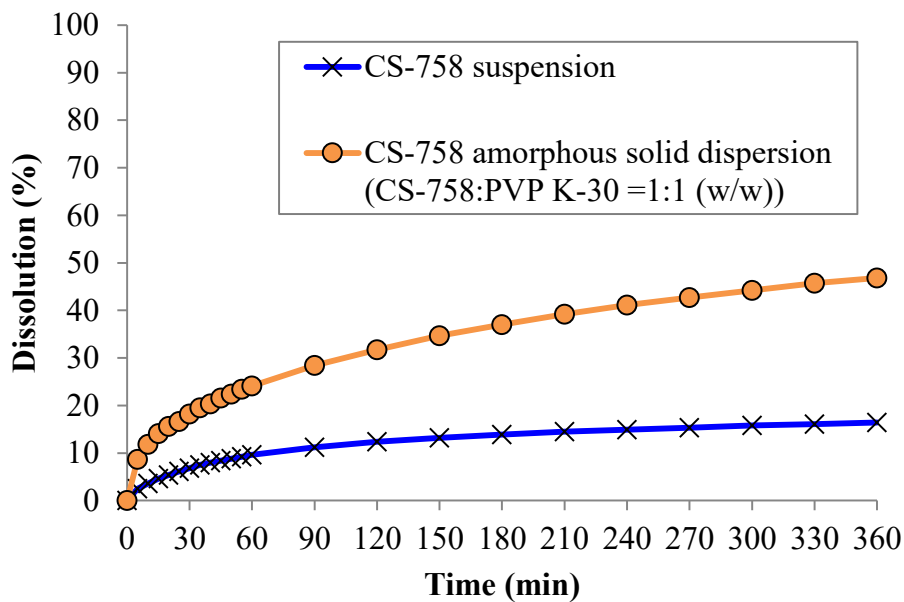


Figure 1-5 Mean dissolution profiles (n=3) of CS-758 suspension (cross) and amorphous solid dispersion (closed circle) in pH 6.9 phosphate buffer with 0.15%SLS.

500 mL of dissolution medium was filled in vessels and the medium in the vessel was kept at 37°C. Stirring speed of paddle was set at 75 rpm. The dissolution testing was conducted using 125 mg of CS-758 drug substance for all dosage forms.

本結果に基づき、構築した PK モデルに CS-758 固体分散体懸濁液の溶出曲線を組み込むことにより固体分散体の吸収性を推定した。CS-758 固体分散体懸濁液の平均溶出曲線に基づき最適化された Weibull 関数の入力因子の値を Table 1-5 に示す。ラットへの CS-758 懸濁液及び固体分散体懸濁液の経口投与後の実測及び予測の血中濃度-時間曲線を Figure 1-6 に、 $C_{max}$ 、 $AUC_{0-24}$ 、及び  $T_{max}$  の実測値と予測値、及び%PE を Table 1-6 に示す。CS-758 固体分散体懸濁液の  $C_{max}$  及び  $AUC_{0-24}$  は CS-758 懸濁液と比べて約 3 倍高い値を示し吸収性が向上することが明らかとなった。PK モデルを用いて推定した CS-758 固体分散体懸濁液の  $C_{max}$  及び  $AUC_{0-24}$  が実測と一致するかどうかを検証することを目的に%PE による予測精度を評価した。その結果、Table 1-6 に示したように PK モデルに 0.15%SLS を含む JP2 液を用いたパドル法による平均溶出曲線を組み込み CS-758 固体分散体懸濁液の血中濃度-時間曲線を求めた場合に、実測の曲線とほぼ一致した。また、 $C_{max}$  及び  $AUC_{0-24}$  の%PE がそれぞれ 9% 及び 11%と良好な予測精度を有することが明らかとなった。したがって、PK モデルに選定

した溶出試験法を用いて得られた溶出曲線を組み込むことにより CS-758 懸濁液のみならず CS-758 固体分散体懸濁液の吸収性も精度良く予測できたことから、構築した PK モデルの妥当性が検証された。本研究で検討した PK モデル及び溶出試験法を組み合わせた吸収性の予測方法は様々な製剤の吸収性を精度良く予測可能となることが考えられた。

Table 1-5 Weibull parameters fitted to a mean dissolution profile of CS-758 amorphous solid dispersion in pH 6.9 phosphate buffer with 0.15% SLS.

Parameter for Weibull function				
Max	T <sub>lag</sub>	f	A	b
100	0	1	3.5953	0.46025

Max: Percentage of maximum release

T<sub>lag</sub>: Lag time

f: Fraction

A: Time scale factor

b: Shape factor

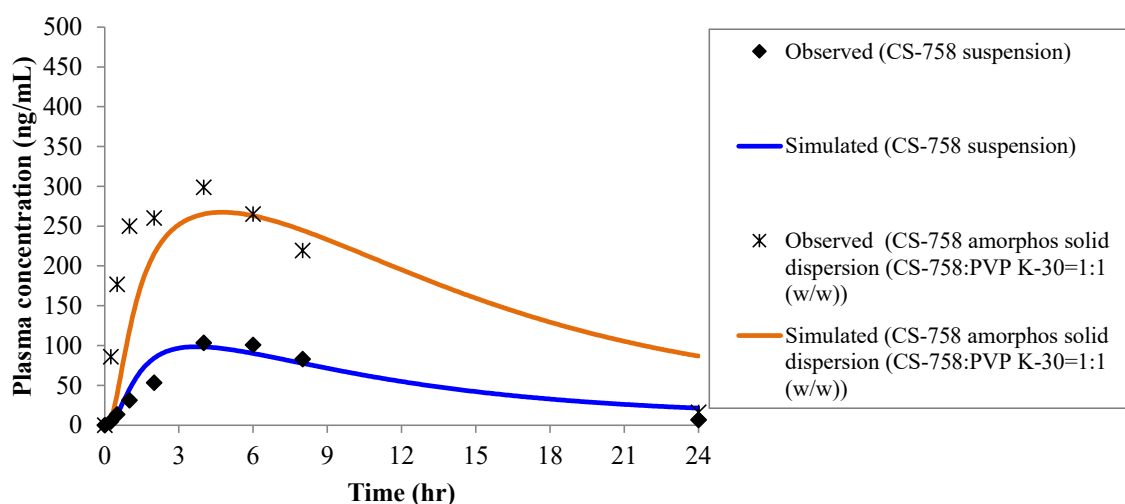


Figure 1-6 Simulated (plots) and mean observed (solid lines) rat plasma concentration-time profiles after orally administered with CS-758 suspension and amorphous solid dispersion.

The rat plasma concentration-time profiles of CS-758 suspension and amorphous solid dispersion were predicted using the integrated PK model into evaluated dissolution profiles as shown in Figure 1-5. The rat plasma concentration-time profiles of CS-758 suspension and amorphous solid dispersion are shown as simulated profiles (blue and orange solid lines) and mean observed profiles (closed diamond and cross, n = 3).

Table 1-6  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-24}$ , and  $T_{max}$  predicted from a simulated rat  $C_p$ -time profile and those calculated from a mean observed rat  $C_p$ -time profile after orally administered with CS-758 amorphous solid dispersion (n = 3). %PEs of  $C_{max}$  and  $AUC_{0-24}$  were calculated based on the observed and simulated data.

	Observed <sup>a</sup>	Simulated	Absolute percent prediction error (%PE)
$C_{max}$ (ng/mL)	299	267 <sup>b</sup>	11
$AUC_{0-24}$ (ng/mL·hr)	3893	4239 <sup>c</sup>	9
$T_{max}$ (hr)	4	5	-

<sup>a</sup> Calculated by GastroPlus

<sup>b</sup> 2.7 times for simulated  $C_{max}$  for CS-758 suspension

<sup>c</sup> 3.2 times for simulated  $AUC_{0-24}$  for CS-758 suspension

これまでに PK モデル及び溶出試験法を組み合わせた吸収性の予測方法により BCS クラス 1 化合物を対象とした徐放性製剤の吸収性を予測した事例が報告されている<sup>48)</sup>。また、同様の方法により BCS クラス 3 化合物の吸収性を予測し、有効性及び安全性の観点で許容可能な血中濃度-時間曲線の範囲を推定することで臨床試験の免除、すなわち Biowaiver が可能な溶出曲線範囲について提案した事例が報告されている<sup>49)</sup>。これらの報告では PK モデルを適用した吸収性の予測方法は溶解性が良好な BCS クラス 1 又は 3 化合物に対して適用可能な方法であることと考察されている。本研究では、PK モデル及び溶出試験法を組み合わせた吸収性の予測方法を提案し、難水溶性化合物の CS-758 の吸収性を精度良く推定できたことから、難水溶性化合物の BCS クラス 2 及び 4 にも応用可能な方法であることが考えられた。なお、本検討に基づき構築した吸収性の予測方法は化合物の物理化学的特性、生理学的特性、及び血中濃度-時間曲線等の PK データの情報に応じて様々な化合物に適用可能と考えられる。FDA ガイダンスでは従来の IVIVC モデルは溶出性の異なる 2 種類以上の製剤を用い、これら製剤の吸収性を推定可能か評価する必要がある、望ましくは 3 種類以上の溶出性の異なる製剤を用いるよう推奨されている<sup>18)</sup>。一方、今回検討した吸収性の予測方法により CS-758 懸濁液のような 1 種類の製剤の溶出曲線に基づき吸収性が推定可能となることから、従来の IVIVC モデルと比較して製剤開発に必要なリソース削減が可能と考えられる。さらに、構築した方法を適用することで難水溶性化合物を含む様々な製剤の吸収性を精度良く推定することが示された。本方法は、目標とする吸収性が達成可能となる新規の吸収性の予測方法として応用可能と考えられる。

#### 第4節 小括

本章では、経口製剤の設計に適用可能な吸収性の予測方法の構築を目的に、PK モデル及び溶出試験法を組み合わせた難水溶性化合物の吸収性の予測方法を検討した。PK モデル構築、溶出試験法の選定、及び PK モデルの検証によって、本予測方法は溶液、懸濁液、及び固体分散体懸濁液の3種の経口製剤のラット吸収性を推定可能となることが確かめられた。はじめに、CS-758 の物理化学的特性、生理学的特性、及び溶液を用いたラットへの経口投与後の血中濃度-時間曲線に基づき PK モデルを構築した。次に、PK モデルを用いて CS-758 懸濁液を用いたラットへの経口投与後の血中濃度-時間曲線を推定できるような溶出試験法を探索・選定した。最後に、%PE を吸収性予測精度の評価指標として適用することにより CS-758 固体分散体懸濁液を用いたラットへの経口投与後の血中濃度-時間曲線が推定可能か検証した結果、構築した PK モデルが精度良く吸収性を推定できるモデルであることが確かめられた。よって、本予測方法は難水溶性化合物に相当する BCS クラス 2 及び BCS クラス 4 化合物の製剤設計にも応用可能と考えられた。また、本研究結果に基づき、主に品質試験として用いられている局方に準じた溶出試験法により製剤の吸収性が推定可能となることが考えられた。なお、本研究ではラットを用いて吸収性予測を行ったが、本予測方法は臨床試験から得られた結果を活用することでヒトに対しても同様のアプローチが可能と考えられる。

## 第2章 生理学的薬物動態モデリングを適用した消化管 P 糖タンパク質の薬物体内動態への影響における定量的解析

### 第1節 序論

近年、薬物の吸収、分布、代謝、及び排泄を考慮した PBPK モデルを適用した吸収予測方法が検討されている。PBPK モデルを適用し吸収性を予測することにより臨床試験で得られた PK の結果を記述することができることから、様々な薬物体内動態解析が可能となる。

消化管には薬物排出トランスポーターである P-gp が発現していることが知られており、この P-gp により吸収途中の薬物が細胞外に汲み出す働きがあるため吸収の際のバリアーとして機能することがある。難水溶性化合物のエドキサバンは、ヒト小腸様細胞株 (Human colon carcinoma cells, Caco-2) を用いた検討で P-gp の基質であることが明らかとなっており、臨床試験から得られた結果に基づき化合物のバイオアベイラビリティは 61.8%と見積もられている<sup>57),58)</sup>。また、エドキサバンと P-gp 阻害剤との併用による臨床試験によりエドキサバンの  $C_{max}$  及び AUC が上昇することが明らかとなっている<sup>59),60)</sup>。P-gp 阻害剤は主に消化管に発現している P-gp と相互作用していることが知られているため、P-gp が経口投与後のエドキサバンの吸収性に重要な影響を及ぼしていることが考えられる<sup>23)</sup>。しかし、これまでに得られたエドキサバンの非臨床及び臨床試験から得られた結果では、P-gp が経口投与後のエドキサバンの吸収性にどの程度影響を及ぼすのか定量的には解明されていない。よって、この影響を定量的に評価することは経口投与後のエドキサバンの吸収メカニズム及び DDI を理解するために重要と考えられる。

本章では、消化管に発現している P-gp がエドキサバンを用いた経口固形製剤の吸収性に与える影響を定量的に解析することを目的に、PBPK モデルを適用したシミュレーションによる解析を行った。過去に得られたエドキサバンの物理化学的特性及び生理学的特性、非臨床試験、及び臨床試験に関する情報に基づき、消化管 P-gp の影響を組み込んだ PBPK モデルを構築した。構築した PBPK モデルを用いて消化管 P-gp の有無がエドキサバンの吸収性に与える影響について評価した。



## 第2節 材料及び方法

### 1. 材料

エドキサバンは第一三共株式会社製を使用した。速放性を有するフィルムコーティング錠として 60 mg 錠が、注射剤として 30 mg 製剤が臨床試験に用いられた。60 mg 錠及び 30 mg 注射剤は Good Manufacturing Practice (GMP) 環境下にて製造された。

### 2. 方法

#### 2.1 エドキサバンの生理学的メカニズム

PBPK モデル構築に適用した、エドキサバンの生理学的メカニズムについて、以下に記す。

- 臨床試験の結果、エドキサバンと P-gp/チトクローム P-450 (CYP) 3A4 阻害剤である Quinidine、Verapamil、Dronedaronе、Ketoconazole、Erythromycin、及び Cyclosporine との併用投与試験において、消化管 P-gp 阻害によりエドキサバンの吸収性が向上した<sup>59),60)</sup>。
- 消化管の CYP3A4 発現レベルは肝臓の発現レベルの約 1/100 であるため、PBPK モデル構築では消化管の CYP3A4 は考慮しなかった<sup>61),62)</sup>。
- 臨床試験の結果、エドキサバンのバイオアベイラビリティは 61.8%と見積もられた<sup>57)</sup>。また、静脈内投与後及び経口投与後の血中濃度-時間曲線に関して、投与後 8 時間から 24 時間における消失相の傾きの違いが観察された。
- 臨床試験でのエドキサバンの静脈内投与後に、投与含量に対して 48.6%が未変化体として尿中に排泄された<sup>57)</sup>。
- <sup>14</sup>C の放射性同位体でラベルしたエドキサバンのヒトへの経口投与後において、投与含量に対して 49.1%及び 23.8%が糞中及び尿中に未変化体として排泄された。また、投与含量に対して 2.45%及び 6.76%が CYP3A4 及び他の代謝物として排泄物中に検出された<sup>63)</sup>。
- エドキサバンの投与含量に対して 49.1%が糞中に未変化体として排泄された。この未変化体率について、バイオアベイラビリティ試験から得られた結果に基づき算出した、吸収されなかったエドキサバンの割合である 38.2% (100% - 61.8% = 38.2%) よりも高かった。よって、エドキサバンの胆汁酸への排泄又は腸管内への分泌が示唆された。

- 胆管にカニューレを挿入したラットを用いたエドキサバンの経口投与後における動態試験の結果、エドキサバンの投与含量に対して 24.9%が胆汁排泄されたことから、エドキサバンは胆汁排泄されることが示唆された<sup>64)</sup>。
- **Mouse multidrug resistance (mdr) 1a/1b** ノックアウトマウスを用いたエドキサバンの 1 mg/kg の静脈内投与後の試験では **wild-type** マウスを用いた試験と比べてクリアランスに差は無かった。よって肝臓、腎臓、及び胆管の **P-gp** がエドキサバンの吸収性に与える影響はほとんど無いと仮定した。

## 2.2 PBPK モデル構築に用いた入力因子

エドキサバンの PBPK モデルは **GastroPlus** を用いて構築した。Figure 2-1 にエドキサバンの PBPK モデルを示す。本モデルの構築ではエドキサバンの吸収過程を表現するために ACAT モデルを組み込んだ<sup>65)</sup>。ACAT モデルは胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、及び結腸からそれぞれ 9 つのコンパートメントで表現される。さらに、それぞれのコンパートメントでは未溶解薬物、溶解薬物、及び腸細胞の 3 つのコンパートメントで表現される。**GastroPlus** 内の入力因子として用いられる原薬の溶解度及び膜透過性に関するパラメータはこれら 3 つのコンパートメント間で薬物が移動するための速度定数に影響する。また、PBPK モデルでの肝臓における薬物移動については、肝臓の血流によって灌流される ACAT モデルとは独立したコンパートメントとして表現される。ACAT モデルでは **P-gp** による輸送クリアランス (**P-gp CL**) は以下に示すミカエリス-メンテン式によって、薬物が溶解した状態で腸細胞から管腔コンパートメントへの移動として表現される<sup>66)</sup>。

$$\text{P-gp CL} = V_{\max} \times \text{“Expression”} / (K_m + C_{\text{ent}})$$

$V_{\max}$ : maximum transport rate for P-gp (mg/s)

Expression: expression level of P-gp in each segment (arbitrary unit)

$K_m$ : Michaelis-Menten constant for P-gp

$C_{\text{ent}}$ : concentration of drug as unbound form in the enterocyte of each gastrointestinal segment

**P-gp** は肝臓や腎臓などの他臓器でも広く発現していることが知られているが、エドキサバンと **P-gp** 阻害剤との併用による DDI 試験の結果に基づきエドキサバンの吸収性は主に消化管 **P-gp** に影響することが明らかとなったことから、PBPK モデルでは **P-gp** は消化管にのみ発現していると仮定した<sup>58)</sup>。

エドキサバンは腎排泄、胆汁排泄、CYP3A4 による代謝、及び CYP3A4 以外の CYP による代謝の影響を受ける。PBPK モデルで用いられる腎クリアランス ( $CL_r$ ) については腎臓での糸球体濾過及び能動分泌に関する統合パラメータとして表現した。肝臓での CYP3A4 を介したエドキサバンの代謝に対する影響は低いことが考えられたが、PBPK モデルにおいて肝代謝は上式に示した  $K_m$  と  $V_{max}$  を用いて表現した。胆汁排泄と CYP3A4 以外の CYP による代謝は肝固有クリアランス ( $CL_{h,int}$ ) として、これらを統合したパラメータとして表現した。各固有クリアランスは次式のように表現した。

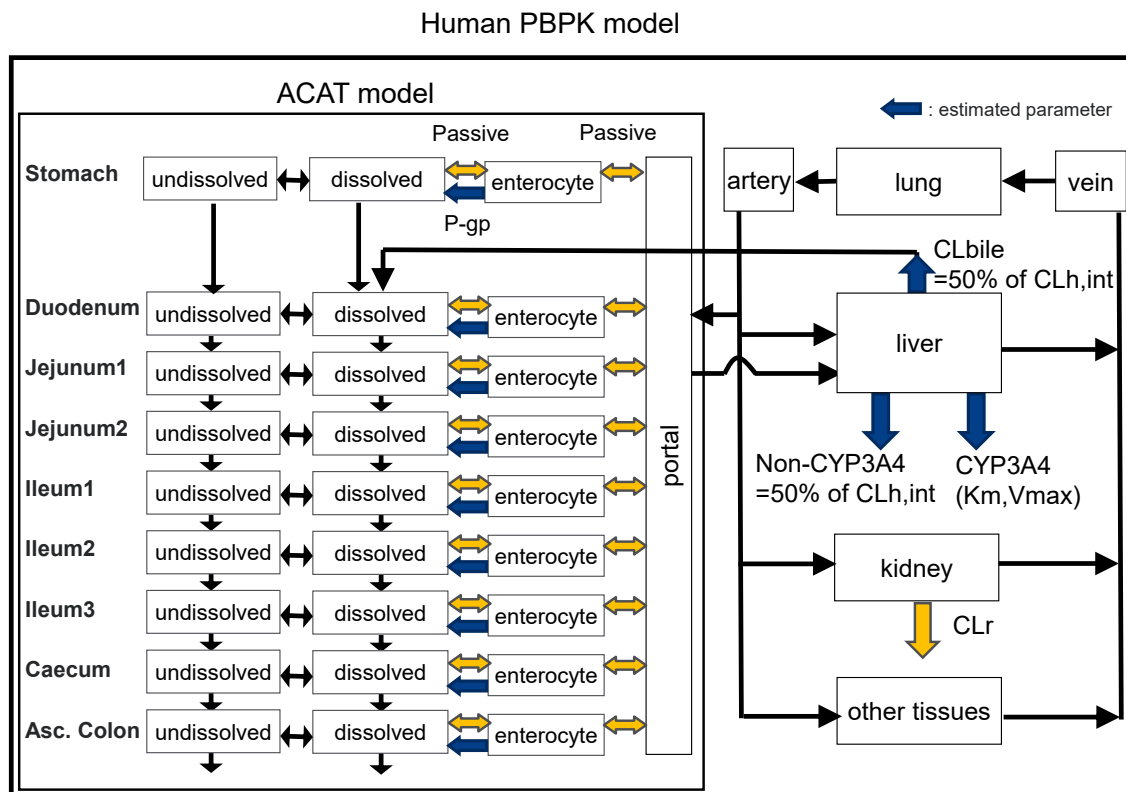
$$\text{Biliary CL} = \text{“Biliary CL fraction”} \times CL_{h,int}$$

Biliary CL fraction: fraction of the intrinsic biliary CL in  $CL_{h,int}$

$$\text{non-CYP3A4 metabolic CL} = (1 - \text{“Biliary CL fraction”}) \times CL_{h,int}$$

PBPK モデルは次に記す仮定の下、GastroPlus に内蔵されている PBPK モジュールを使用して構築した。エドキサバンの PBPK モデルでは CYP3A4 代謝、CYP3A4 以外の CYP による代謝、及び胆汁排泄を介した排泄を肝クリアランスとして表現した。Biliary CL fraction は、エドキサバンの CYP3A4 以外の CYP による代謝率と胆汁排泄率が同等、すなわち代謝率及び排泄率として 50%と仮定した。

Figure 2-1 Scheme of the human PBPK model with the ACAT model for edoxaban



### 2.3 PBPK モデル構築

PBPK モデル構築では空腹時におけるヒト生理学的パラメータを使用した。消化管からの薬物吸収率を計算するための係数として用いられる Absorption Scale Factor (ASF) は GastroPlus に内蔵されている ASF モデルとして、Opt logD Model SA/V6.1 を使用して計算した。ASF は各消化管コンパートメントにおける膜透過率を求めるための入力因子として用いられる。膜透過率は次式のように表現される。

$$k_{(i)a} = \text{ASF}_{(i)} \times P_{\text{eff}}$$

$k_{(i)a}$ : absorption rate coefficient

$\text{ASF}_{(i)}$ : absorption scale factor

$P_{\text{eff}}$ : effective permeability of the drug

Opt logD Model SA/V6.1 を使用することで、各消化管コンパートメントの表面積比、体積比、及び消化管液の pH に基づき薬物の膜透過率を表現することができる。Table 2-1 に PBPK モデル構築で適用された生理学的パラメータを示す。各組織の生理学的パラメータは

GastroPlus にインストールされている Population Estimates for Age-Related (PEAR) Physiology プログラムによって推定される。このプログラムにはヒトの体重、身長、及びボディマス指数等の年齢に関連する人口データが統合されている。特定の年齢の人口データは各組織の体重、体積、密度、及び血流等の全身組織の推定値を求めるために使用される。PBPK モデル構築では解析対象の人種として American を選択しており、National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES、<http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm>) に基づき約 11,000 人のアメリカ人（男女比 1:1、人種及び民族は限定せず）の年齢に関連する人口データが用いられている。また、各臓器の生理学的パラメータは主に文献に基づいたパラメータが使用されている<sup>67),68)</sup>。エドキサバンの各組織の組織-血漿間分配係数 (plasma partition coefficients、 $K_p$ ) は GastroPlus にインストールされている Rodgers、Leahy、Rowland method による  $K_p$  推定方法を使用して計算されている<sup>69),70)</sup>。

Table 2-1 Physiological parameters used in this study and  $K_p$  values for edoxaban in each tissue

Tissues	Tissue Perfusion (mL/s)	Tissue Volume (mL)	CYP3A4 expression (mg/g tissue)	$K_p$ value of edoxaban
Hepatic Artery	7.64	-	-	-
Lung	94.3	1045	-	0.64
Arterial Supply	94.3	2068	-	-
Venous Return	94.3	4137	-	-
Adipose	9.22	27157	-	1.29
Muscle	9.92	19460	-	1.00
Liver	23.9	1532	0.242	1.35
ACAT Gut	13.3	-	-	-
Spleen	2.94	173	-	1.02
Heart	3.66	295	-	1.09
Brain	14.0	1613	-	1.89
Kidney	16.2	259	-	1.02
Skin	3.75	1838	-	1.16
ReproOrg	0.107	30	-	1.02
RedMarrow	5.62	1103	-	1.87
YellowMarrow	1.56	3067	-	1.29
RestOfBody	6.40	12562	-	1.03

Physiological parameters were automatically constructed by GastroPlus inputting the following parameters: Population, American; Gender, Male; Age, 30 years; Weight, 80 kg. In this model, all the tissues were described as perfusion-limited tissue.  $K_p$  values for edoxaban were calculated using the  $K_p$  prediction method of “Rodgers, Leahy, Rowland method” pre-installed in the GastroPlus

Table 2-2、Table 2-3、及び Table 2-4 にエドキサバンの PBPK モデル構築に適用した物理化学的特性及び薬物動態パラメータを示す。推定パラメータとして用いた P-gp に対する  $V_{max}$  値及び  $CL_{h,int}$  は GastroPlus に内蔵されている Optimization module を適用し、エドキサバン 30 mg の静脈内投与後及び 60 mg の経口投与後の血中濃度-時間曲線にこれらのパラメータをあてはめることにより最適値を推定した。P-gp に対する  $K_m$  値は実験データに基づき設定した (Table 2-3)。また、CYP3A4 に対する  $V_{max}$  値は PBPK モデルを用いた CYP3A4 による代謝物量を推定することにより求めた。CYP3A4 に対する  $K_m$  値はエドキサバンの経口投与量である 60 mg の投与量で CYP3A4 による代謝が飽和しないと仮定し求めた。

PBPK モデル構築及びモデル検証には血中濃度の実測値と予測値との決定係数 (coefficient of determination、 $R^2$ ) 及び以下に示す  $C_{max}$  及び AUC に対する予測値と実測値の比 (ratio of predicted-to-observed、P/O 比) を適用した。

$$P/O = \text{Predicted Parameters/Observed Parameters}$$

$C_{max}$  及び AUC に対する P/O 比として  $\pm 25\%$  以内であれば PBPK モデルの予測精度は良好

と判断した<sup>71),72)</sup>。

Table 2-2 Physicochemical parameters used for the human PBPK modeling

Parameter	Value	Unit	Data source
Partition coefficient (LogD)	1.72 (pH 8.0)	-	Measured ( <i>in vitro</i> )
Solubility	4.4 (pH 3.0) 4.2 (pH 4.0) 1.8 (pH 5.0) 0.54 (pH 6.0) 0.14 (pH 7.0)	mg/mL	Measured ( <i>in vitro</i> )
Dosage form	Infusion (0.5 hr, intravenous) and Tablet (oral)	-	-
Initial dose	30 (intravenous) and 60 (oral)	mg	-
Dose volume	250	mL	GastroPlus (default)
Mean precipitation time	900	sec	GastroPlus (default)
Diffusion coefficient	0.55	cm <sup>2</sup> /s×10 <sup>5</sup>	GastroPlus (default)
Drug particle density	1.2	g/mL	GastroPlus (default)
Mean particle radius	25	-	GastroPlus (default)

Table 2-3 Drug related parameters used for the PBPK modeling: Disposition parameters

Parameter	Value	Unit	Data source
P <sub>eff</sub>	2.06	10 <sup>-4</sup> cm/s	Apparent permeability (P <sub>app</sub> ) value in human intestinal epithelial (Caco-2) cells in the presence of P-gp inhibitors was 10.28 × 10 <sup>-6</sup> cm/s at pH7.4. P <sub>eff</sub> value was calculated using “P <sub>eff</sub> converter” which is pre-installed in GastroPlus software to calculate the P <sub>eff</sub> values using the obtained P <sub>app</sub> values.
P-gp_K <sub>m</sub>	5.92	mg/L	Parameters calculated using Caco-2 data; K <sub>m</sub> , 10.8 μM; V <sub>max</sub> , 6210 × 10 <sup>-6</sup> nmol/s/cm <sup>2</sup> . Using the 3-compartment model for P-gp kinetic analysis [Tatsuhiko et al., 2010 <sup>a</sup> ], edoxaban for P-gp was calculated to be 10.8 μM, based on the result of an apparent Michaelis-Menten constant (K <sub>m,app</sub> ) value of 74.0 μM using the assay systems. The kinetic analysis using the 3-compartment model was performed using Transporter/Permeability module in Simcyp® (Simcyp Ltd., Sheffield, United Kingdom) <i>In Vitro</i> Data Analysis Toolkit (SIVA).
CYP3A4 K <sub>m</sub>	100	mg/L	Assumption <sup>b</sup>
Biliary CL fraction	50	% of CL <sub>h, int</sub>	Assumption <sup>c</sup>
CL <sub>r</sub>	10.7	L/hr	Measured (Based on the results of a single 30 mg intravenous infusion dose of edoxaban in a clinical study.)
Unbound fraction	0.457	-	Protein binding in human at 200 ng/mL = 54.3%
R <sub>b</sub>	0.96	-	R <sub>b</sub> was calculated using values of hematocrit (48%) and distribution to blood cells (45.7%) as follows: R <sub>b</sub> = (100 - 48) / (100 - 45.7)
PK model	Whole-body PBPK (Human American Male 30YO)	-	-
Physiology	Hu-Physio-Fasted_NoGallbladder	-	Clinical studies of edoxaban, showed no 2 <sup>nd</sup> peak or shoulders in plasma concentration were observed after meal intakes. Thus, indicating that secretion from the gallbladder is a minor contribution in edoxaban's disposition.
K <sub>p</sub> prediction method	Rodgers, Leahy, Rowland method	-	-

<sup>a</sup> Tatsuhiko T, Satoshi K, Motohiro K, Tetsuya M, Yoshiyuki S, Shinji Y, and Yuichi S. Model analysis of the concentration-dependent permeability of P-gp substrates. *Pharm Res.* 2010;27:442-6.

<sup>b</sup> The K<sub>m</sub> value of metabolism was set under the assumption where metabolism is not saturated at a dose of 60 mg.

<sup>c</sup> At least 10.9% of an absorbed model drug substance was excreted into feces in human via biliary excretion / intestinal secretion.



Table 2-4 Estimated disposition parameters used for the human PBPK modeling

Parameter	Value	Unit	Estimation method	Data source
P-gp_V <sub>max</sub>	0.0132	mg/s	Fitted to PK profile after intravenous and oral administrations	Estimated (GastroPlus)
CL <sub>h, int</sub>	30.8	L/hr	Fitted to PK profile after intravenous and oral administrations	Estimated (GastroPlus)
CYP3A4_V <sub>max</sub>	0.0006	mg/s/mg enzyme	Estimated to produce approx. 2.5% of the dose of metabolites via CYP3A4 after oral administration	Estimated (GastroPlus)

### 第3節 結果及び考察

#### 1. PBPK モデルの構築

エドキサバンの PBPK モデルを構築することを目的に、P-gp に対する  $V_{\max}$  値、 $CL_{h,int}$ 、及び CYP3A4 に対する  $V_{\max}$  値のパラメータを推定することで臨床試験から得られた PK の記述を検討した。推定したこれらの値は臨床試験から得られた結果に基づき、エドキサバンの静脈内投与後及び経口投与後の血中濃度-時間曲線にこれらパラメータをあてはめ、最適値を求めることにより推定した（第2節 2.3 項参照）。また、経口投与後の CYP3A4 によるエドキサバンの代謝物量は投与含量の約 2.5%と低値であったことから、第3節 2 項に示すように、CYP3A4 に対する  $V_{\max}$  値がエドキサバンの体内動態に与える影響は低いことが分かった。エドキサバンの静脈内投与後及び経口投与後の実測及び予測の血中濃度-時間曲線を Figure 2-2 に示す。エドキサバンの PBPK モデルを用いて推定した血中濃度-時間曲線は臨床試験で得られた結果と一致し、血中濃度の予測と実測との決定係数は 0.9864 であった。さらに、静脈内投与後の AUC に対する P/O 比は 1.08、経口投与後の  $C_{\max}$  及び AUC に対する P/O 比はそれぞれ 0.90 及び 0.93 であり PBPK モデルの予測精度は良好であった。特に、投与後 8 時間から 24 時間における血中濃度-時間曲線の消失相の傾きの違いが PBPK モデルにより記述されていた。エドキサバンの PBPK モデルを用いて推定した経口投与後のバイオアベイラビリティは 59.2%であり、臨床試験から得られた結果の 61.8%と同様の値であった<sup>57)</sup>。したがって、エドキサバンの PBPK モデルを用いて推定した静脈内投与後及び経口投与後の血中濃度-時間曲線は臨床試験から得られた結果を精度良く記述できることが確認された。

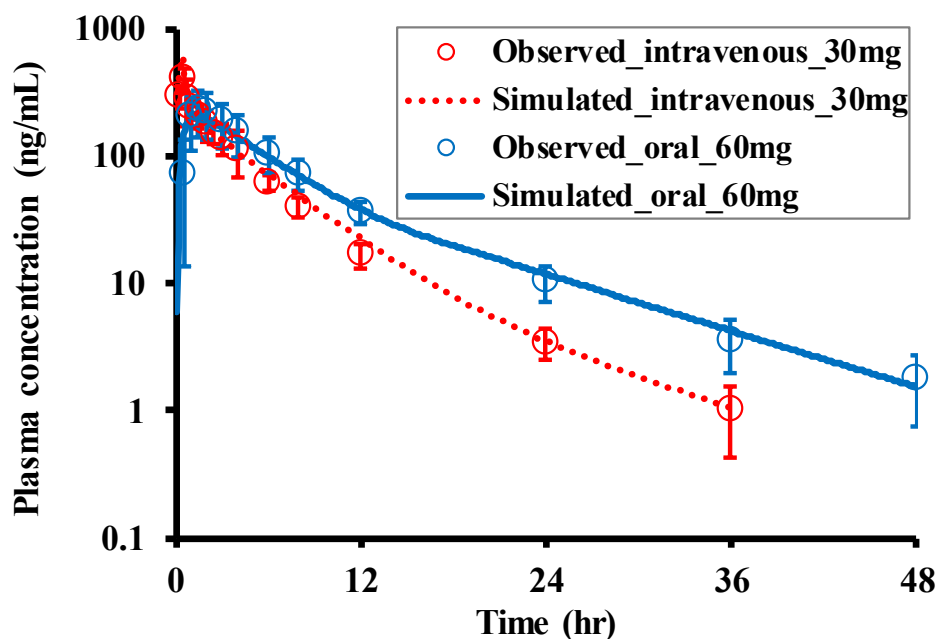


Figure 2-2  $C_p$ -time profiles of edoxaban after intravenous infusion (30 mg/0.5 hr) and oral administration (60 mg) simulated by the constructed PBPK model. Observed data are expressed as the mean plus standard deviations ( $n = 35$ ).

エドキサバンの PBPK モデルはエドキサバンの安全性及び忍容性を評価することを目的に行われた臨床試験から得られた結果との比較により検証した。検証には、それぞれ 10、60、及び 90 mg を含有するエドキサバン錠を用いた臨床試験から得られた結果を用いた。PBPK モデルを用いて、10、60、及び 90 mg のエドキサバンの経口投与後の血中濃度-時間曲線をそれぞれ推定した。経口投与後の実測及び予測の血中濃度-時間曲線を Figure 2-3 に示す。その結果、10、60、及び 90 mg 投与後の血中濃度の予測と実測との決定係数はそれぞれ 0.9081、0.9863、及び 0.9969 であった。また、10、60、及び 90 mg 投与後の  $C_{max}$  及び AUC に対する P/O 比はそれぞれ 0.88 及び 0.83、0.93 及び 1.07、及び 1.03 及び 0.94 であり、PBPK モデルの予測精度の判定基準を満たした。したがって、エドキサバンの PBPK モデルにより投与含量の異なる経口投与後の血中濃度-時間曲線が推定可能であることが確かめられた。

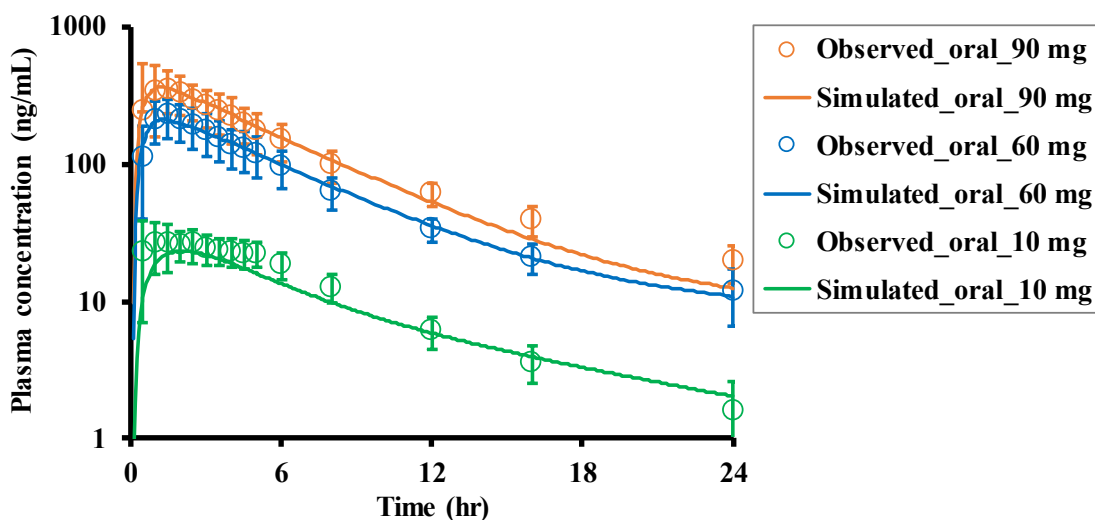


Figure 2-3 Mean plasma concentration-time profiles of edoxaban after oral administration (10, 60, and 90 mg) simulated by the constructed PBPK model. Observed data are expressed as the mean plus standard deviations (n = 9 or 10).

## 2. PBPK モデルの推定パラメータが薬物体内動態に及ぼす影響

エドキサバンの PBPK モデルの推定パラメータである P-gp に対する  $V_{\max}$  値、 $CL_{h,int}$ 、及び CYP3A4 に対する  $V_{\max}$  値が AUC 及び  $C_{\max}$  に与える影響について、PBPK モデルを用いて検討した。P-gp に対する  $V_{\max}$  値、 $CL_{h,int}$ 、及び CYP3A4 に対する  $V_{\max}$  値はモデル構築で推定された値である 0.0132 mg/s、30.8 L/hr、及び 0.0006 mg/s/mg enzyme を中央値 (1 倍) としてそれぞれの値を 0~2 倍に変動させることで AUC 及び  $C_{\max}$  を求めた。推定パラメータがエドキサバンの静脈内投与後の AUC 及び経口投与後の AUC 及び  $C_{\max}$  に対する影響の評価結果を Figure 2-4 に示す。CYP3A4 に対する  $V_{\max}$  値は静脈内投与後及び経口投与後ともに AUC 及び  $C_{\max}$  に影響しなかった。このことから、経口投与後における CYP3A4 によるエドキサバンの代謝物量は投与含量に対して約 2.5%であったことを踏まえエドキサバンに対する CYP3A4 の寄与は低いことが示唆された。一方、P-gp に対する  $V_{\max}$  値は経口投与後の AUC 及び  $C_{\max}$  に影響を与えたが、静脈内投与後の AUC に対しては影響がほとんど認められなかった。 $CL_{h,int}$  は静脈内投与後及び経口投与後の AUC に対して影響を与えたが、 $C_{\max}$  に対しては影響がほとんど認められなかった。したがって、PBPK モデルの推定パラメータが AUC 及び  $C_{\max}$  に与える影響について評価することにより、消化管 P-gp がエドキサバンの経口投与後の吸収性に影響を与えることが明らかとなった。

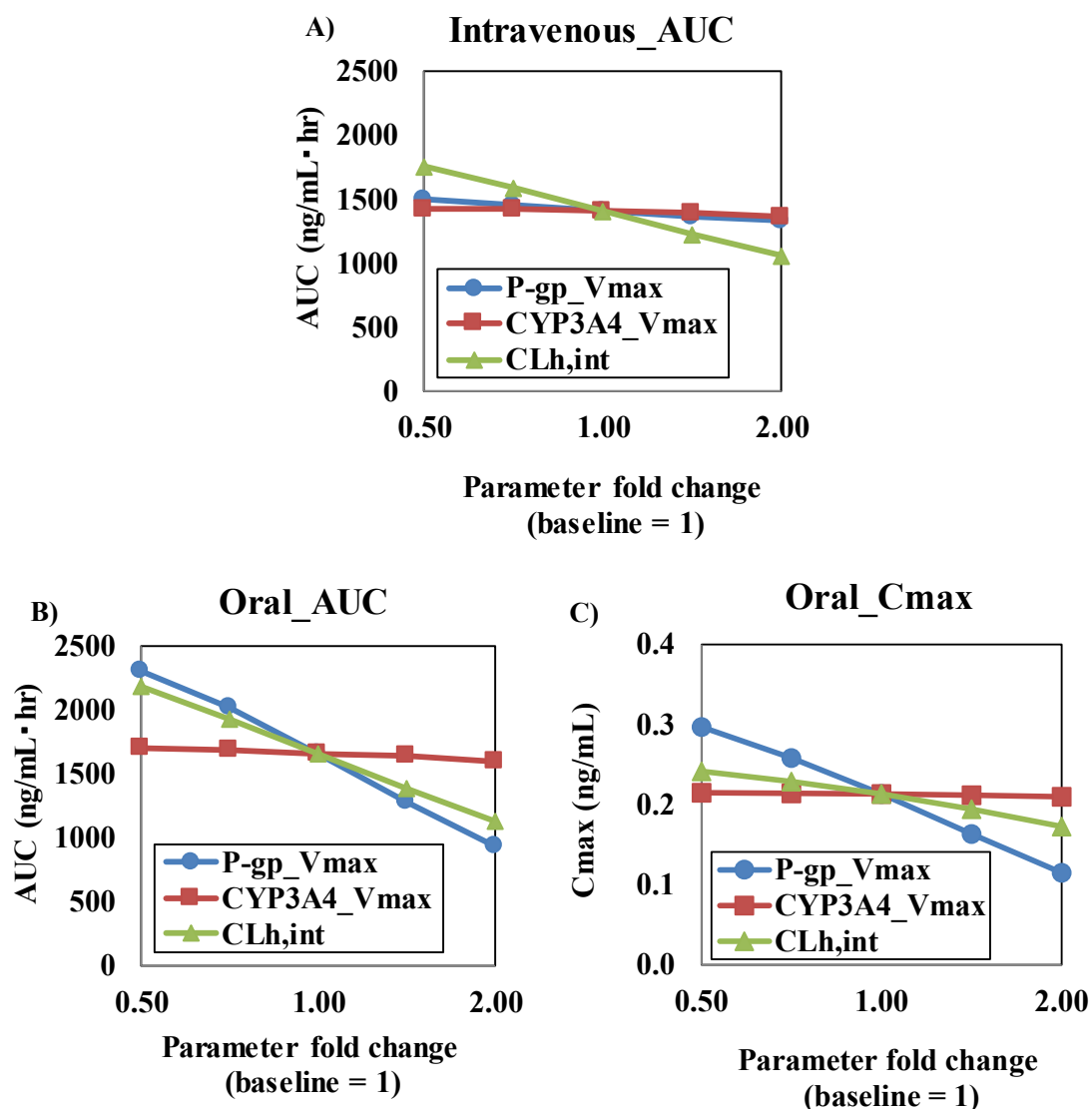


Figure 2-4 Parameter sensitive analysis: Investigation of the impact of  $V_{\max}$  for P-gp,  $V_{\max}$  for CYP3A4, and  $CL_{h,int}$  on  $C_{\max}$  and AUC

### 3. エドキサバンのマスバランス評価

エドキサバンの PBPK モデルがマスバランス試験で観察された結果との一致性を評価することを目的に、PBPK モデルを用いてエドキサバンの尿中・糞中排泄率及び CYP3A4 による代謝物率を推定した。エドキサバンのマスバランス試験から得られた結果及び PBPK モデルによりマスバランスを求めた結果を Table 2-5 に示す。その結果、PBPK モデルによるマスバランスの推定結果は臨床試験から得られた結果と同様の値を示した。本結果から、エドキサバンの PBPK モデルはエドキサバンの代謝及び排泄を精度良く表現できることが示

された。また、PBPK モデルの入力因子である Biliary CL fraction がエドキサバン未変化体の糞中排泄率に与える影響について推定した。Biliary CL fraction をそれぞれ 0、0.5、及び 1 と変動させた場合のエドキサバン未変化体の糞中排泄率を Table 2-6 に示す。その結果、Biliary CL fraction を 0.5 に設定した場合、臨床試験から得られた結果におけるエドキサバン未変化体の糞中排泄率と同様の値を示した。よって、エドキサバンの PBPK モデル構築に用いた Biliary CL fraction の設定値は妥当と判断した。本評価結果により、エドキサバンの PBPK モデルはマスバランス試験で観察された結果と一致し、エドキサバンの代謝及び排泄を記述できることが示された。

Table 2-5 Mass-balance of edoxaban observed in the clinical study and simulated by the constructed human PBPK model (intravenous infusion and oral administration)

Data Source	Description	Composition	% of dose		
			Feces	Urine	Total
Clinical study: Oral (Observed)	Mass balance after oral administration of [ <sup>14</sup> C]edoxaban (60 mg) at 168 hr post-dose	Total radio activity	62.2	35.4	97.6
		Edoxaban	49.1	23.8	72.8
		CYP3A4 metabolites (M6+M8)	2.00	0.45	2.45
		Other metabolites	1.98	4.78	6.76
		Unexplained		18.0	18.0
Clinical study: intravenous (Observed)	Amount of excreted into urine after intravenous infusion of edoxaban (30 mg/0.5 hr)	Edoxaban	-	48.6	-
PBPK model: Oral (Simulated)	Mass balance after oral administration of edoxaban (60 mg) at 168 hr post-dose	Edoxaban	45.1	30.0	75.1
		CYP3A4 metabolites		2.60	2.60
		Others		22.3	22.3
PBPK model: Intravenous (Simulated)	Mass balance after intravenous infusion of edoxaban (30 mg/0.5 hr) at 168 hr post-dose	Edoxaban	17.3	50.4	67.7
		CYP3A4 metabolites		3.38	3.38
		Others		28.9	28.9

Table 2-6 Effect of the “Biliary CL fraction” on the % dose of edoxaban in feces

Data Source	Description	% dose of edoxaban in feces
Clinical study: oral (Observed)	Mass balance after oral administration of [ <sup>14</sup> C]edoxaban (60 mg) at 168 hr post-dose	49.1
		Biliary clearance fraction: 0 36.7
PBPK model: oral (Simulated)	Mass balance after oral administration of edoxaban (60 mg) at 168 hr post-dose	Biliary clearance fraction: 0.5 46.8
		Biliary clearance fraction: 1 61.6

“0” means no attribution of the biliary excretion to the CL<sub>h,int</sub>, and “1.0” means the biliary excretion is the only component of the CL<sub>h,int</sub>

#### 4. エドキサバンの DDI 試験結果の予測

エドキサバンと P-gp 阻害剤である Quinidine、Verapamil、及び Dronedarone を経口投与により併用した DDI 試験から得られた結果に基づくと、エドキサバンの AUC 及び C<sub>max</sub> の増加及び消失半減期の短縮が認められている<sup>59)</sup>。エドキサバン PBPK モデルによる DDI 試験から得られた結果との一致性について評価することを目的に、PBPK モデルの入力因子である P-gp に対する V<sub>max</sub> 値を 0 に設定することにより消化管 P-gp の影響が無いと仮定することでエドキサバンの血中濃度-時間曲線を求めた。消化管 P-gp の有無がエドキサバンの経口投与後の血中濃度-時間曲線に与える影響を Figure 2-5 に示す。その結果、消化管 P-gp の影響が無いと仮定した場合における血中濃度-時間曲線は P-gp の影響があると仮定した場合と比較して AUC は 1.8 倍、C<sub>max</sub> は 2 倍となることが推察された。また、消化管 P-gp の影響の有無により 8 時間から 24 時間における血中濃度-時間曲線の消失相の傾きが異なることが明らかとなった。一方、エドキサバンと Ketoconazole 又は Erythromycin を経口投与により併用した DDI 試験ではエドキサバン単独の投与後と比較して AUC がそれぞれ 1.9 倍及び 1.9 倍、C<sub>max</sub> がそれぞれ 1.9 倍及び 1.7 倍向上することが明らかとなっている<sup>60)</sup>。Figure 2-6 に DDI 試験におけるエドキサバンと Erythromycin との経口投与による併用投与後における血中濃度-時間曲線を示す。その結果、エドキサバンの単独投与後と Erythromycin との併用投与後の血中濃度-時間曲線の消失相の傾きの違いが観察された。DDI 試験で得られた C<sub>max</sub> 及び AUC と PBPK モデルを用いて推定した C<sub>max</sub> 及び AUC を比較した結果、それぞれ 395.1 ng/mL 及び 3192 ng/mL·hr、433.6 ng/mL 及び 3057 ng/mL·hr であった。また、エドキ

サバンと Erythromycin との併用投与後の  $C_{max}$  及び AUC に対する P/O 比は 1.10 及び 0.96 であり、PBPK モデルの予測精度は良好であった。よって、P-gp 阻害剤との併用投与による DDI 試験で観察された結果は主に消化管 P-gp 阻害による影響が大きい可能性が示された。したがって、エドキサバンの PBPK モデルは P-gp 阻害剤との併用投与による DDI 試験結果を表現であることが示された。

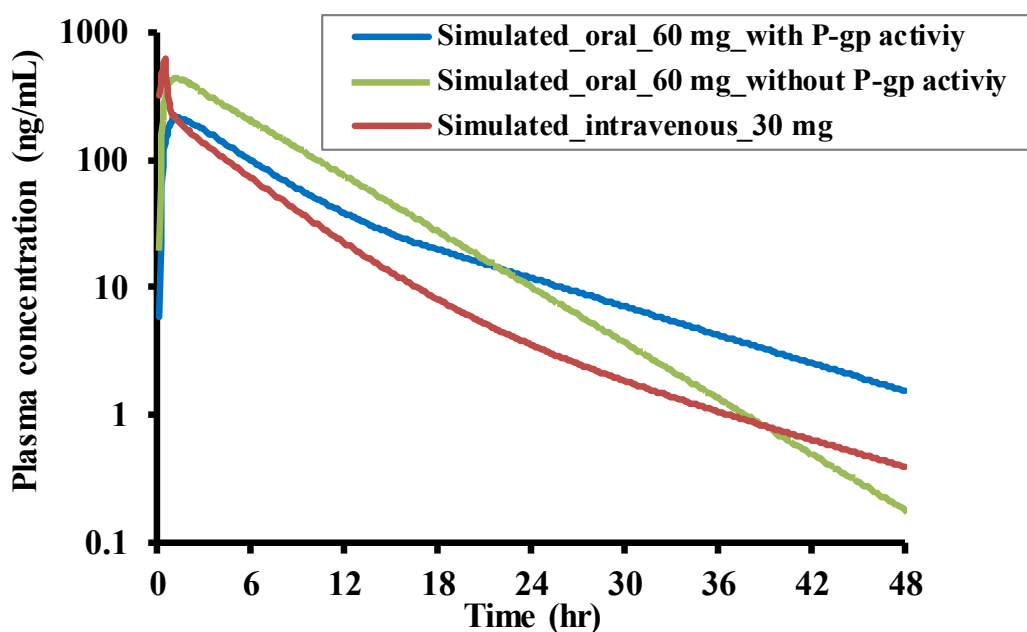


Figure 2-5 Impact of intestinal P-gp efflux activity in the constructed PBPK model after oral administration



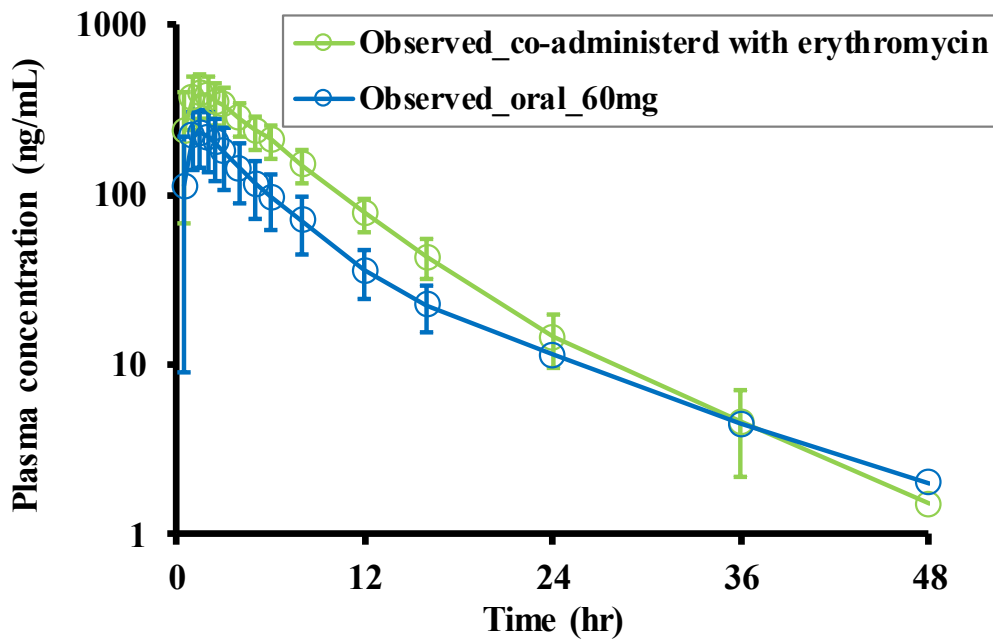


Figure 2-6 Mean plasma concentration-time profiles of edoxaban following oral administration (60 mg) with and without erythromycin in a clinical study<sup>60</sup>. Data are expressed as the mean plus standard deviations (n = 33).

#### 5. 消化管 P-gp がエドキサバンの吸収性に与える影響

第2節 2.1 項で述べたように、臨床試験から得られた結果に基づき、エドキサバンの静脈内投与後及び経口投与後 8 時間から 24 時間における血中濃度-時間曲線の消失相の傾きの違いが観察された。この原因について評価することを目的に、エドキサバンの PBPK モデルを用いて消化管 P-gp の有無が消化管からの吸収及び血中濃度-時間曲線の消失相の傾きの違いに与える影響を検討した。エドキサバンの PBPK モデルを用いて消化管 P-gp が経口投与後における各消化管コンパートメントに対するエドキサバンの吸収率について評価した結果を Figure 2-7 に示す。消化管 P-gp が経口投与後の空腸コンパートメント及び大腸コンパートメントに対するエドキサバンの吸収量について評価した結果を Figure 2-8 に示す。その結果、Figure 2-7 に示すように、エドキサバンは小腸及び大腸の両消化管部位から吸収されることが PBPK モデルにより明らかとなった。また、Figure 2-8A に示すように、エドキサバンは空腸で速やかに吸収され大腸では 8 時間から緩やかに吸収されることが明らかとなった。さらに、Figure 2-7 に示すように、消化管 P-gp が無いと仮定した場合、エドキサバンは P-gp による吸収阻害が明らかとなった小腸から多く吸収されることが明らかとなった。なお、PBPK モデルでは胆汁排泄の影響が組み込まれていることから、エドキサバンの全体

の吸収率は 100%を超えていた。Figure 2-8B に示したように、消化管 P-gp が無いと仮定した場合の大腸からのエドキサバンの吸収量は P-gp が有ると仮定した場合に比べ約 4 倍と高くなることが予測された。よって、エドキサバンの大腸吸収が投与後 8 時間から開始する理由として、消化管 P-gp の影響によって小腸から吸収されなかったエドキサバンが大腸に移動し、P-gp の影響を受けながら大腸から緩やかに吸収されたことが考えられた。以上の結果から、エドキサバンの経口投与後において血中濃度-時間曲線の消失相の傾きが緩やかとなるのは消化管 P-gp の影響により大腸からの吸収が緩やかとなることが原因と考えられた。一般的に、水溶性化合物は経口投与後に消化管から速やかに吸収されるため排泄過程が律速となるが、難水溶性化合物であるエドキサバンは吸収過程が律速となることから、エドキサバンの吸収速度が低下することが考えられた。

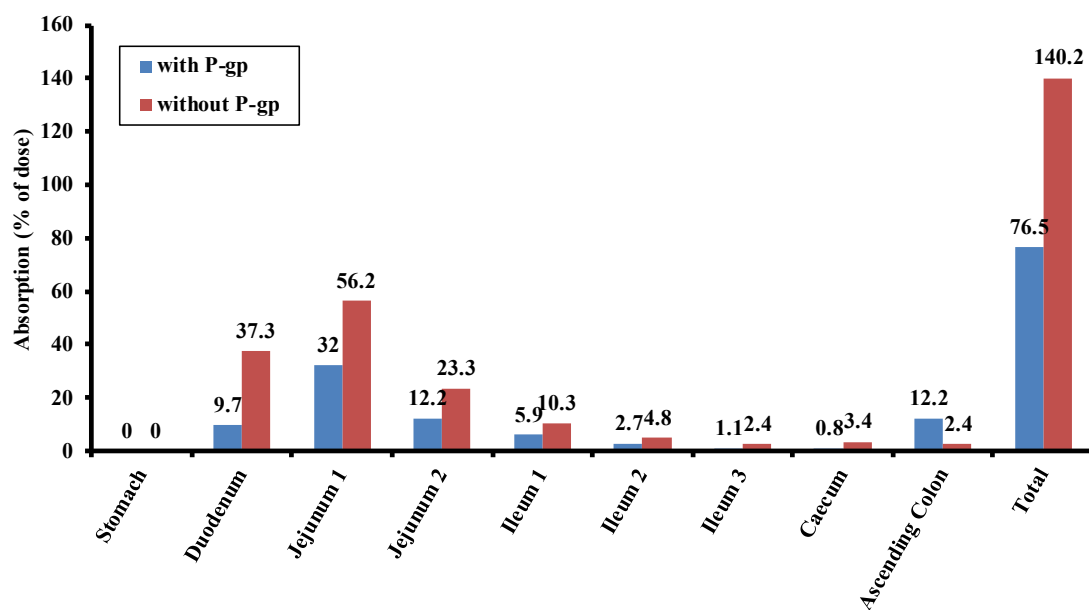


Figure 2-7 The regional absorption of edoxaban after oral administration with or without P-gp efflux activity

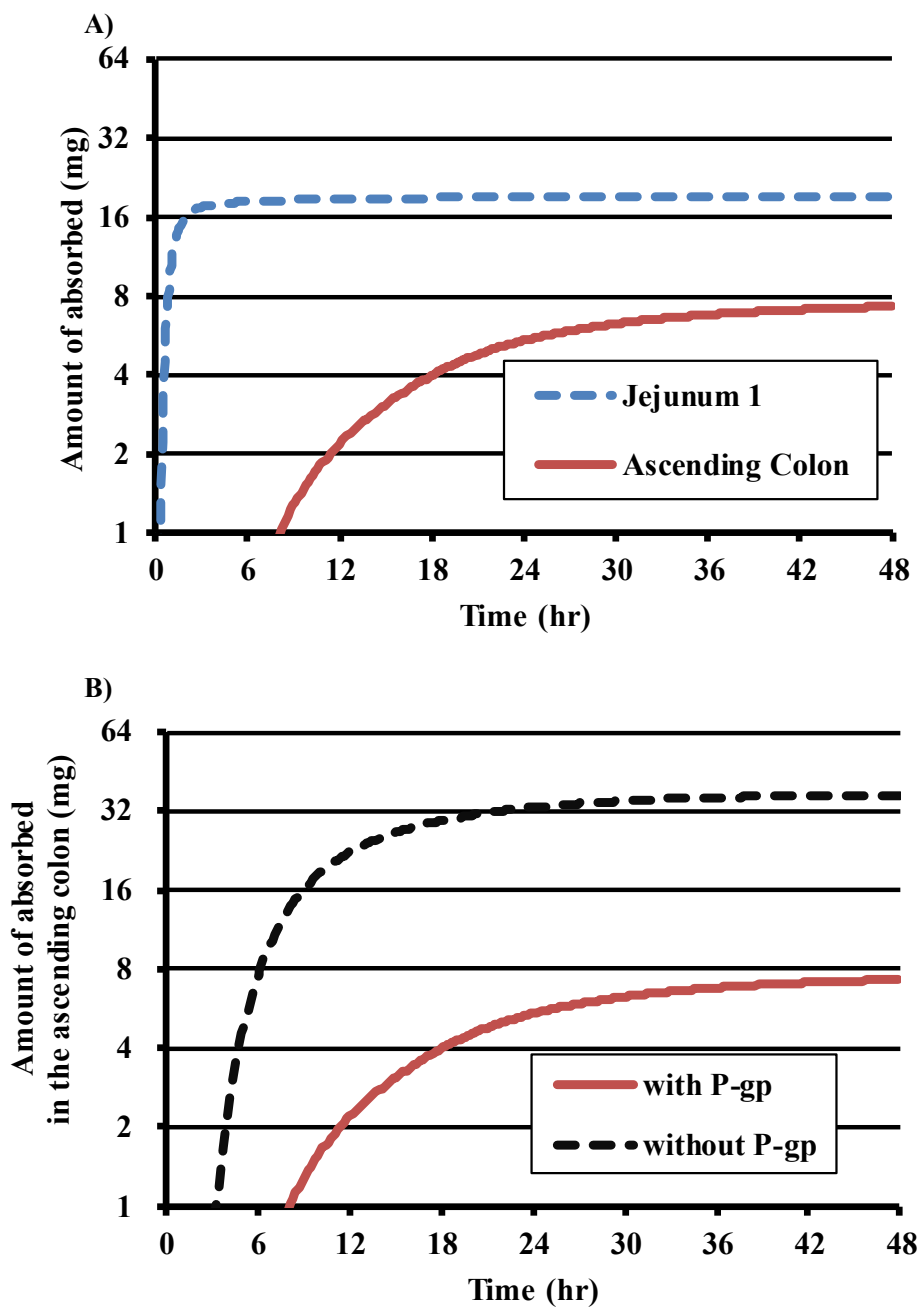


Figure 2-8 Amounts of absorbed edoxaban from the segments of the small intestine and colon in the ACAT model

エドキサバンの静脈内投与後及び経口投与後 8 時間から 24 時間における血中濃度-時間曲線の消失相の傾きの違いが腸肝循環の影響により生じたかを評価した。エドキサバンの PBPK モデルの入力因子である Biliary CL fraction を 0 に設定することで胆汁排泄が無いと仮定した。Biliary CL fraction を 0 に設定した場合における静脈内投与後及び経口投与後の血

中濃度-時間曲線を Figure 2-9 に示す。その結果、胆汁排泄の影響が PBPK モデルに組み込まれている場合と同様に、投与後 8 時間から 24 時間での血中濃度-時間曲線の消失相の傾きの違いが観察された。したがって、本結果から、フリップフロップ様の現象は腸肝循環の影響により観察された現象ではないことが考えられた。

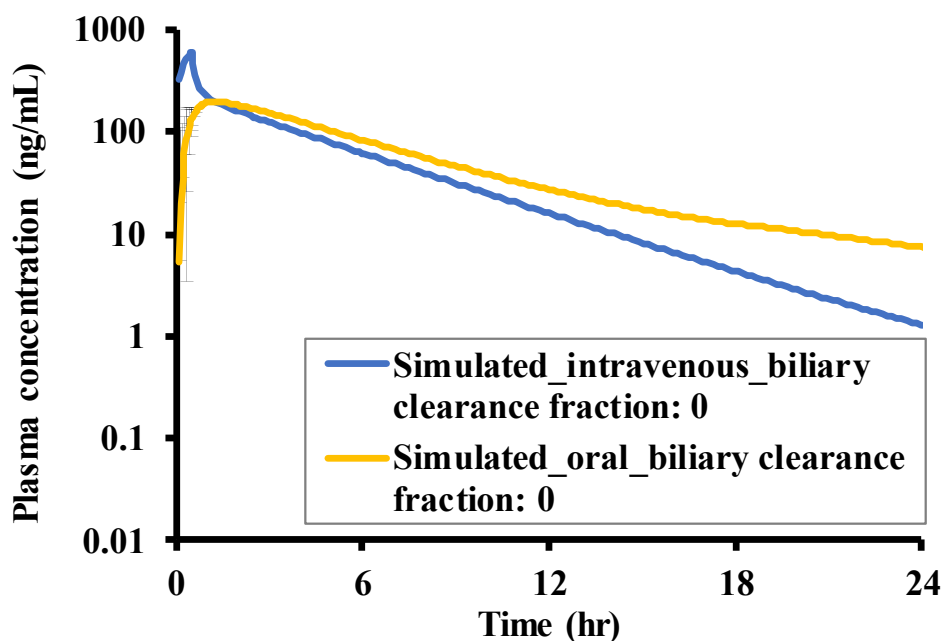


Figure 2-9 Simulated mean plasma concentration-time profiles of edoxaban after intravenous infusion (30 mg) and oral administration (60 mg) by the constructed PBPK model on the condition that the “Biliary CL fraction” was set at 0

本評価結果に基づき、エドキサバンの経口投与後の血中濃度-時間曲線が静脈内投与後と比べて緩やかな消失が認められた原因として次のように考察した。はじめに、消化管 P-gp の影響により小腸から吸収されなかったエドキサバンが大腸へと移動した。次に、エドキサバンは大腸内で P-gp の影響を受け、緩やかに吸収された。以上より、PBPK モデルを用いた評価により消化管 P-gp がエドキサバンの吸収性に与える影響について定量的な解析を行うことができた。薬物の静脈内投与後と経口投与後の血中濃度-時間曲線の消失相の傾きの違いの原因について、PBPK モデルを用いることで定量的な解析を行うことが可能となることが考えられる。

#### 第4節 小括

消化管 P-gp の影響を考慮したエドキサバンの PBPK モデルを構築し、臨床試験から得られた結果の静脈内投与後と経口投与後による血中濃度-時間曲線が精度良く記述できた。特に、静脈内投与後と経口投与後 8 時間から 24 時間での血中濃度-時間曲線の消失相の傾きの違いが PBPK モデルにより記述できた。P-gp 阻害剤を併用した臨床試験で観察されたエドキサバンの吸収性の向上は PBPK モデルを用いた評価により、主に消化管 P-gp の阻害によることが考えられた。また、PBPK モデルを用いた評価結果は消化管 P-gp がエドキサバンの吸収性に関与する重要な因子であることが示された。以上より、エドキサバンの PBPK モデルを用いた評価は消化管 P-gp がエドキサバンの体内動態に与える影響について理解するための有用な方法であると考えられる。

### 第3章 生理学的薬物動態モデリングを適用した経口固形製剤の溶出試験規格（Clinically relevant specification（CRS））設定方法の構築

#### 第1節 序論

医薬品開発では開発段階や承認後に経口固形製剤の有効成分以外の成分・分量の一部変更、製造方法の変更、及び剤形の変更等を行う場合、変更後の製剤の有効性及び安全性を保証することを目的としたバイオアベイラビリティ試験やBE試験を行う。第1章で述べたように、経口固形製剤の品質試験として適用されている溶出試験法により、主に製造品の品質に変動が無いことが調べられている。しかし近年では臨床試験により得られた結果と関連した、薬物のバイオアベイラビリティやBEを考慮した溶出試験法の設定事例が報告されている<sup>20)</sup>。溶出試験規格については主に臨床試験に用いられた製剤溶出性の実績に基づき設定されているが、溶出性の変動がバイオアベイラビリティに著しい影響を与える場合、許容できないバイオアベイラビリティを示す製造品を排除し得るような規格、すなわちCRSを設定することが望ましい。したがって、PBPKモデルを活用し臨床薬物体内動態を予測することによりCRSが設定可能となることが考えられる。CRSの設定により、製剤の重要工程パラメータ（Critical process parameter、CPP）並びに重要品質特性（Critical quality attribute、CQA）の変動が臨床上の有効性及び安全性に与える影響を検出することが可能となる<sup>73)</sup>。

本章では経口固形製剤を対象にBE試験結果を活用したPBPKモデリング方法によるCRS設定方法について検討した。本検討では、難水溶性化合物をモデル化合物として使用した。モデル化合物の物理化学的特性、生理学的特性、及び臨床試験に基づき構築したPBPKモデルを適用し、経口投与後の血中濃度-時間曲線を精度良く記述できるような溶出試験条件を探索し、BEが判定可能となるCRSを検討した。

## 第2節 材料及び方法

### 1. 材料

モデル化合物は第一三共株式会社製を使用した。含量 60 mg を含有するフィルムコーティング錠をモデル製剤として臨床試験及び溶出試験に用いた。製剤に含有されているモデル化合物 60 mg は pH 7.0 の緩衝液 250 mL 中に完溶しないことから、モデル化合物は難溶性化合物として分類される<sup>1)</sup>。3 種類の製剤として製剤 A～C が GMP 環境下にて製造された。これらの製剤は処方成分として同じ賦形剤、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、及びフィルムコーティング剤が用いられているが、それぞれ処方分量が異なっている。製剤の処方成分はすべて医薬品グレードが使用されている。

### 2. 方法

#### 2.1 臨床試験

PBPK モデル構築及び検証には Clinical study I、Clinical study II、及び Clinical study III の臨床試験に基づいた PK データを用いた。製剤 A はピボタル試験用製剤として臨床試験に用いられており、上市用製剤は製剤 A からの処方改良が行われたため、製剤 B 又は製剤 C を上市用候補製剤とした BE 試験が行われた。

Clinical study I は健常人の絶対バイオアベイラビリティを評価することを目的に、オープンラベルにてランダム化したクロスオーバー試験として実施された。試験では製剤 A の単回経口投与及び 30 mg の単回静脈内投与が絶食下で行われた。その結果、モデル化合物の絶対バイオアベイラビリティは約 60%であることが分かった。Clinical study II は健常人の相対的バイオアベイラビリティを評価することを目的に、オープンラベルにてランダム化したクロスオーバー試験として実施された。試験では製剤 A 及び製剤 B の単回経口投与が絶食下で行われた。その結果、 $C_{max}$  について、製剤 A と製剤 B の BE 判定パラメータの対数値の平均値の差の 90%信頼区間が  $\log(0.80)$  から  $\log(1.25)$  の範囲外であったことから、製剤 B は製剤 A に対して生物学的に非同等と判定された。なお、 $AUC_{0-48}$  については生物学的に同等と判定された。Clinical study III は健常人の相対的バイオアベイラビリティを評価することを目的に、オープンラベルにてランダム化したクロスオーバー試験として実施された。試験では製剤 A 及び製剤 C の単回経口投与が絶食下で行われた。その結果、 $C_{max}$  及び  $AUC_{0-48}$  とともに製剤 A と製剤 C の BE 判定パラメータの対数値の平均値の差の 90%信頼区間が  $\log(0.80)$  から  $\log(1.25)$  の範囲内であったことから、製剤 C が製剤 A に対して生物学的に

同等と判定された。以上の結果より、製剤 C が上市用製剤として選定された。

## 2.2 PBPK モデル構築

モデル化合物の PBPK モデルは GastroPlus を用いて構築した。本モデルの構築ではモデル化合物の吸収過程を表現するために ACAT モデルを組み込んだ。また、臨床試験では消化管 P-gp がモデル化合物の吸収性に影響を及ぼすことが明らかとなっていたため、消化管 P-gp の影響を組み込んだ PBPK モデルとした。さらに、モデル化合物は腎排泄、胆汁排泄、CYP3A4 による代謝、及び CYP3A4 以外の CYP による代謝の影響を受けることから、腎クリアランスに関連するパラメータとして  $CL_r$ 、胆汁排泄に関連するパラメータとして Biliary CL、CYP3A4 肝代謝に関連するパラメータとして  $K_m$  及び  $V_{max}$ 、肝固有クリアランスに関連するパラメータとして  $CL_{h,int}$  を PBPK モデルに組み込んだ。モデル化合物の各組織の組織-血漿間分配係数 (plasma partition coefficients、 $K_p$ ) は GastroPlus にインストールされている Rodgers、Leahy、Rowland method による  $K_p$  推定方法を使用して計算することで、PBPK モデルに組み込んだ。 $P_{eff}$  値については Clinical study I に基づいた実測の時間-血中濃度曲線に予測の曲線があてはまるように、GastroPlus に内蔵されている Optimization module を用いて最適化した。

## 2.3 溶出試験法の開発

溶出試験法は日本薬局方一般試験法溶出試験法であるパドル法を採用した。溶出試験は試験液として 900 mL、パドル回転数として 25 回転又は 50 回転で行った。溶出試験は溶出試験器 (富山産業株式会社製) を、溶出量の定量は紫外可視分光光度計 (株式会社島津製作所製) を用いた。モデル製剤の溶出試験法の選定を目的に、様々な溶出試験液及びパドル回転数を用いて検討した。Table 3-1 に評価に用いられた溶出試験条件を示す。溶出試験液は pH 1.2 の 0.1 N 塩酸、pH 4.5 の酢酸緩衝液、及び pH 6.8 のリン酸緩衝液を用いた。これらの試験液は局方に準じており、品質試験用の試験液として汎用されている。さらに、pH 3.0 のトシル酸塩溶液、pH 6.0 のクエン酸/リン酸緩衝液、及び精製水を用いた評価を行った。溶出試験機の各ベッセルに 900 mL の試験液を加え、ベッセル内温度は 37°C に設定した。試験ではそれぞれの試料は  $n = 6$  又は  $n = 12$  で試験を実施し、5、10、15、20、30、45、及び 60 分後、自動サンプリング装置にて試験液を孔径 0.45  $\mu\text{m}$  のメンブランフィルターでろ過し試料溶液とした。試料溶液は吸光度測定後自動的に試験槽内に戻された。



Table 3-1 Dissolution media and paddle rotational speeds used for dissolution method screening studies

Medium	Paddle rotational speed
0.1N HCl, Simulated gastric fluid without enzymes	25
	50
Tosylate solution (pH 3.0)	25
	50
Acetate buffer (pH 4.5)	25
	50
Citrate/phosphate buffer (pH 6.0)	50
Phosphate buffer (pH 6.8)	50
Water	25
	50

溶出試験法の識別性を評価するために、 $f_2$  関数を指標とした溶出曲線の類似性評価を行った。 $f_2$  関数は溶出試験において 2 種製剤の溶出挙動の類似性を判定する指標として用いられており、次式で表される<sup>74)</sup>。

$$f_2 = 50 \times \text{Log} \{ [1 + (1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2]^{-0.5} \times 100 \}$$

n: 平均溶出率を比較する時点の数

$R_t$ : 各時点における標準製剤の平均溶出率

$T_t$ : 各時点における試験製剤の平均溶出率

本評価では  $f_2$  関数による計算値が 50 以上の時、2 種製剤の溶出性は非類似と判定され、溶出試験法は識別性が無いと判断した。

#### 2.4 PBPK モデルの予測精度の評価

Clinical study I に基づき構築した PBPK モデルが Clinical study II 及び Clinical study III で得られた時間-血中濃度曲線を精度良く記述できるか評価することにより、PBPK モデルを検証した。溶出試験法を用いて得られた製剤 A~C の溶出曲線は GastroPlus の Compound tab 内の Dosage form として CR-Dispersed を選択することにより溶出曲線を組み込み、Weibull 関数を用いて生体内での溶出挙動と仮定し PBPK モデルに組み込むことで時間-血中濃度曲線を調べた。なお、Weibull 関数については第 1 章を参照とする。

構築した PBPK モデルの予測精度評価には Absolute percent prediction error (%PE) を評価使用として採用した。%PE は FDA ガイダンスを参考に設定した<sup>18)</sup>。本ガイダンスに基づき、構築した PK モデルでシミュレートした  $C_{max}$  及び AUC の %PE が 15%以下を満足した

時、予測精度は良好と判断した。なお、%PEについては第1章を参照とする。

## 2.5 PBPK モデルを用いた臨床試験との一致性の評価

構築した PBPK モデルを用いて臨床試験を精度良く記述できるか評価した。PBPK モデルを用いた BE 判定は GastroPlus の Population simulator 機能により検討した。本機能により、異なる薬物動態パラメータ等が組み込まれた様々な仮想被験者がランダムで生成することが可能となり、仮想の臨床試験を行うことが可能となる。PBPK モデルを用いた BE 判定では製剤 A と製剤 B との比較、製剤 A と製剤 C との比較による仮想の BE 試験により検討した。仮想の BE 試験では  $C_{max}$  及び AUC の被験者間のばらつき (Coefficient variation、CV%) が臨床試験と一致するよう PBPK モデルの入力因子として用いられる  $P_{eff}$  に対して一定のばらつきを与えた。仮想の BE 試験では  $C_{max}$  及び AUC の対数値の平均値の差の 90%信頼区間が 80.00%から 125.00%の範囲内の時、生物学的に同等と判定した。PBPK モデルを用いた一致性評価に用いた臨床試験の一覧を Table 3-2 に示す。仮想の BE 試験では得られた結果の再現性について評価するために仮想の BE 試験を 10 回繰り返し行った。

Table 3-2 Conditions for the *in silico* BE study simulations by using GastroPlus

Dosage form		CR: Integral tablet	
Controlled release		Weibull function	
Simulation mode		Population simulator	
Simulation time		10	
Samples for virtual BE study <sup>a</sup>	Clinical study II	Reference	Formulation A
		Test	Formulation B
	Clinical study III	Reference	Formulation A
		Test	Formulation C
Subject number	Clinical study II		43
	Clinical study III		57

<sup>a</sup> Simulated by crossover studies with Weibull parameters shown in Table 3-4.

## 2.6 CRS の設定

CRS は仮想の BE 試験で得られた結果に基づき設定した。CRS 設定の検討では 30 分時点の溶出率が 75%を示す製剤を仮想製剤とすることで仮想の BE 試験に用いた。仮想製剤が生物学的に同等と判定された場合、規定された有効成分の溶出率 (Q 値) として設定することとした。仮想製剤の溶出曲線は生物学的に非同等と判定された製剤 B の各時点における溶出率に係数を乗じることにより得た。上市用製剤として適用された製剤 C を比較対象として、仮想の BE 試験を検討した。なお、仮想の BE 試験の方法及び判定基準は 2.5 項を参照とする。

### 第3節 結果及び考察

#### 1. PBPK モデルの構築

GastroPlus に内蔵されている Optimization module を用い Clinical study I に基づいた実測の時間-血中濃度曲線に予測の曲線があてはまるよう  $P_{eff}$  値を最適化した。その結果、最適化した  $P_{eff}$  値として  $2.47 \times 10^{-4}$  cm/s が求められた。これは Caco-2 細胞を用いたモデル化合物の膜透過性試験から得られた  $P_{eff}$  値の  $2.06 \times 10^{-4}$  cm/s と比べて大差が無かったことから、最適化した  $P_{eff}$  値を PBPK モデルに適用することは妥当と判断した。

製剤 A の経口投与後における実測及び予測の血中濃度-時間曲線を Figure 3-1 に、 $C_{max}$ 、AUC、 $T_{max}$  の実測値と予測値、及び%PE を Table 3-3 に示す。その結果、予測の血中濃度-時間曲線は実測の曲線とほぼ一致した。また、%PE について、 $C_{max}$  は 8%、 $AUC_{inf}$  は 11%、 $AUC_{0-48}$  は 12% であり判定基準として設定した 15% 以下を満足したことから、構築した PBPK モデルは  $P_{eff}$  値を最適化することにより血中濃度-時間曲線を精度良く記述することができた。よって、構築した PBPK モデルは Clinical study I で得られた結果を精度良く記述できることが確認された。

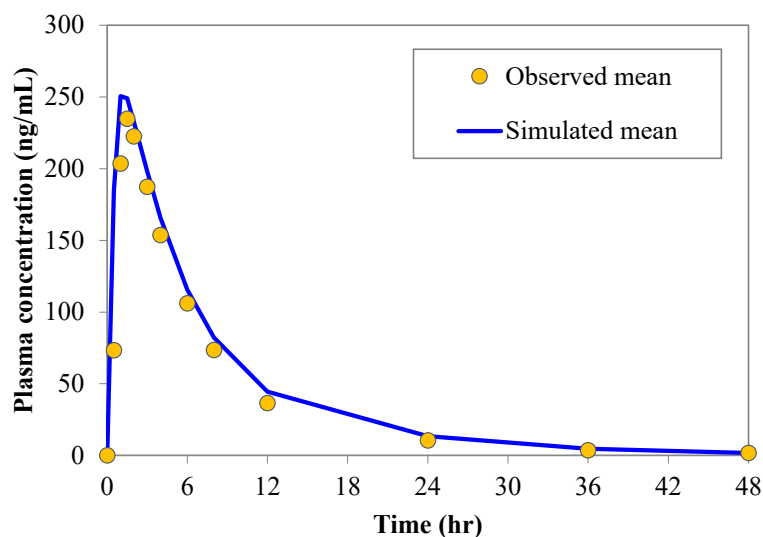


Figure 3-1 Simulated and observed PK profile after orally administered in human from Formulation A. The simulated profile (solid line) was obtained using the constructed PBPK model and the mean observed human  $C_p$ -time profiles (closed circle) was obtained by orally administered with Formulation A in Clinical Study I (n = 35).

Table 3-3  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-48}$ , and  $AUC_{inf}$ , and  $T_{max}$  predicted from a simulated human  $C_p$ -time profile and those calculated from a mean observed human  $C_p$ -time profile after orally administered with Formulation A.

PK parameters	Observed by GastroPlus (n = 35) (Clinical study I) <sup>a</sup>	Simulated	Absolute percent prediction error (%PE) <sup>b</sup>
$AUC_{0-48}$ (ng/mL·hr)	1743	1945	12
$AUC_{inf}$ (ng/mL·hr)	1773	1964	11
$C_{max}$ (ng/mL) <sup>c</sup>	234.7	254.3	8
$T_{max}$ (hr)	1.5	1.2	-

<sup>a</sup> Calculated value by the GastroPlus software based on the mean  $C_p$ -time profiles

<sup>b</sup> Criteria: NMT 15%

<sup>c</sup> Maximum plasma concentration of mean  $C_p$ -time profiles

## 2. 溶出試験法の検討

Clinical study II に基づき、製剤 A 及び製剤 A に対して非同等と判定された製剤 B の 2 種製剤間の識別性を有する溶出試験法を検討した。溶出試験法の検討結果を Figure 3-2 に示す。はじめに、得られた溶出曲線の 15 分、30 分、及び 45 分時点における製剤 A 及び製剤 B の溶出率の差を求めた。その結果、pH 3.0 のトシル酸塩溶液及びパドル回転数 25 回転の条件にて溶出性を評価した場合、15 分、30 分、及び 45 分時点における溶出率の差はそれぞれ 28%、15%、及び 8% と最も高く、識別性を有する試験法であることが明らかとなった。本結果に基づき、pH 3.0 のトシル酸塩溶液及びパドル回転数 25 回転が製剤 A 及び製剤 B の溶出率の差を検出可能となる識別性を有する試験法として選定した。

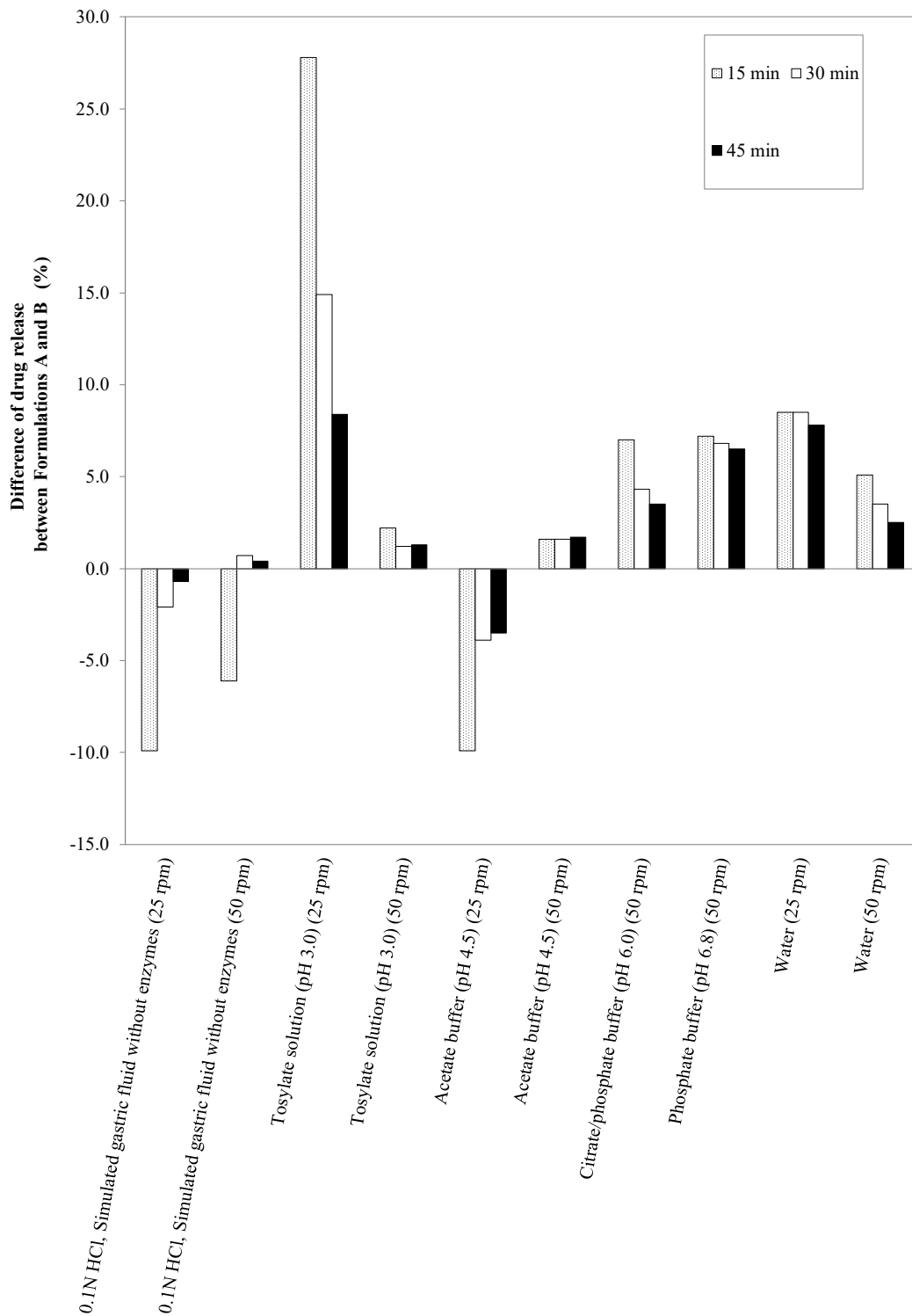


Figure 3-2 Screening study results for a dissolution method optimization to evaluate which medium and paddle rotational speed provided a discriminatory power to differentiate between Formulation A from Formulation B. The differences in the drug release at time after 15, 30, and 45 min are summarized.

次に、製剤 A と製剤 B、製剤 A と製剤 C の溶出曲線から  $f_2$  関数を求めた。pH 3.0 のトシル酸塩溶液及びパドル回転数 25 回転による製剤 A、製剤 B、及び製剤 C の溶出曲線を Figure 3-3 に示す。併せて、製剤 A と製剤 B、製剤 A と製剤 C の溶出曲線から求めた  $f_2$  関数の結果を Figure 3-3 に示す。その結果、製剤 A と製剤 B の溶出曲線から求めた  $f_2$  関数は 32 であったことから、これらの製剤は非類似と判定された。また、製剤 A と製剤 C の溶出曲線から求めた  $f_2$  関数は 72 であったことから、これらの製剤は類似と判定された。Clinical study II 及び Clinical study III では製剤 B は製剤 A と生物学的に非同等、製剤 C は製剤 A と生物学的に同等と判定されたことから、選定した溶出試験法は Clinical study II 及び Clinical study III で得られた結果を記述可能な、識別性を有する溶出試験法であることが確認された。よって、選定した溶出試験法を用いて溶出速度の変化を評価することにより許容できないバイオアベイラビリティを示すロットが識別可能となる可能性が考えられた<sup>75)</sup>。

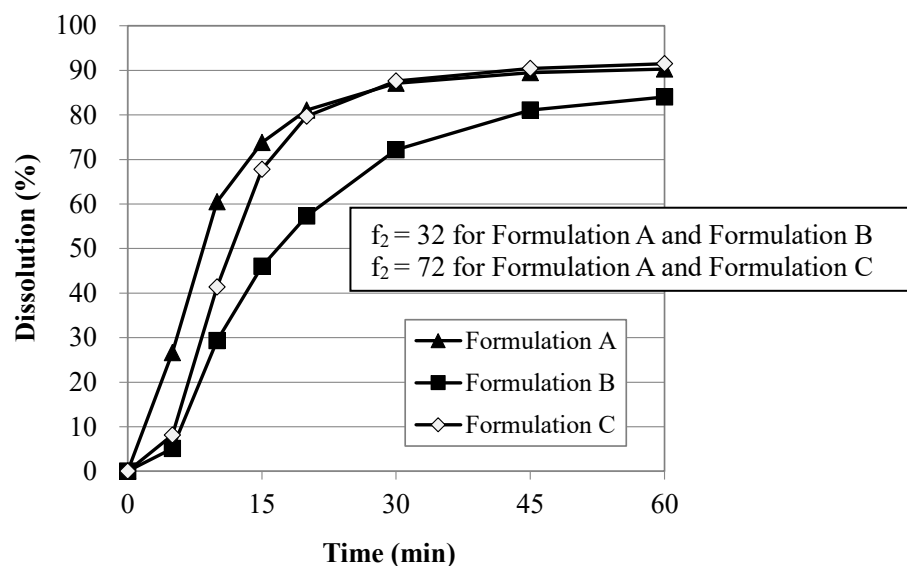


Figure 3-3 Mean dissolution profiles in tosylate solution from Formulation A vs. Formulation B vs. Formulation C (pH 3.0, 900 mL, paddle, 25 rpm, 37°C, n = 6)

### 3. PBPK モデルの検証

構築した PBPK モデルを検証することを目的に、選定した溶出試験法を用いて得られた製剤 A、製剤 B、及び製剤 C の溶出曲線を PBPK モデルに組み込むことにより血中濃度-時間曲線を求めた。製剤 A、製剤 B、及び製剤 C の溶出曲線は Figure 3-3 に示した結果を用いた。Weibull 関数から求めた溶出曲線を生体内での溶出挙動と見立て、製剤 A、製剤 B、及

び製剤 C の平均溶出曲線から求めた Weibull 関数の各入力因子を Table 3-4 に示す。

Table 3-4 Weibull parameters fitted to the mean dissolution profiles of Formulation A, Formulation B, and Formulation C in tosylate solution (pH 3.0) with paddle rotational speed of 25 rpm

Drug product	Parameter for Weibull function				
	Max	T <sub>lag</sub>	f	A	b
Formulation A	90.661	0.05513	0.98001	0.16163	0.80086
Formulation B	88.545	0.07408	0.84759	0.22108	0.98153
Formulation C	91.391	0.09384	0.86564	0.11786	1.0279

Max: Percentage of maximum release

T<sub>lag</sub>: Lag time

f: Fraction

A: Time scale factor

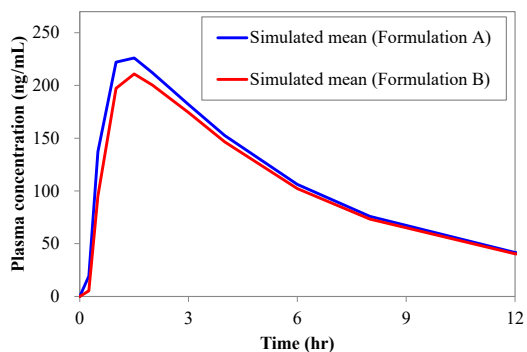
b: Shape factor

Weibull 関数から求めた溶出曲線を生体内での溶出挙動と見立て、PBPK モデルに組み込むことにより血中濃度-時間曲線を求めた。製剤 A、製剤 B、及び製剤 C の経口投与後における実測及び予測の血中濃度-時間曲線を Figure 3-4 に示す。C<sub>max</sub>、AUC、T<sub>max</sub> の実測値と予測値、及び%PE を Table 3-5 に示す。その結果、予測の血中濃度-時間曲線は Clinical study II 及び Clinical study III に基づいた実測の血中濃度-時間曲線とほぼ一致した。また、%PE はすべての製剤に対して判定基準として設定した 15%以下を満足した。したがって、製剤 A、製剤 B、及び製剤 C の溶出曲線を PBPK モデルに組み込むことにより求めた血中濃度-時間曲線は臨床試験で得られた結果を精度良く記述できたことから、PBPK モデルの妥当性が検証された。また、PBPK モデルを用いた評価により、選定した溶出試験法が生物学的に同等又は非同等と判定された製剤を識別可能な試験法であることが示された。

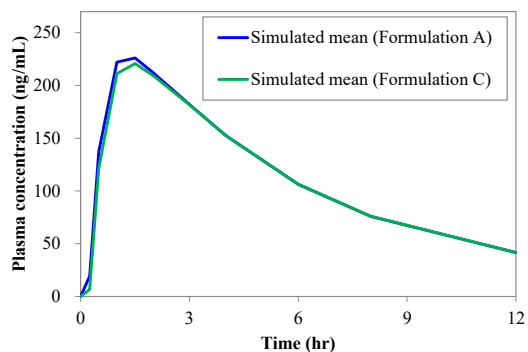
以上のことから、PBPK モデルを用いて溶出性と吸収性との関係性を評価することにより、生物学的に非同等となり得る製造品を排除するための溶出試験規格、すなわち CRS を設定できる可能性が示唆された。



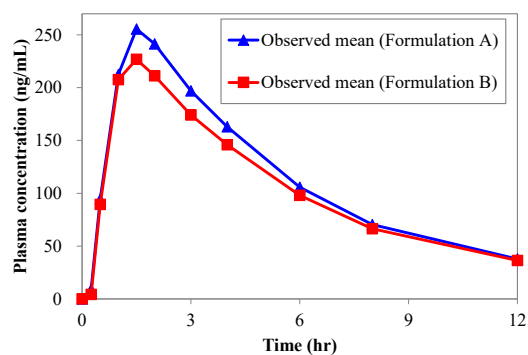
(a) Simulated (Clinical Study II)



(b) Simulated (Clinical Study III)



(c) Observed (Clinical Study II)



(d) Observed (Clinical Study III)

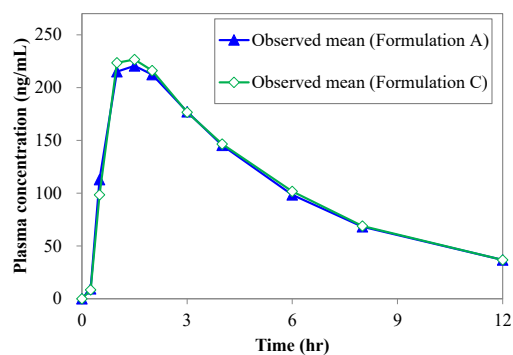


Figure 3-4 Simulated and observed  $C_p$ -time profiles from Formulation A, Formulation B, and Formulation C for a PBPK model verification using clinical study data in Clinical Study II ( $n = 43$ ) and Clinical Study III ( $n = 57$ )

Table 3-5  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-48}$ , and  $AUC_{inf}$  predicted from a simulated human  $C_p$ -time profile and those calculated from mean observed human  $C_p$ -time profiles after orally administered with Formulation A, Formulation B, and Formulation C.

Samples	PK parameters	Observed <sup>a</sup> (n = 43 or 57)	Simulated	Absolute percent prediction error (%PE) <sup>b</sup>
Formulation A in Clinical Study II	$AUC_{0-48}$ (ng/mL·hr)	1787	1767	1
	$AUC_{inf}$ (ng/mL·hr)	1815	1784	2
	$C_{max}$ (ng/mL) <sup>c</sup>	255.6	229.2	10
Formulation B in Clinical Study II	$AUC_{0-48}$ (ng/mL·hr)	1674	1682	0
	$AUC_{inf}$ (ng/mL·hr)	1710	1700	1
	$C_{max}$ (ng/mL) <sup>c</sup>	226.9	211.7	7
Formulation A in Clinical Study III	$AUC_{0-48}$ (ng/mL·hr)	1700	1767	4
	$AUC_{inf}$ (ng/mL·hr)	1742	1784	2
	$C_{max}$ (ng/mL) <sup>c</sup>	220.6	229.2	4
Formulation C in Clinical Study III	$AUC_{0-48}$ (ng/mL·hr)	1723	1754	2
	$AUC_{inf}$ (ng/mL·hr)	1763	1773	1
	$C_{max}$ (ng/mL) <sup>c</sup>	226.6	221.9	2

<sup>a</sup> Calculated value by the GastroPlus software based on the mean  $C_p$ -time profiles

<sup>b</sup> Criteria: NMT 15%

<sup>c</sup> Maximum plasma concentration of mean  $C_p$ -time profiles

#### 4. PBPK モデルを用いた臨床試験との一致性の評価

構築した PBPK モデルを用い、Clinical study II 及び Clinical study III で得られた BE の判定結果との一致性について検討した。検討では、製剤 A と製剤 B、製剤 A と製剤 C を用いて仮定の BE 試験を行った。仮定の BE 試験結果を Table 3-6 及び Table 3-7 に示す。Table 3-6 に示したように、製剤 A と製剤 B を用いて求めた仮定の BE 試験の結果、10 回行った試験の内 6 回が生物学的に非同等と判定されたことから、これらの製剤は生物学的に非同等と判定した。一方、Table 3-7 に示したように、製剤 A と製剤 C を用いて求めた仮定の BE 試験の結果、10 回すべての試験で生物学的に同等と判定されたことから、これらの製剤は生物学的に同等と判定した。よって、仮定の BE 試験結果は Clinical study II 及び Clinical study III で得られた BE の判定結果と一致したことから、PBPK モデルを用いた評価により臨床試験が精度良く記述できることが明らかとなった。したがって、構築した PBPK モデルを用いて BE を判定可能とあることが確認されたことにより CRS が設定可能となることが考えられた。

Table 3-6 BE simulation results with PBPK model (Clinical Study II: Formulation A and Formulation B)

Test		Formulation B	
Reference		Formulation A	
<i>In silico</i> BE study trial numbers		10	
Subject number		43	
C <sub>max</sub> (ng/mL)	90%CI	Criteria	80.00 to 125.00
		Observed	73.78 to 93.01
		Simulated <sup>a</sup>	77.597 to 83.669 to 101.25 to 111.98
AUC <sub>0-48</sub> (ng/mL·hr)	90%CI	Criteria	80.00 to 125.00
		Observed	87.73 to 98.09
		Simulated <sup>a</sup>	84.281 to 87.818 to 99.067 to 107.47
AUC <sub>0-inf</sub> (ng/mL·hr)	90%CI	Criteria	80.00 to 125.00
		Observed	88.01 to 98.21
		Simulated <sup>a</sup>	84.337 to 87.918 to 99.056 to 107.41
<b><i>In silico</i> BE judgment</b>		<b>4 / 10</b>	

<sup>a</sup> Left and right ranges show lower and higher limit ranges in ten trials, respectively.

Table 3-7 BE simulation results with PBPK model (Clinical Study III: Formulation A and Formulation C)

Test		Formulation C	
Reference		Formulation A	
<i>In silico</i> BE study trial numbers		10	
Subject number		57	
C <sub>max</sub> (ng/mL)	90%CI	Criteria	80.00 to 125.00
		Observed	91.77 to 115.39
		Simulated <sup>a</sup>	84.826 to 92.528 to 109.59 to 120.20
AUC <sub>0-48</sub> (ng/mL·hr)	90%CI	Criteria	80.00 to 125.00
		Observed	96.37 to 108.35
		Simulated <sup>a</sup>	92.966 to 98.346 to 109.88 to 115.23
AUC <sub>0-inf</sub> (ng/mL·hr)	90%CI	Criteria	80.00 to 125.00
		Observed	95.88 to 107.44
		Simulated <sup>a</sup>	93.041 to 98.397 to 109.88 to 115.18
<b><i>In silico</i> BE judgment</b>		<b>10 / 10</b>	

<sup>a</sup> Left and right ranges show lower and higher limit ranges in ten trials, respectively.

## 5. CRS の設定

CRS を設定することを目的に、モデル製剤の溶出試験法による規格時点及び Q 値について検討した。はじめに、選定した溶出試験法を用いて得られた製剤 A、製剤 B、及び製剤 C の溶出曲線に基づき、規格時点を設定した。Figure 3-3 に示したように、製剤 A 及び製剤 C の 30 分時点の溶出率はともに 80%以上の値を示した。本結果に基づき、欧州薬局方に記述されている溶出試験法の規格設定に関する考え方を参考に、溶出試験法の規格時点として 30 分時点を設定した。なお、妥当かつ正当な試験条件下で試験した場合、許容基準は指定された時間内に通常 45 分以下で、少なくとも 80%が放出されることが欧州薬局方では推奨されている<sup>76)</sup>。一方、製剤 B の 30 分時点の溶出率は約 70%であり、製剤 A 及び製剤 C と比較して著しく低い溶出性を有することから、設定した規格時点は生物学的に同等又は非同等であることが識別可能と判断した。

次に、Q 値を設定することを目的に、製剤 C と仮想製剤を用いて、PBPK モデルによる仮定の BE 試験を行った。仮想製剤は 30 分時点の溶出率が 75%を示す溶出曲線を有する製剤として作成した。なお、生物学的に非同等と判定された製剤 B の 30 分時点の溶出率は約 70%を示す。製剤 C と仮想製剤を用いた仮定の BE 試験結果を Table 3-8 に示す。その結果、10 回すべての試験で生物学的に同等と判定されたことから、これらの製剤は生物学的に同等と判定した。よって、モデル製剤の溶出試験法による規格時点及び Q 値として 30 分及び 75%と設定することは妥当であることが考えられた。したがって、PBPK モデルを用いて設定した溶出試験法の規格時点及び Q 値は、BE を判定可能となる CRS であることが示された。

本研究の PBPK モデルを適用した新規の予測手法により溶出曲線と吸収性との間に良好な相関関係を得ることができ、BE を判定可能となる溶出試験法の規格時点及び Q 値、すなわち CRS の設定が可能となることが明らかとなった。

Table 3-8 BE simulation results with PBPK model (Formulation C and virtual batch)

Test		Virtual batch	
Reference		Formulation C	
<i>In silico</i> BE study trial numbers		10	
Subject number		57	
C <sub>max</sub> (ng/mL)	90%CI	Criteria	80.00 to 125.00
		Simulated <sup>a</sup>	87.115 to 93.652 to 112.15 to 120.10
AUC <sub>0-48</sub> (ng/mL·hr)	90%CI	Criteria	80.00 to 125.00
		Simulated <sup>a</sup>	91.507 to 97.218 to 109.76 to 111.81
AUC <sub>0-inf</sub> (ng/mL·hr)	90%CI	Criteria	80.00 to 125.00
		Simulated <sup>a</sup>	91.559 to 97.276 to 109.69 to 111.73
<b><i>In silico</i> BE judgment</b>		<b>10 / 10</b>	

<sup>a</sup> Left and right ranges show lower and higher limit ranges in ten trials, respectively.

#### 第4節 小括

本章では難溶性のモデル化合物を用いた経口固形製剤を対象に、臨床試験で得られた結果の活用により PBPK モデルを構築し、CRS の設定方法について検討した。

モデル化合物の物理化学的特性、生理学的特性、及び臨床試験から得られた結果に基づき、PBPK モデルを構築し、臨床試験の血中濃度-時間曲線を精度良く記述できた。溶出試験法及び PBPK モデルを用いた検討を行った結果、pH 3.0 のトシル酸塩溶液及びパドル回転数 25 回転がモデル製剤の生物学的同等又は非同等を識別可能な試験法として選定された。また、PBPK モデルを用いた仮想の BE 試験により CRS を設定した。

本研究に基づき、CRS の設定方法として以下に示す方法を構築した。

- I. 化合物の物理化学的特性、生理学的特性、及び臨床試験から得られた結果に基づいた、PBPK モデルの構築
- II. 臨床試験に基づき得られた血中濃度-時間曲線と相関性を有し、かつ臨床試験用製剤の生物学的同等又は非同等が識別可能な溶出試験法の開発
- III. 選定した溶出試験法を用いて得られた溶出曲線と臨床試験に基づき得られた血中濃度-時間曲線との相関性を評価することによる PBPK モデルの検証
- IV. PBPK モデルを用いた仮想の BE 試験による CRS の設定

PBPK モデルを用いた CRS の設定方法により製剤の BE が判定可能となり、有効性及び安全性を考慮し、目標とする吸収性を達成するための CRS の設定及び処方設計等への活用が新たに可能となった。

## 総括

医薬品の製剤開発において目標とする血中濃度-時間曲線、すなわち吸収性を達成するような処方及び製造方法を設計することは有効性並びに安全性を保証するために重要である。製剤開発を効率的かつ適切に進めるためにはより優れた製剤開発システムを適用して候補製剤を設計し、臨床試験での成功確率を高める必要がある。錠剤やカプセル剤などの経口固形製剤は通常、経口投与後に製剤が崩壊し主薬が溶解することによって消化管から吸収される。このため、投与後の製剤溶出性並びに吸収性を推定するために、溶出試験法を適用した経口固形製剤の溶出性に関連する評価系を確立することは製剤開発において重要なプロセスとなる。また、多くの薬物は消化管、肝臓、及び腎臓等に発現しているトランスポーターや代謝酵素によって排泄及び代謝されることから、より正確なバイオアベイラビリティを推定するためには、吸収、分布、代謝、及び排泄の影響を考慮した評価系を構築する必要がある。これらの課題に対して、PBPK モデルの構築及び溶出試験法の開発を行うことにより、経口固形製剤の非臨床及び臨床試験を精度良く記述できることから、より効率的な製剤開発に応用できる可能性が期待される。また、臨床試験で得られた結果を活用した PBPK モデルの構築及び溶出試験法の開発により、BE を判定可能な溶出試験規格である CRS が設定できる可能性が考えられる。本研究では難水溶性化合物を対象とした経口固形製剤の PK モデル及び溶出試験法を組み合わせた吸収性の予測方法の構築と製剤設計への適用可能性について検討した。また、エドキサバンの臨床試験に基づき、吸収、分布、代謝、及び排泄の影響を考慮した PBPK モデルを構築し、消化管 P-gp がエドキサバンの体内動態に及ぼす影響について定量的解析を行った。さらに、BE 試験結果を活用した、PBPK モデル及び溶出試験法を組み合わせた吸収性の評価による経口固形製剤の CRS の設定方法について検討した。

第 1 章では経口製剤の設計に応用可能となる吸収性の予測方法の構築を目的に、難水溶性化合物を用いた速放性を有する経口製剤を対象に、PK モデリング及び溶出試験法を組み合わせた吸収性の予測方法について検討した。難溶性化合物として用いた CS-758 の物理化学的特性、生理学的特性、及びラットへの溶液経口投与後の血中濃度-時間曲線に基づき PK モデルを構築した。また、PK モデルを用いて、ラットへの懸濁液経口投与後の血中濃度-時間曲線を推定できるような溶出試験法を開発した。構築した PK モデルを検証した結果、ラットへの固体分散体懸濁液の経口投与後における血中濃度-時間曲線を精度の良く記述可能なモデルであることが示された。

第2章ではエドキサバンをモデル化合物として消化管に発現している P-gp がエドキサバンの吸収性に与える影響を定量的に解析することを目的に、PBPK モデルを用いて検討した。エドキサバンの物理化学的特性、生理学的特性、非臨床試験、及び臨床試験に基づき、消化管 P-gp の影響を組み込んだ PBPK モデルを構築し、臨床試験から得られた静脈内投与後と経口投与後における血中濃度-時間曲線を精度良く記述することができた。また、P-gp 阻害剤を併用した臨床試験で観察されたエドキサバンの吸収性の向上は PBPK モデルを用いた検討により消化管 P-gp の阻害による影響が考えられた。よって、PBPK モデルを用いた検討により、消化管 P-gp がエドキサバンの吸収性を支配する重要な因子であることが示された。

第3章では難溶性化合物をモデル化合物として用いた経口固形剤の CRS について検討した。モデル化合物の物理化学的特性、生理学的特性、非臨床試験、及び臨床試験から得られた結果に基づき、PBPK モデルを構築した。PBPK モデルは臨床試験から得られた血中濃度-時間曲線を精度良く記述することができた。溶出試験法について検討した結果、pH 3.0 のトシル酸塩溶液及びパドル回転数 25 回転が生物学的に同等又は非同等の製剤を識別可能な試験法であることが明らかとなった。構築した PBPK モデルを用いた仮想の BE 試験により CRS を設定した。

以上、PK モデリング及び溶出試験法を組み合わせた吸収性の予測、消化管 P-gp の影響を組み込んだ PBPK モデル構築、及び PBPK モデルを用いた CRS 設定により、バイオアベイラビリティの高精度な予測による製剤開発が可能となり、臨床試験での成功確率を高めることが期待される。本研究により検討した新規の吸収性の予測方法及び評価方法は、医薬品の製剤開発における臨床試験での成功確率の向上並びに上市製剤の有効性及び安全性の保証への貢献に寄与するものと考えられる。



## 学術雑誌掲載論文目録

本学位論文は、以下の論文を基礎とするものである。

1. Kato T, Watanabe T, Nakamura K, and Ando S. Integration of *in silico* pharmacokinetic modeling approaches into *in vitro* dissolution profiles to predict bioavailability of a poorly soluble compound. *J Pharm Sci.* 2019;108:3723–28.
2. Kato T, Nakagawa H, Mikkaichi T, Miyano T, Matsumoto Y, and Ando S. Establishment of a clinically relevant specification for dissolution testing using physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling approaches. *Eur J Pharm Biopharm.* 2020;151:45–52.
3. Kato T, Mikkaichi T, Yoshigae Y, Okudaira N, Shimizu T, Izumi T, Ando S, and Matsumoto Y. Quantitative analysis of an impact of P-glycoprotein on edoxaban's disposition using a human physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model. *Int J Pharm.* 2021;597:120349.

## 謝辞

本研究を行うに際して終始御懇篤なる御指導ならびに御鞭撻を賜りました日本大学大学院薬学研究科教授 松本 宜明先生に深甚なる感謝の意を表します。

本研究の実施と発表の機会を与えてくださり、終始御激励と御配慮を賜りました第一三共株式会社 製剤技術研究所 所長 宮島 誠 博士、製剤技術研究所 元所長 安藤 秀一 博士、製剤技術研究所 藤井 祐三子 氏、大野 育正 博士、荒井 宏明 博士、鈴木 聡 氏に厚く御礼申し上げます。

本研究の完成に至るまで、終始有益なる御指導ならびに御助言を賜りました第一三共株式会社 渡部 知行 博士、中川 弘司 博士、三日市 剛 博士に心より厚く御礼申し上げます。

さらに、本研究を遂行するにあたり種々のご協力をいただきました第一三共ヨーロッパ GmbH Nantharat Pearnchob-Höhling 博士、第一三共株式会社 福井 幸子 氏、宮野 拓也 博士、中村 晃一 氏、吉ヶ江 泰志 博士、井上 晋一 博士、清水 貴子 博士、前田 賀津子 氏、前田 仁 博士、サターラ合同会社 Simcyp 奥平 典子 博士、公益財団法人 木原記念横浜生命科学振興財団 泉 高司 博士、ノーザンサイエンスコンサルティング株式会社 東嶋 知彦 氏に心から感謝の意を表します。

本研究を遂行するにあたり、終始御助言、御協力をいただきました第一三共株式会社 製剤技術研究所の諸氏に心より感謝いたします。

最後に終始励まし、支えてくれた家族に心から感謝いたします。

## 引用文献

1. Dressman JB, Reppas C. In vitro–in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *Eur J Pharm Sci* 2000;11:S73-S80.
2. Balan G, Timmins P, Greene DS, et al. In-vitro in-vivo correlation models for glibenclamide after administration of metformin/glibenclamide tablets to healthy human volunteers. *J Pharm Pharmacol* 2000;52:831-8.
3. Nicolaides E, Symillides M, Dressman JB, et al. Biorelevant dissolution testing to predict the plasma profile of lipophilic drugs after oral administration. *Pharm Res* 2001;18:380-8.
4. Balan G, Timmins P, Greene DS, et al. In vitro–in vivo correlation (IVIVC) models for metformin after administration of modified-release (MR) oral dosage forms to healthy human volunteers. *J Pharm Sci* 2001;90:1176-85.
5. Sirisuth N, Augsburger LL, Eddington ND. Development and validation of a non-linear IVIVC model for a diltiazem extended release formulation. *Biopharm Drug Dispos* 2002;23:1-8.
6. Sunesen VH, Pedersen BL, Kristensen HG, et al. In vivo in vitro correlations for a poorly soluble drug, danazol, using the flow-through dissolution method with biorelevant dissolution media. *Eur J Pharm Sci* 2005;24:305-13.
7. Ghosh A, Bhaumik UK, Bose A, et al. Extended release dosage form of glipizide: development and validation of a level A in vitro–in vivo correlation. *Biol Pharm Bull* 2008;31:1946-51.
8. Macha S, Yong CL, Darrington T, et al. In vitro–in vivo correlation for nevirapine extended release tablets. *Biopharm Drug Dispos* 2009;30:542-50.
9. Rossi RC, Dias CL, Bajerski L, et al. Development and validation of discriminating method of dissolution for fosamprenavir tablets based on in vivo data. *J Pharm Biomed Anal* 2011;54:439-44.
10. Saibi Y, Sato H, Tachiki H. Developing in vitro–in vivo correlation of risperidone immediate release tablet. *AAPS PharmSciTech* 2012; 13:890-5.
11. Guhmann M, Thommes M, Gerber F, et al. Design of biorelevant test setups for the prediction of diclofenac in vivo features after oral administration. *Pharm Res* 2013;30:1483-501.
12. Kesisoglou F, Rossenu S, Farrell C, et al. Development of in vitro-in vivo correlation for extended-release niacin after administration of hypromellose-based matrix formulations to healthy volunteers. *J Pharm Sci* 2014;103:3713-23.

13. Li S, He H, Parthiban LJ, et al. IV-IVC considerations in the development of immediate-release oral dosage form. *J Pharm Sci* 2005;94:1396-417.
14. Bredael GM, Bowers N, Boulineau F, et al. In vitro–in vivo correlation strategy applied to an immediate-release solid oral dosage form with a Biopharmaceutical Classification System IV compound case study. *J Pharm Sci* 2014;103:2125-30.
15. Honorio TS, Pinto EC, Rocha HV, et al. In vitro–in vivo correlation of efavirenz tablets using GastroPlus<sup>®</sup>. *AAPS PharmSciTech* 2013;14:1244-54.
16. Saibi Y, Sato H, Tachiki H. Developing in vitro–in vivo correlation of risperidone immediate release tablet. *AAPS PharmSciTech* 2012;13:890-5.
17. Khan MZI, Raušl D, Zanoški R, et al. Classification of loratadine based on the biopharmaceutics drug classification concept and possible in vitro-in vivo correlation. *Biol Pharm Bull* 2004;27:1630-5.
18. FDA. Guidance for industry. Extended release oral dosage forms: development, evaluation and application of in vitro/in vivo correlations. Rockville (MD): Center for Drug Evaluation and Research (CDER), US Department of Health and Human Services; 1997.
19. Haiyan G, David E, Gregory K. W, et al. Industry's view on using quality control, biorelevant, and clinically relevant dissolution tests for pharmaceutical development, registration, and commercialization. *J Pharm Sci* 2018;107:34-41.
20. Lucija V, M. Zahirul I. K, D Špoljarić, et al. Development of a clinically relevant dissolution method for metaxalone immediate release formulations based on an IVIVC model. *Pharm Res* 2018;35:163.
21. Paul A. Dickinson, Wang W L, Paul W. S, et al. Clinical relevance of dissolution testing in quality by design. *The AAPS Journal* 2008;10:280-90.
22. Kesisoglou F, Hermans A, Neu C, et al. Development of in vitro–in vivo correlation for amorphous solid dispersion immediate-release suvorexant tablets and application to clinically relevant dissolution specifications and in-process controls. *J Pharm Sci* 2015;104:2913-22.
23. Fenner KS, Troutman M D, Kempshall S, et al. Drug-drug interactions mediated through P-glycoprotein: Clinical relevance and in vitro-in vivo correlation using digoxin as a probe drug. *Clin Pharmacol Ther.* 2009;85:173-81.

24. Takano J, Maeda K, Bolger M B, et al. The prediction of the relative importance of CYP3A/P-glycoprotein to the nonlinear intestinal absorption of drugs by advanced compartmental absorption and transit model. *Drug Metab Dispos.* 2016;44:1808-18.
25. Karlbom U, Lazorova L, Gråsjö J, et al. Regional levels of drug transporters along the human intestinal tract: co-expression of ABC and SLC transporters and comparison with Caco-2 cells. *Eur J Pharm Sci.* 2006;29:269-77.
26. Bruyère A, Declèves X, Bouzom F, et al. Effect of variations in the amounts of P-glycoprotein (ABCB1), BCRP (ABCG2) and CYP3A4 along the human small intestine on PBPK models for predicting intestinal first pass. *Mol Pharm.* 2010;7:1596-607.
27. Shimizu M, Uno T, Sugawara K, et al. Effects of itraconazole and diltiazem on the pharmacokinetics of fexofenadine, a substrate of P-glycoprotein. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;61:538-44.
28. European Medicines Agency, Committee for Human Medicinal Products (CHMP), Guideline on the investigation of drug interactions; 2012.
29. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry, Clinical Drug Interaction Studies - Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions; 2020.
30. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry, In Vitro Drug Interaction Studies - Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions Guidance for Industry; 2020.
31. MHLW. Guideline on drug interaction for drug development and appropriate provision of information ; 2018.
32. Neuhoff S, Yeo K R, Barter Z, et al. Application of permeability-limited physiologically-based pharmacokinetic models: Part II - prediction of P-glycoprotein mediated drug–drug interactions with digoxin. *J Pharm Sci.* 2013;102:3161-173.
33. Rowland M, Peck C, and Tucker G. Physiologically-based pharmacokinetics in drug development and regulatory science. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2011;51:45-73.
34. Huang S M and Rowland M. The role of physiologically based pharmacokinetic modeling in regulatory review. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;91:542–49.

35. Wagner C, Pan Y, Hsu V, et al. Predicting the effect of cytochrome P450 inhibitors on substrate drugs: analysis of physiologically based pharmacokinetic modeling submissions to the US Food and Drug Administration. *Clin Pharmacokinet.* 2015;54:117-27.
36. Wagner C, Pan Y, Hsu V, et al. Predicting the effect of CYP3A inducers on the pharmacokinetics of substrate drugs using physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling: an analysis of PBPK submissions to the US FDA. *Clin Pharmacokinet.* 2016;55:475-83.
37. Shebley M, Sandhu P, Riedmaier A E, et al. Physiologically based pharmacokinetic model qualification and reporting procedures for regulatory submissions: a consortium perspective. *Clin Pharmacol Ther.* 2018;104:88-110.
38. Lavé T, Parrott N, Grimm H P, et al. Challenges and opportunities with modelling and simulation in drug discovery and drug development. *Xenobiotica* 2007;37:1295-310.
39. Nestorov I. Whole-body physiologically based pharmacokinetic models. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2007;3:235-49.
40. Jones H M and Yeo K R. Basic concepts in physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2013;2:e63.
41. Jones H M, Chen Y, Gibson C, et al. Physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development: a pharmaceutical industry perspective. *Clin Pharmacol Ther* 2015;97:247-62.
42. 厚生労働省医薬・生活衛生局 医薬品審査管理課. 生理学的薬物速度論モデルによる解析及び解析報告書に関するガイドライン (案). 2019年.
43. Xuan D, Minxia H, Rajesh K, et al. Investigation of clinical pharmacokinetic variability of an opioid antagonist through physiologically based absorption modeling. *J Pharm Sci* 2013;102:2859-74.
44. John C, Fernando A-N, Vincent C, et al. Utilizing physiologically based pharmacokinetic modeling to inform formulation and clinical development for a compound with pH-dependent solubility. *J Pharm Sci* 2015;104:1522-32.
45. Neil J P, Li J Y, Ryusuke T, et al. Physiologically based absorption modeling to explore the impact of food and gastric pH changes on the pharmacokinetics of alectinib. *The AAPS Journal* 2016;18:1464-74.

46. Varma M V S, Lai Y, Kimoto E, et al. Mechanistic modeling to predict the transporter and enzyme-mediated drug-drug interactions of repaglinide. *Pharm Res.* 2013;30:1188-99.
47. Gertz M, Cartwright C M, Hobbs M J, et al. Cyclosporine inhibition of hepatic and intestinal CYP3A4, uptake and efflux transporters: Application of PBPK modeling in the assessment of drug-drug interaction potential. *Pharm Res.* 2013;30:761-80.
48. Mirza T, Bykadi S A, Ellison C D, et al. Use of in vitro–in vivo correlation to predict the pharmacokinetics of several products containing a BCS class 1 drug in extended release matrices. *Pharm. Res* 2013;30:179-90.
49. Crison J R, Timmins P, Keung A, et al. Biowaiver approach for biopharmaceutics Classification system class 3 compound metformin hydrochloride using in silico modeling. *J Pharm Sci* 2012;101:1773-82.
50. Kostewicz E S, Aarons L, Bergstrand M, et al. PK models for the prediction of in vivo performance of oral dosage forms. *Eur J Pharm Sci* 2014;57:300-21.
51. Kagoshima Y, Mori M, Suzuki E, et al. Synthesis, cleavage, and antifungal activity of a number of novel, water-soluble ester prodrugs of antifungal triazole CS-758. *Biroog Med Chem* 2009;19:3559-63.
52. Sekiguchi K, Obi N. Studies on absorption of eutectic mixture. I. A comparison of the behavior of eutectic mixture of sulfathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man. *Chem Pharm Bull* 1961;9:866-72.
53. Agoram B, Woltoz W S, Bolger M B. Predicting the impact of pharmacokinetic and biochemical processes on oral drug bioavailability. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;50:S41-S67.
54. Emoto C, Murayama N, Rostami-Hodjegan A, et al. Utilization of estimated physicochemical properties as an integrated part of predicting hepatic clearance in the early drug-discovery stage: Impact of plasma and microsomal binding. *Xenobiotica* 2009;39:227-35.
55. Wang B, Liu Z, Li D, et al. Application of physiologically based pharmacokinetic modeling in the prediction of pharmacokinetics of bicyclol controlled-release formulation in human. *Eur J Pharm Sci* 2015;77:265-72.
56. Babiskin A H, Zhang X. Application of pharmacokinetic based absorption modeling for amphetamine salts drug products in generic drug evaluation. *J Pharm Sci* 2015;104:3170-82.

57. Matsushima N, Lee F, Sato T, et al. Bioavailability and Safety of the Factor Xa Inhibitor Edoxaban and the Effects of Quinidine in Healthy Subjects. *Clinical Pharmacology in Drug Development* 2013;2:358-66
58. Mikkaichi T, Yoshigae Y, Masumoto H, et al. Edoxaban transport via P-glycoprotein is a key factor for the drug's disposition. *Drug Metab Dispos.* 2014;42:520-28.
59. Mendell J, Zahir H, Matsushima N, et al. Drug-drug interaction studies of cardiovascular drugs involving P-glycoprotein, an efflux transporter, on the pharmacokinetics of edoxaban, an oral factor Xa inhibitor. *Am J Cardiovasc Drugs* 2013;13:331-42.
60. Parasrampur D A, Mendell J, Shi M, et al. Edoxaban drug-drug interactions with ketoconazole, erythromycin, and cyclosporine. *Br J Clin Pharmacol* 2016;82:1591-1600.
61. S. Inoue, E M Howgate, K Rowland-Yeo, et al. Prediction of in vivo drug clearance from in vitro data. II: Potential inter-ethnic differences. *Xenobiotica* 2006;36:499-513
62. Mary F Paine, Mehraneh Khalighi, Jeannine M Fisher, et al. Characterization of interintestinal and intrainestinal variations in human CYP3A-dependent metabolism. *J Pharm Exp Ther* 1997;283:1552-62
63. Bathala M S, Masumoto H, Oguma T, et al. Pharmacokinetics, Biotransformation, and Mass Balance of Edoxaban, a Selective, Direct Factor Xa Inhibitor, in Humans. *Drug Metabolism and Disposition.* 2012;40:2250-55.
64. Yoshigae Y, Masumoto H, Okazaki O, et al. Bioavailability, mass-balance, and metabolism of edoxaban after oral administration to rats and monkeys. *AAPS J* 2010;12:W4378.
65. Agoram B, Woltosz W S, and Bolger M B. Predicting the impact of physiological and biochemical processes on oral drug bioavailability. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;50:S41-S67.
66. Michaelis L and Menten M L. Kinetics of invertin action. *FEBS Letters* 2013;587:2712-20
67. Price P S, Conolly R B, Chaisson C F, et al. Modeling Interindividual Variation in Physiological Factors Used in PBPK Models of Humans. *Crit Rev Toxicol.* 2003;33:469-503.
68. Haddad S, Restieri C, and Krishnan K. Characterization of age-related changes in body weight and organ weights from birth to adolescence in humans. *J Toxicol Environ Health, Part A.* 2001;64:453-64.
69. Rodgers T, Leahy D, and Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modeling 1: predicting the tissue distribution of moderate-to-strong bases. *J Pharm Sci.* 2005;94:1259-76.



70. Rodgers T and Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modeling 2: predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions. *J Pharm Sci.* 2006;95:1238-57.
71. Guest E J, Aarons L, Houston J B, et al. Critique of the twofold measure of prediction success for ratios: application for the assessment of drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos.* 2011;39:170-3.
72. Sager J E, Yu J, Ragueneau-Majlessi I, et al. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulation approaches: a systematic review of published models, applications, and model verification. *Drug Metab Dispos.* 2015;43:1823-37.
73. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Pharmaceutical Development Q8 (R2) (2009) International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use.
74. FDA. Guidance for industry. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. Rockville (MD): Center for Drug Evaluation and Research (CDER), US Department of Health and Human Services; 1997.
75. International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH harmonized tripartite guideline. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1). Geneva, Switzerland: ICH; November 2005.
76. European Pharmacopoeia, 9th ed., European Department for the Quality of Medicines, Council of Europe, Strasbourg, France, 2016.