

不眠症治療薬レンボレキサントの
薬物動態及び代謝物特性の把握と
薬物間相互作用予測に関する研究

2023

上野 孝哉

目次

略語表	3
第一章 序論	5
第二章 ラット及びサルにおけるレンボレキサントの吸収，分布，代謝及び排泄	8
第一節 緒言	8
第二節 結果	9
2-2-1. 血液，血漿及び血球中放射能濃度推移	9
2-2-2. 尿，糞及び胆汁中への排泄	11
2-2-2. ラットにおける組織分布性	12
2-2-3. 血漿，尿，糞及び胆汁中代謝物のプロファイリング及び構造解析	14
第三節 考察	29
第四節 結論	30
第三章 ヒトにおけるレンボレキサントの体内動態	31
第一節 緒言	31
第二節 結果	32
3-2-1. レンボレキサント及び代謝物の血漿中体内動態	32
3-2-2. 尿及び糞中への排泄	33
3-2-3. 血漿，尿及び糞中代謝物のプロファイリング及び構造解析	34
3-2-4. 代謝物のオレキシシン受容体への結合親和性	46
3-2-5. P-gp 及び BCRP 発現細胞を用いた経細胞輸送	46
3-2-6. ヒト血漿中蛋白結合率評価	47
3-2-7. ヒト及び動物間における代謝物の血漿中暴露量比較	47
第三節 考察	49
第四節 結論	52
第四章 生理学的薬物速度論モデルを用いた CYP3A 阻害剤併用時におけるレンボレキサントの薬物動態に及ぼす影響予測と用量設定への活用	53
第一節 緒言	53
第二節 結果	54
4-2-1. PBPK モデルの構築	54
4-2-2. PBPK モデルの検証：血漿中濃度推移の予測	56
4-2-3. PBPK モデルの検証：DDI の予測	58
4-2-4. 中程度及び弱い CYP3A 阻害剤併用時における DDI シミュレーション	60

第三節	考察	60
第四節	結論	62
第五章	総括	63
実験の部		66
発表論文目録		80
引用文献		81
謝辞		88

略語表

ADAM	advanced dissolution, absorption, and metabolism
AMS	accelerator mass spectrometry
AUC _(0-24h)	area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours
AUC _(0-inf)	area under the concentration-time curve from time zero to infinity
AUCR	ratio between the area under the concentration-time curves in the presence and absence of an inhibitor or inducer
BBB	blood-brain barrier
BCRP	breast cancer resistant protein
CFR	corrected flux ratio
CHO	Chinese Hamster Ovary
CL _{int}	intrinsic clearance
C _{max}	maximum concentration
C _{max} R	ratio between the maximum concentrations in the presence and absence of an inhibitor or inducer
CYP	cytochrome P450
DDI	drug-drug interaction
EMA	European Medicines Agency
fa	fraction of the oral dose absorbed
fg	intestinal availability
FDA	Food and Drug Administration
HPLC	high performance liquid chromatography
IC ₅₀	the half maximal inhibitory concentration
ICH	International Council for Harmonization
IR	immediate release
K _p	tissue to plasma partition coefficient
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LLC-PK1	Lilly Laboratories cell porcine kidney 1
logP	logarithm of the octanol-water partition coefficient
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney
MIST	Metabolite in Safety Testing
M&S	modeling & simulation
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
OX1R	orexin-1 receptor
OX2R	orexin-2 receptor
OXA	orexin-A peptide
P_{app}	apparent permeability coefficient
P_{eff}	effective membrane permeability in humans
PBPK	physiologically-based pharmacokinetic
PBS	phosphate buffered saline
P-gp	P-glycoprotein
PK	pharmacokinetic
pKa	negative logarithm of the acid dissociation constant
pMC	percentage Modern Carbon
PMDA	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency
QOL	quality of life
t_{max}	time to reach maximum concentration
V_{ss}	volume of distribution at steady state

第一章 序論

生体に投与された薬物は、吸収、分布、代謝、排泄を受け、生体内から消失する。これらの過程で、標的部位に到達した薬物は主薬効を発現する一方、意図しない部位で副作用を引き起こすことがある。一般的な低分子化合物による薬剤の多くでは、主薬効や副作用は血漿または組織中濃度と相関するため、薬物動態を正確に把握することが医薬品の有効かつ安全な使用に不可欠である。

医薬品開発では、ヒトにおける薬物の動態特性を詳細に把握するため、ヒト生体試料を用いた *in vitro* 評価、動物における薬物動態試験、臨床薬理試験などの様々な評価が実施される。1990年代には、医薬品の開発中止の最大要因は薬物動態に起因することが多かったものの、ヒト生体由来の細胞・組織画分を利用した薬物動態研究の進展によって、2000年代には薬物動態が原因での開発中止は大幅に低下した[1]。

投与薬物に対する動態把握が充実してきた一方で、生体内で生じる代謝物が活性代謝物として薬理作用を示すことや、薬物間相互作用 (DDI) を引き起こすこと、また毒性代謝物として安全性の懸念となることがしばしば報告されている。このため、米国 FDA によって発行された MIST (Metabolite in Safety Testing) ガイダンス及び ICH M3(R2) ガイダンスでは、代謝物自身を評価対象化合物とした非臨床安全性評価の必要性を精査するために、ヒトにおける循環血中代謝物と薬物関連物質の暴露量比を評価するとともに、非臨床毒性試験において動物での代謝物暴露量がヒトで認められた暴露量よりも高いことを確認するように推奨している[2],[3]。また、米国 FDA, EMA, 厚生労働省から発行された DDI に関するガイダンス・ガイドラインにおいても、投与薬物 (未変化体, 親化合物) に対する代謝物の暴露量比を指標に、一定以上の暴露量を示す代謝物の DDI リスクを評価することが推奨されている[4],[5],[6]。このように、投与薬物だけでなく、生体内で生じる代謝物の特性把握並びに薬効や毒性、DDI への影響を精査することは、医薬品開発過程において極めて重要なステップとなっている。

中枢作用薬の開発では、中枢移行性の向上が薬物動態面における重要な課題である。血液脳関門(BBB)を介した脳移行性研究の進展により、化合物の脂溶性と受動拡散による膜透過性の相関解析や、脳血管内皮細胞に発現し化合物の脳移行性を制御する P-gp (P-glycoprotein) や BCRP (breast cancer resistant protein) といったトランスポーターの基質認識性に着目した中枢移行性評価系の構築がなされ、近年、探索開発早期の化合物スクリーニングとして実施されることで、脳移行性の高い候補化合物が取得されるようになった。

一般的に、薬物は生体内で親水性の高い代謝物に変換され、生体外へ排泄される。薬物の脳移行性はその脂溶性と相関することが知られており[7]、従来、脂溶性が低下した

代謝物の中枢組織における主薬効及び毒性への関与は小さいと考えられてきた。一方で、中枢作用薬である抗うつ薬や抗精神病薬では、未変化体のみならず活性代謝物が薬効へ関与するケースがしばしば報告されている[8]。例えば、セロトニン/ドーパミン遮断薬である risperidone では、代謝物である 9-hydroxyrisperidone が薬理作用と脳移行性を示し[9]、後に paliperidone として上市されている。また、aripiprazole では、未変化体と同程度の薬理活性を示し、かつ定常状態の血漿中暴露量が未変化体の 40%程度を示す活性代謝物(dehydroaripiprazole)が認められており、中枢での薬効への寄与が示唆されている[10]。このように、代謝物が中枢で作用を示すケースが報告されている一方で、未だ中枢作用薬の開発段階から代謝物の特性に着目し、その薬効及び安全性への寄与を詳細に評価した研究事例は限られている。

また、医薬品開発過程で得られるデータには限りがあり、市販後の実際の医療現場における様々な背景を持った患者での使用を想定した全てのケースに対して、薬効及び安全性を開発段階で評価することは不可能である。現代医療において、複数の薬剤を用いた治療戦略は一般化されており、患者個々によって薬剤の使用状況が異なる。薬物動態面から見ても、薬物の主要消失臓器である肝臓や腎臓の加齢又は病態による機能変化、薬物代謝酵素やトランスポーターなどの遺伝的多型、併用薬との DDI といった、投与薬剤の薬物動態を変動させる様々な因子が存在する。近年、モデリング&シミュレーション (M&S) 手法の進展に伴い、生理学的薬物速度論モデル (PBPK モデル) によって薬物の体内動態を数理的モデルで記述し、これら外的・内的因子による影響を予測できるようになってきた。DDI ガイダンスにおいても、PBPK モデルの活用が推奨されており[5], [11]、効率的な臨床試験計画の策定や臨床薬理試験の簡略化が可能となることから、医薬品開発を加速する有益なツールとして着目されている。

医薬品開発では、*in vitro* 評価系や臨床 DDI 試験を実施することで、開発薬剤が他剤へ与える影響、他剤から受ける影響の両面で DDI リスクが評価され、これらの結果をもとに、主に添付文書上で患者及び医療従事者へ用法用量に関する情報提供が行われる。しかしながら、市場には DDI リスクのある多くの薬剤が存在する一方で、DDI リスクに対する注意喚起は、『併用禁忌』、『併用注意』といった形での情報提供が一般的であり、DDI による影響の程度についての定量的な記載が限られている[12]。また、DDI が予期されるような条件下での具体的な推奨投与量を提示している例は少なく、医療従事者による該当薬剤の処方敬遠にも繋がり、患者の医薬品アクセスを妨げる一要因になっていると考えられる。

以上のような背景をもとに、本研究では、中枢作用薬であるレンボレキサントを研究対象とした (Figure. 1-1)。レンボレキサントは、デュアルオレキシン受容体拮抗薬として中枢で作用する不眠症治療薬 (睡眠薬) であり、不眠症患者に対して 1 日 1 回 5~10 mg

の投与により、翌朝の持ち越し効果も少なく、入眠障害、中途覚醒、睡眠効率（総睡眠時間）を改善する[13]。誰もが期待する理想の睡眠薬像は、服薬後、速やかに眠りにつき（速やかに吸収されて有効濃度に達し）、夜間に中途覚醒することなく翌朝まで睡眠を維持し（夜間は有効濃度を持続し）、翌朝はすっきりと目覚められる（翌朝は眠気を引き起こさない濃度まで低下している）薬剤である。例示したように、睡眠薬は、薬物の体内動態特性と薬効の発現・維持、更には患者の QOL 改善効果との関連性が表出されやすい薬剤であり、レンボレキサントの体内動態及び DDI リスクを明らかにすることは、医療現場における適正使用のために極めて重要である。第二章では、ラット及びサルにおけるレンボレキサントの吸収、分布、代謝及び排泄を評価し、動物におけるレンボレキサントの薬物動態特性と代謝物プロファイルの詳細を明らかにした。第三章では、ヒトマスバランス試験を実施し、ヒトにおけるレンボレキサントの体内動態を明らかにすると共に、検出された血漿中の主要代謝物について、*in vitro* 評価やヒト及び動物間における暴露量比較を行うことで、代謝物の薬効への寄与や非臨床安全性評価の妥当性について精査を行った。第四章では、M&S 手法を用いて、レンボレキサントの薬物動態特性の詳細について記述・解析を可能とする PBPK モデルの構築を行うと共に、臨床開発段階において未検証の併用薬との DDI リスク評価及びそれに起因する体内動態変化を考慮したレンボレキサントの用量最適化に活用した。以下に、本研究によって得られた新たな知見について詳述する。

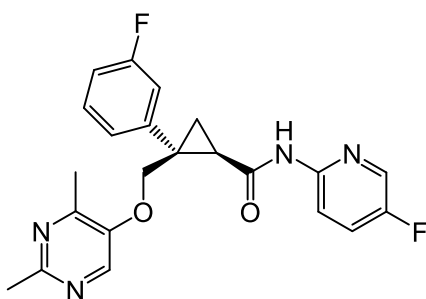


Figure. 1-1 Chemical structure of lemborexant

第二章 ラット及びサルにおけるレンボレキサントの吸収、分布、代謝及び排泄

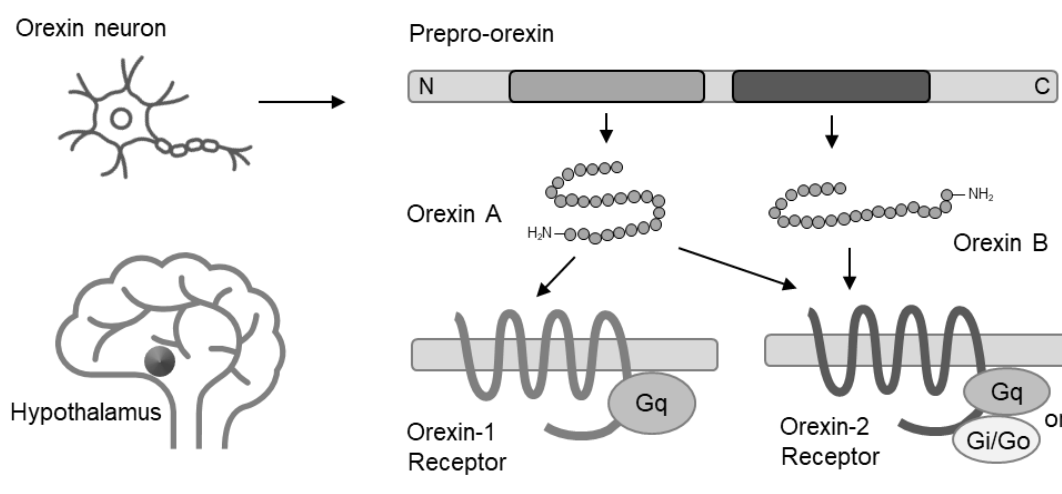
第一節 緒言

不眠症は、現代社会に広く蔓延した睡眠障害の 1 つとして知られており、十分な睡眠環境が得られているにもかかわらず、なかなか寝付くことができない（入眠障害）、早朝に目が覚める（早朝覚醒）、眠りが浅く途中で何度も目が覚める（中途覚醒）といった特徴的な症状を持つ[14]。米国の一般人口を対象にした調査においては、成人の約 22%がこれら症状のうち少なくとも 1 つを示しており[15]、本邦においても同程度の割合の成人が不眠を訴えている[16]。慢性的な不眠状態は日中の活動パフォーマンスを大きく毀損し、患者の QOL の低下、更には社会的な損失につながる事が指摘されている。2016 年の報告によると、睡眠障害によって生じた社会経済的損失の GDP に占める割合は、主要先進国の中で本邦が最も高く、その規模は年間約 15 兆円との試算結果が得られている[17]。このように不眠症は、24 時間社会と言われる現代において、健康面だけでなく、経済面においても社会に与える影響は大きく、疾患とその対処法・治療法を社会全体で正しく認識することが非常に重要な課題となっている。

オレキシン A 及び B は、ヒポクレチン-1 及び-2 とも呼ばれ、視床下部外側野に存在するオレキシンニューロンによって前駆体であるプレプロオレキシンから生成される内因性神経ペプチドであり、睡眠-覚醒サイクルの制御、食欲、報酬系、エネルギー代謝制御といった多くの生体機能にとって重要な役割を担っている[18], [19]。オレキシンペプチドは、G プロテイン共役型受容体であるオレキシン-1 (OX1R) 及び-2 受容体 (OX2R) に作用し[19]、また、これらの受容体を阻害することで、ヒト及び動物において睡眠誘発効果が認められることが報告されている[20] (Figure. 2-1)。加えて、オレキシンペプチドまたはオレキシン受容体を欠損させた遺伝子改変動物では、ヒトにおける情動脱力発作を伴うナルコレプシー様症状と非常によく似た表現型を示すことが複数の研究によって明らかとなっている[21], [22], [23], [24]。このような先行研究をもとに、オレキシンメカニズムは、不眠症を含む睡眠障害の治療ターゲット候補として近年注目されてきた。

レンボレキサントは、不眠症治療薬として承認されたデュアルオレキシン受容体拮抗薬である。オレキシン受容体に対して速やかな結合及び解離特性を示し、選択的かつ高い親和性を示す[25]。げっ歯類において、オレキシンシグナルを介した睡眠誘発効果を示すと共に[26]、不眠症患者を対象とした臨床試験においても、入眠障害及び睡眠維持について改善効果を示すことが確認されている[27], [28], [29]。レンボレキサントは、マウスにおいて、経口投与後速やかな吸収と高い脳移行性を示し[30]、睡眠薬として望ましい薬物動態特性が観察されるものの、その詳細は明らかになっていない。そこで本章では、レンボレキサントのラット及びサルにおける吸収、分布、代謝、排泄と代謝物

プロファイルの詳細を明らかにすることを目的とした。



Regulation of the sleep-wake cycle, appetite, energy homeostasis, and reward seeking

Figure. 2-1 Orexin peptides and roles of orexin receptors.

第二節 結果

2-2-1. 血液、血漿及び血球中放射能濃度推移

ラット (10 mg/kg) 及びサル (3 mg/kg) に¹⁴C]レンボレキサントを単回経口投与した時の血液、血漿、または血球中の放射能濃度推移を Figure. 2-2 に、その推移から得られた PK パラメータを Table. 2-1 に、それぞれ示す。

Table. 2-1 PK parameters of radioactivity after a single oral administration of [¹⁴C]lemborexant to rats and monkeys

Parameter	Unit	Rat		Monkey	
		Blood	Blood	Plasma	Blood cells
C _{max}	(ng eq./mL)	1085.6±283.3	608.9±105.4	706.0±128.8	529.2±127.2
t _{max}	(h)	0.83±0.17	1.8±1.1	1.8±1.1	1.2±0.4
AUC _(0-t)	(ng eq.·h/mL)	8930±1240	8140±370	5800±680	10800±1500
AUC _(0-inf)	(ng eq.·h/mL)	11800±1300	9030±470	6640±700	11900±1800
t _{1/2}	(h)	110±10	110±10	110±0	110±20

Parameters represent the mean ± SEM of three animals.

t_{1/2}, terminal elimination half-life; t_{max}, time to reach maximum concentration.

ラットにおいて、血液中放射能濃度は投与後 0.83 時間に C_{max} に達し、その後二相性の消失（投与後 24 時間程度までの分布相とそれ以後の消失相）を示して減少して、投与後 168 時間では検出限界未満になった。消失半減期は、110 時間と算出された。サルにおいて、血液、血漿及び血球中放射能濃度は、投与後 1.2~1.8 時間に C_{max} を示し、その後、三相性の消失（投与後 24 時間程度までの分布相、24~96 時間程度までの中間相、それ以後の消失相）を示して減少し、投与後 264 時間または 288 時間で検出限界未満となった。いずれの試料においても、消失半減期は 110 時間であった。

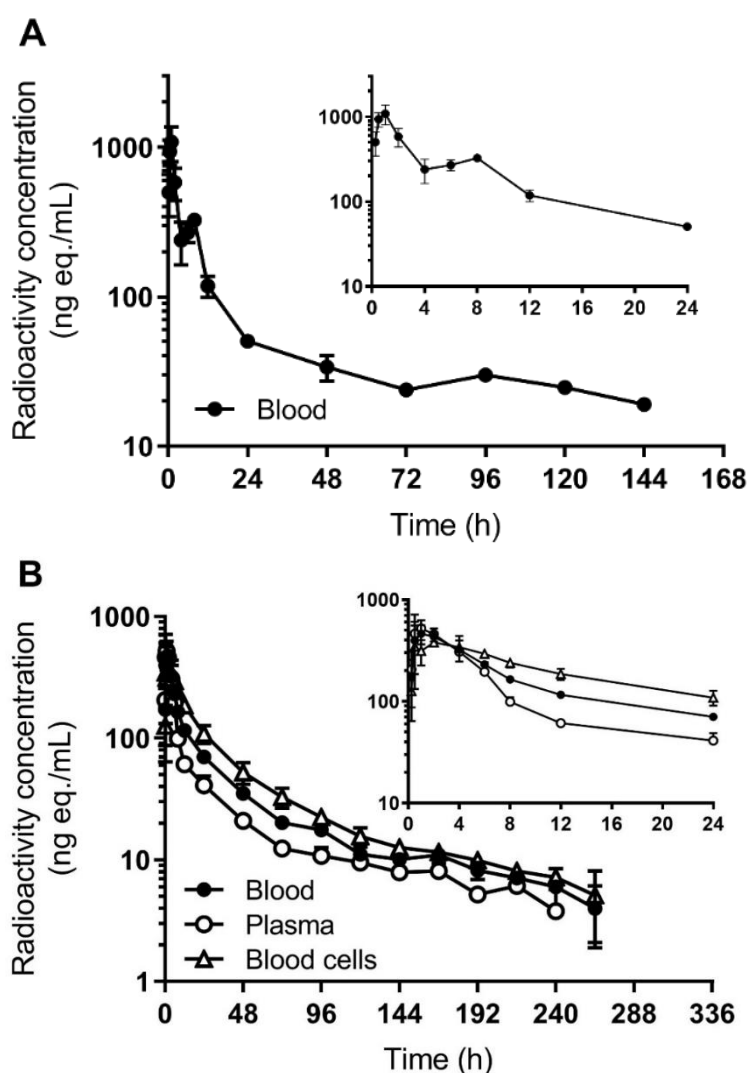


Figure. 2-2 Radioactivity concentration-time profiles after a single oral administration of [^{14}C]lemborexant to rats and monkeys

A: Rat blood, B: Monkey blood, plasma, and blood cells.

Each point represents the mean \pm SEM of three animals.

2-2-2. 尿, 糞及び胆汁中への排泄

ラット (10 mg/kg) 及びサル (3 mg/kg) に $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントを単回経口投与した時の放射能の尿及び糞への排泄, 並びに胆管カニューレ処置ラットでの放射能の胆汁, 尿及び糞への排泄を Figure. 2-3 に示す。

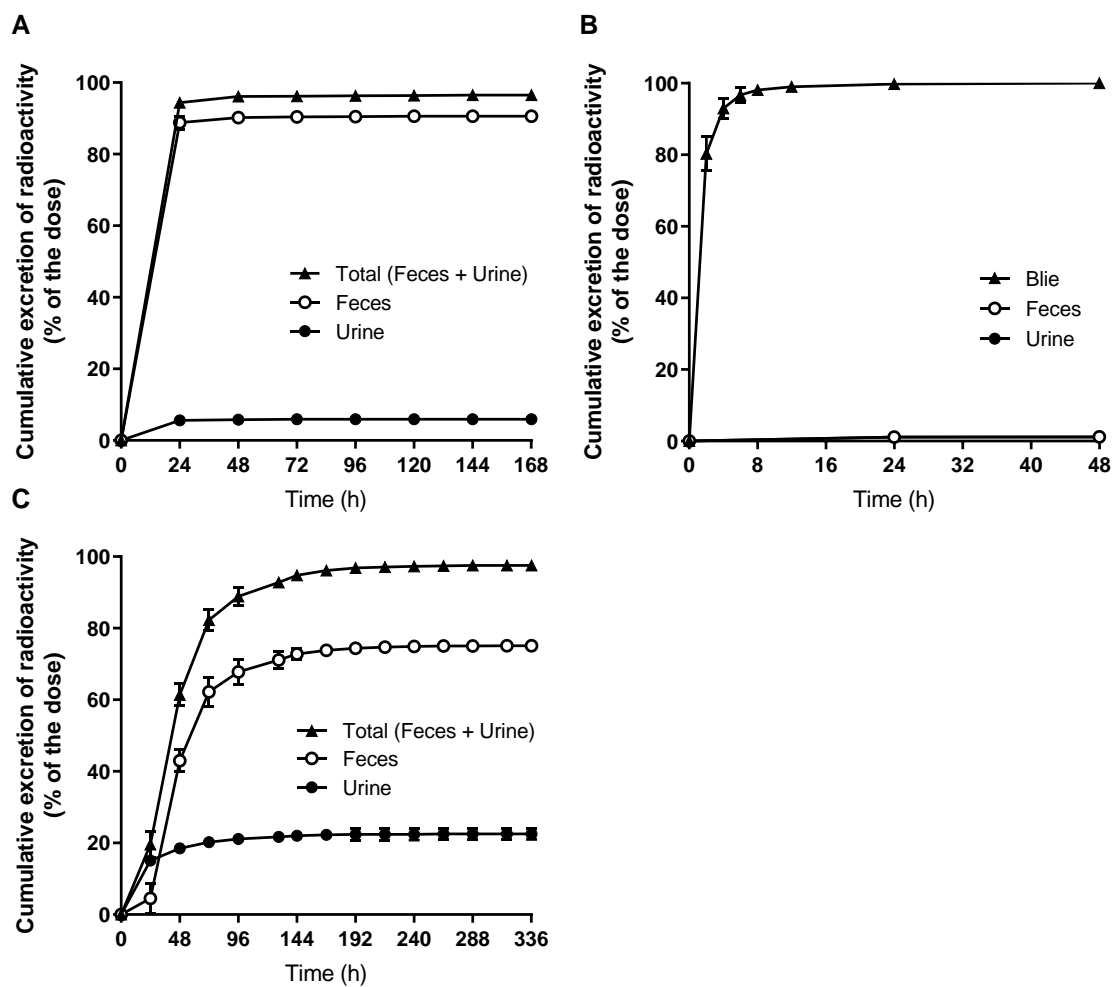


Figure. 2-3 Cumulative excretion of radioactivity after a single oral administration of $[^{14}\text{C}]$ lemborexant to rats and monkeys

A: Normal rats, B: Bile duct-cannulated rats, C: Monkeys.

Each point represents the mean \pm SEM of three animals.

ラットにおいて、投与した放射能の排泄は速やかであり、投与後 24 時間以内に投与放射エネルギーの 94.4%が尿及び糞中に回収された。投与後 168 時間までの尿及び糞中の放射能の累積排泄率は、それぞれ 5.9%及び 90.6%であり、総排泄率は投与放射エネルギーの 96.5%であった。胆管カニューレ処置ラットでは、投与した放射能は、速やかかつほぼ完全に胆汁中に回収され、投与後 48 時間までの胆汁、尿、及び糞中の放射能の累積排泄率は、それぞれ 100.0%、1.1%及び 1.2%であった。消化管内容物及びカーカス（屍体）に残存した放射能は、投与後 48 時間で投与放射エネルギーの 0.9%以下であった。

サルにおいて、投与した放射能は、投与後 192 時間までにほぼ完全に尿及び糞中に排泄された。最終的に投与後 336 時間までの尿及び糞中の放射能の累積排泄率は、それぞれ 22.5%及び 75.1%であり、総排泄率は投与放射エネルギーの 97.5%であった。

2-2-2. ラットにおける組織分布性

ラットに $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサント 10 mg/kg を単回経口投与した時の放射能の組織分布を Table. 2-2 に示す。

盲腸及び大腸を除いた全ての評価組織において、放射能濃度は投与後 1 時間に C_{\max} を示した。盲腸及び大腸では、投与後 8 時間に C_{\max} を示した。

投与後 1 時間において、胃で最も高い放射能濃度を示し、血漿中放射能濃度の 50.19 倍であった。坐骨神経、腹部大動脈、血球、腸間膜リンパ節、膵臓、腎皮質、副腎、腎臓、ハーダー腺、脂肪、褐色脂肪、小腸及び肝臓の放射能濃度は、血漿中放射能濃度の 2.09~25.31 倍であった。その他の組織中の放射能濃度は、血漿中放射能濃度と同等以下であった。全ての評価組織で放射能濃度は速やかに減少し、投与後 24 時間において、それぞれの C_{\max} の 8%以下となった。また、投与後 336 時間では、全ての組織で C_{\max} の 1%以下又は検出限界未満であった。

Table. 2-2 Tissue distribution of radioactivity after a single oral administration of [¹⁴C]lemborexant to rats

Tissue	Radioactivity concentration (ng eq./mL or g)				
	1 h	8 h	24 h	168 h	336 h
Blood	970.1±52.1	331.8±19.4	41.8±7.9	15.4±0.1	ND
Plasma	696.9±137.6	317.9±18.7	36.9±5.7	9.9±1.3	ND
Blood cells	1456.6±37.5	311.1±19.4	45.8±6.6	27.2±6.0	ND
Cerebrum	222.8±87.2	49.1±3.8	ND	ND	—
Cerebellum	218.1±83.3	37.9±2.8	12.4±2.2	5.5±1.5	ND
Pituitary gland	1008.3±278.9	214.2±27.4	ND	ND	—
Medulla oblongata	268.2±99.5	42.8±4.0	17.1±2.7	4.7±2.4	ND
Spinal cord	335.2±129.3	47.2±5.1	16.6±2.6	5.6±0.4	ND
Eyeball	195.9±61.2	47.6±4.5	16.5±2.7	5.1±0.9	ND
Harderian gland	3139.5±1333.7	316.9±40.7	121.6±11.8	16.8±3.6	2.9±1.5
Mesenteric lymph node	1606.6±213.6	180.4±25.2	38.3±3.8	19.9±7.1	ND
Submaxillary gland	1097.6±325.7	216.7±42.8	35.8±6.3	5.8±1.2	ND
Thyroid gland	1318.4±296.4	443.3±65.5	74.2±37.2	ND	—
Trachea	996.5±447.9	151.2±9.2	34.5±5.1	17.7±0.6	ND
Heart	1098.8±334.5	156.4±14.0	30.9±6.4	7.0±1.6	2.0±0.5
Lung	1075.5±286.4	234.4±21.7	35.5±7.0	8.2±1.7	3.1±0.4
Thymus	561.2±239.7	89.7±8.4	18.6±3.6	4.4±0.6	ND
Fat	3640.9±1424.6	818.7±105.9	204.0±30.2	20.3±3.4	ND
Brown fat	6675.7±3707.4	352.3±67.3	85.5±7.3	11.1±1.3	5.8±0.5
Skin	1221.0±564.2	153.4±17.7	32.8±3.1	7.2±1.2	1.9±1.0
Skeletal muscle	588.5±149.4	79.3±10.0	22.2±4.0	8.6±3.5	3.2±1.8
Sciatic nerve	1643.2±880.7	176.1±22.2	41.5±5.6	ND	—
Bone marrow	759.9±198.9	139.0±10.0	27.3±5.6	ND	—
Testis	438.7±122.7	76.9±7.2	19.2±4.0	4.0±0.9	1.1±0.1
Seminal vesicle	616.1±161.8	115.4±28.8	35.3±12.5	4.5±1.2	1.2±0.6
Abdominal aorta	1504.5±389.9	197.0±42.1	41.9±21.0	ND	—
Inferior vena cava	1396.4±550.9	158.3±15.8	42.5±21.7	ND	—
Prostate gland	830.0±284.7	178.0±38.7	47.4±12.8	4.9±0.6	ND
Urinary bladder	757.3±153.8	592.9±188.2	54.3±8.4	11.4±6.2	ND
Spleen	784.7±201.0	133.7±16.1	32.3±6.5	10.1±1.4	4.7±1.3
Pancreas	1965.5±623.0	199.0±39.6	35.2±6.2	5.6±1.5	2.1±0.2
Adrenal gland	2590.2±804.1	316.4±22.3	64.0±12.7	21.5±1.1	ND
Kidney	2480.7±386.8	839.8±50.1	109.0±18.9	37.3±1.7	ND
Renal cortex	1648.6±450.5	713.1±76.4	100.2±17.9	22.5±5.4	ND
Renal medulla	908.1±271.2	746.9±13.5	62.6±8.5	14.8±7.4	ND
Liver	17128.9±1998.8	4331.5±215.5	874.6±69.1	189.3±23.7	49.3±2.5
Stomach	32733.1±175.0	237.5±50.1	39.0±7.5	5.1±1.0	1.4±0.3
Small intestine	12145.5±673.3	1422.1±130.0	67.2±3.4	5.4±1.0	2.1±0.3
Cecum	1055.9±180.3	44456.8±3493.0	277.7±50.2	7.1±1.6	2.9±0.4
Large intestine	1154.5±167.4	3037.8±895.3	138.1±31.2	4.5±0.9	2.4±0.1

Each value represents the mean ± SEM of three animals.

—, no sample; ND, below the lower limit of detection.

2-2-3. 血漿，尿，糞及び胆汁中代謝物のプロファイリング及び構造解析

[¹⁴C]レンボレキサントをラット及びサルに単回経口投与した後，得られた血漿及び排泄物（尿，糞及び胆汁）中の代謝物プロファイルを示す Table. 2-3 及び Table. 2-4 に示す。また，Figure. 2-4 及び Figure. 2-5 に，ラット及びサル生体試料の代表的なラジオクロマトグラムを示す。本解析の結果，ラット及びサルの生体試料中において，非常に多くの代謝物が検出された。そのため，血漿試料では試料中総放射エネルギーに対して 2%以上を示す代謝物について，尿，糞及び胆汁試料では投与量に対して 2%以上の放射エネルギーを示す代謝物について，以下に詳細を記載する。

<代謝物プロファイリング>

ラット血漿中に含まれる放射エネルギーのうち，レンボレキサントが占める割合は 5.2%以下であり，投与後 8 時間においては検出限界未満であった。一方，サル血漿において，レンボレキサントが占める割合は比較的高く，投与後 1 及び 4 時間では 25.4%及び 15.9%であった。レンボレキサントは，ラット及びサルの排泄物（尿，糞，胆汁）のいずれにおいても検出されなかった。

ラット血漿では，投与後 1 時間において，M9，MET27-1 及び M12 が主な代謝物として検出され，これらが更なる代謝または排泄された後，投与後 4 及び 8 時間では，他の代謝物（MET15，MET16 及び MET18）が主な代謝物として認められた。ラット糞中では，M12 が最も高い存在比を示し（投与放射エネルギーに対して 31.8%），次いで，M1 (2.7%)，MET33 (2.6%)，MET25 (2.4%)，M8 (2.0%) が多く検出された。その他の代謝物は，投与放射エネルギーに対して 2.0%未満であった。ラット尿中では，MET17 (MET17-1 及び MET17-2 の共溶出物) が最も多く，投与放射エネルギーに対して 2.3%であった。その他の代謝物は，投与放射エネルギーに対して 2.0%未満であった。ラット胆汁中では，M12 と MET7 (MET7-1 及び MET7-2 の共溶出物) が主な代謝物として検出され，それぞれ投与放射エネルギーに対して 29.8%及び 20.5%を示した。次いで，MET10 (7.2%)，MET19 (M16，MET19-2 及び MET19-3 の共溶出物；5.1%) 及び MET2 (4.4%) が多かった。その他の代謝物は，投与放射エネルギーに対して 3.7%以下であった。

サル血漿では，投与後 1 時間において，M4，M13 及び M14 が主な代謝物として認められた。これら代謝物は，生体内で更なる代謝及び排泄を受け，投与後 6 時間では，M16 が主な代謝物であった。存在比としては小さいが，更なる酸化代謝またはグルクロン酸抱合代謝によって生じた代謝物が多く検出された。サル糞中では，MET34 (M12 及び M7 の共溶出物) が最も多く認められた（投与放射エネルギーに対して 17.7%）。M12 及び M7 が分離可能な異なる HPLC 溶出条件で分析したところ，M7 の存在比は小さく，主に M12 が MET34 の主要成分であった。次いで，M9 (2.8%)，MET29 (2.3%)，MET31 (MET31-1

及び M11 の共溶出物 ; 2.2%), MET26 (MET26-1, MET26-2 及び MET26-3 の共溶出物 ; 2.0%) が多く検出された。その他の代謝物は, 投与放射エネルギーに対して 2.0%未満であった。サル尿中では, MET19 (M16, MET19-2, MET19-3 及び MET19-4 の共溶出物 ; 3.4%), M18 (2.7%), M13 (2.4%) が主な代謝物として検出され, 他の代謝物はマイナーであった (2.0%未満)。

Table. 2-3 Relative abundance of circulating metabolites in rats and monkeys

Analyte	M No.	% of total radioactivity in plasma					
		Rat			Monkey		
		1 h	4 h	8 h	1 h	4 h	6 h
Lemborexant	—	4.5±0.4	5.2±3.6	ND	25.4±0.7	15.9±0.7	9.7±0.6
MET1	—	ND	6.0±0.9	ND	ND	ND	ND
MET4	—	ND	D	3.0±1.5	ND	ND	ND
MET6	—	ND	2.8±0.7	9.7±0.9	ND	ND	ND
MET9	—	2.7±0.4	9.7±1.7	2.7±0.3	ND	ND	ND
MET11	—	ND	ND	2.7±0.6	ND	ND	ND
MET12	—	ND	ND	ND	ND	D	2.8±0.5
MET13	—	ND	ND	ND	2.2±1.1	D	ND
MET14 ^a	M23 ^b	ND	ND	ND	ND	D	2.4±0.8
MET15	—	ND	ND	43.8±6.7	ND	ND	ND
MET16	—	D	11.9±3.7	ND	ND	ND	ND
MET17 ^c	—	ND	ND	ND	ND	D	3.0±0.5
MET18	—	ND	10.9±1.0	3.0±0.6	ND	ND	ND
MET19-1	M16	ND	ND	ND	D	9.2±2.1	15.8±1.3
MET20	—	ND	ND	ND	ND	2.4±0.3	4.1±0.9
MET21	—	ND	ND	3.3±1.7	ND	ND	ND
MET23	—	ND	ND	ND	D	3.2±0.8	ND
MET24	—	ND	ND	ND	ND	D	2.3±0.6
MET27-1	—	14.4±1.1	3.5±0.6	ND	ND	ND	ND
MET27-2	M13	ND	ND	ND	11.4±0.9	6.9±0.8	4.5±1.1
MET28	M20	ND	ND	ND	D	2.6±0.5	4.1±0.4
MET31-2	M11	D	D	D	D	2.2±0.2	2.9±0.2
MET31-3	M14	4.3±0.5	D	D	13.5±0.6	7.4±1.5	3.9±0.8
MET34-1	M12	8.4±1.0	ND	ND	ND	ND	ND
MET34-2	M4	D	D	D	21.4±1.5	9.9±1.8	4.9±1.1
MET35-1	M3	2.4±0.6	ND	D	3.8±1.5 ^d	2.6±0.2 ^d	3.6±0.9
MET35-2	M9	34.9±3.9	7.4±3.4	D			ND
MET36	M10	ND	ND	ND	D	2.9±0.7	D

Each value represents the mean ± SEM of three animals.

ND, below the lower limit of detection; D, detected at low levels (2% in plasma); —, not applicable.

a MET14 was detected as a mixture of MET14-1, MET14-2, and MET14-3 in monkey urine.

b MET14-1 was identified as M23.

c MET17 was a mixture of MET17-1, MET17-2, MET17-3, and MET17-4.

d MET35-1 and MET35-2 was detected as a mixture in monkey plasma at 1 and 4 h postdose.

Table. 2-4 Relative abundance of metabolites recovered in rat and monkey excreta.

Analyte	M No.	% of the dose				
		Rat			Monkey	
		Bile	Feces	Urine	Feces	Urine
Lemborexant	—	ND	ND	ND	ND	ND
MET2	—	4.4±0.5	ND	ND	ND	ND
MET3 ^a	—	2.4±0.5	ND	ND	ND	ND
MET5	—	2.5±0.4	ND	ND	ND	ND
MET7 ^b	—	20.5±5.3	ND	ND	ND	ND
MET8	—	3.1±0.9	ND	ND	ND	ND
MET10	—	7.2±1.8	ND	ND	ND	ND
MET17	—	ND	ND	2.3±0.3 ^c	ND	D ^d
MET19	M16 ^e	5.1±1.0 ^f	ND	ND	ND	3.4±0.2 ^g
MET22	M18	3.7±0.8	ND	ND	ND	2.7±0.6
MET25	—	ND	2.4±0.2	ND	ND	ND
MET26 ^h	—	ND	ND	ND	2.0±0.1	ND
MET27-2	M13	ND	ND	D	ND	2.4±0.1
MET28	M20	2.7±0.7	ND	ND	ND	D
MET29	—	ND	ND	ND	2.3±0.5	ND
MET30	M21	2.7±1.4	ND	ND	ND	D
MET31 ⁱ	M11 ^j	ND	D	D	2.2±0.3	D
MET32	M1	ND	2.7±0.5	ND	D	ND
MET33	—	ND	2.6±0.4	ND	ND	ND
MET34-1	M12	29.8±10.1	31.8±6.5	ND	17.7±1.7 ^k	D
MET34-3	M7	ND	ND	ND		ND
MET35-2	M9	ND	D	ND	2.8±0.4	ND
MET37	M8	ND	2.0±0.6	ND	D	ND

Each value represents the mean ± SEM of three animals.

ND, below the lower limit of detection; D, detected at low levels (<2% of the dose); —, not applicable.

a MET3 was a mixture of MET3-1 and MET3-2.

b MET7 was a mixture of MET7-1 and MET7-2.

c MET17 was detected as a mixture of MET17-1 and MET17-4 in rat urine.

d MET17 was detected as a mixture of MET17-1, MET17-2, MET17-3, and MET17-4 in monkey urine.

e MET19-1 was identified as M16.

f MET19 was detected as a mixture of MET19-1, MET19-2, and MET19-3 in rat bile.

g MET19 was detected as a mixture of MET19-1, MET19-2, MET19-3, and MET19-4 in monkey urine.

h MET26 was a mixture of MET26-1, MET26-2, and MET26-3.

i MET31 was a mixture of MET31-1 and MET31-2.

j MET31-2 was identified as M11.

k MET34-1 (M12) and MET34-3 (M7) were detected as a mixture in monkey feces.

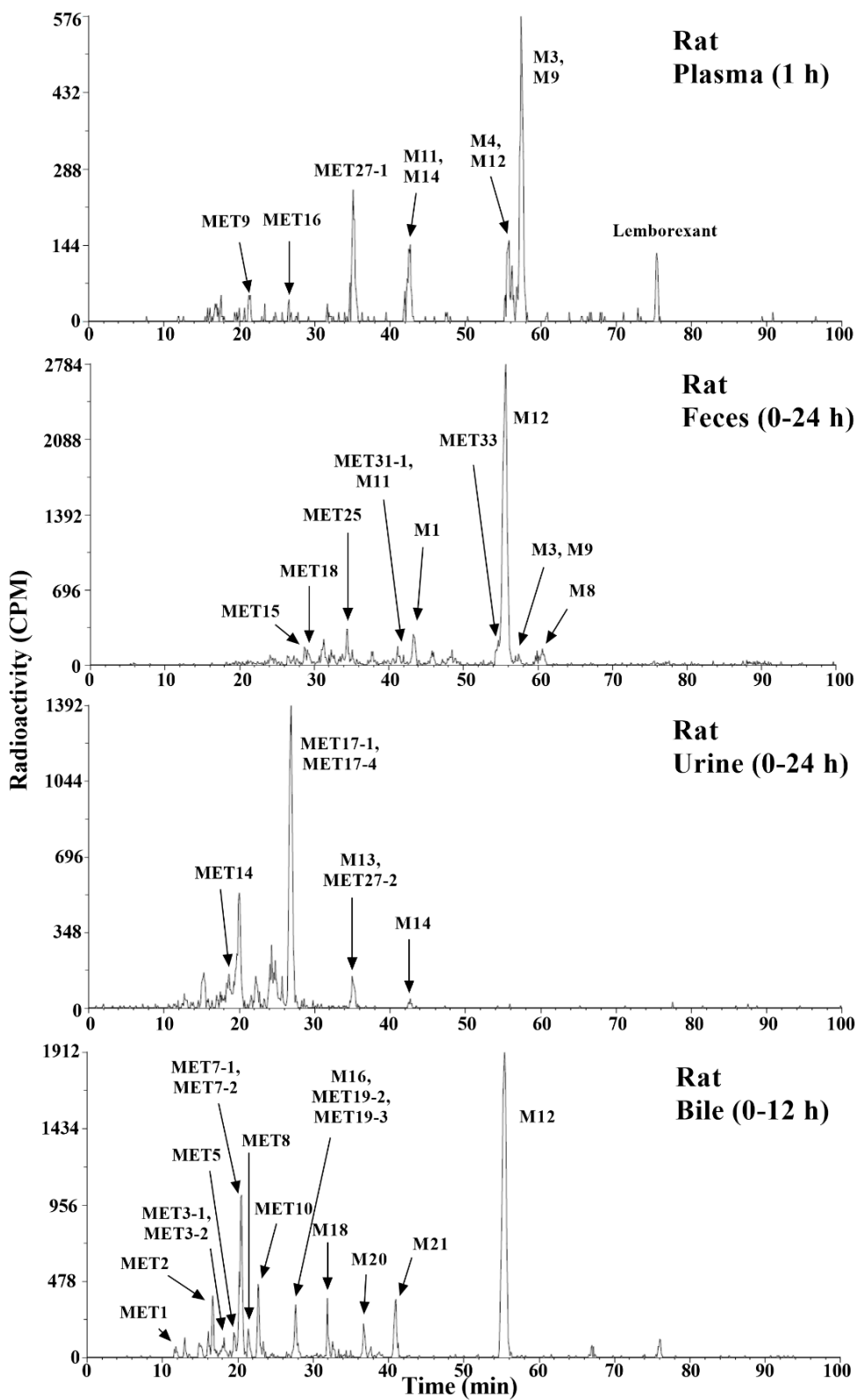


Figure. 2-4 Representative HPLC radiochromatograms of lemborexant and its metabolites in rat biological samples

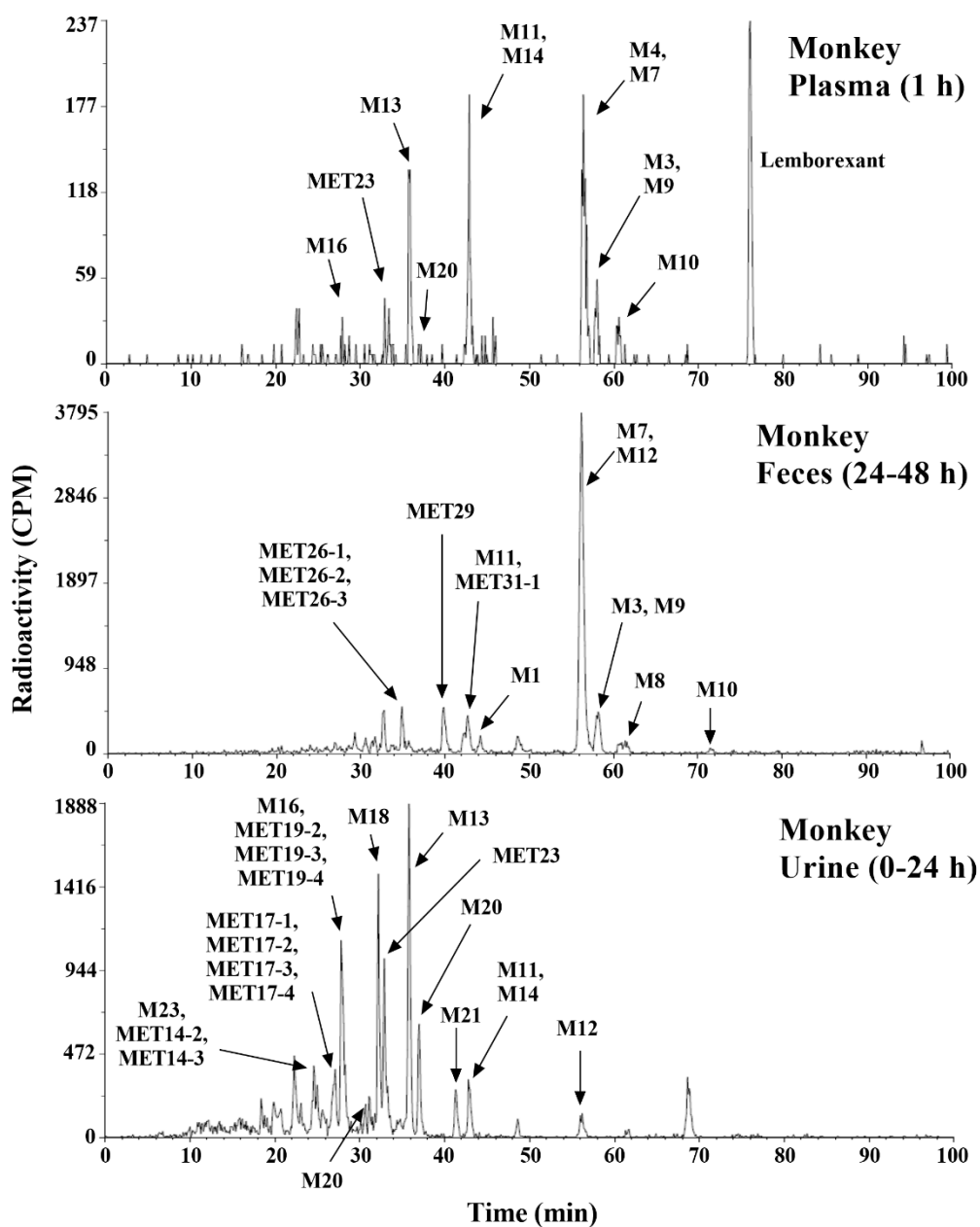
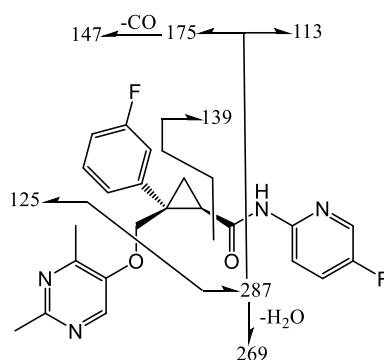


Figure. 2-5 Representative HPLC radiochromatograms of lemborexant and its metabolites in monkey biological samples

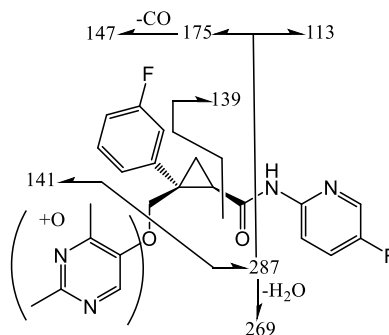
<代謝物構造解析>

検出された代謝物の構造は、代謝物標準物質またはヒト肝ミクロソーム中で生成させたグルクロン酸抱合体を分析した際に得られたカラム保持時間、マススペクトル、プロダクトイオンパターンをもとに、同定または推定した。ラット及びサル生体試料中に非常に多くのレンボレキサント由来の代謝物が検出されたため、検出された代謝物のうち、血漿中総放射エネルギー又は投与放射エネルギーに対して 2%以上を示す代謝物についてのみ、精密質量、分子式、マスプロダクトイオンを Table. 2-5 にまとめた。以下に、未変化体及び主要代謝物の構造解析について記載する。

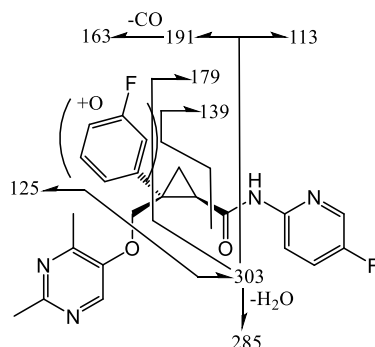
レンボレキサントは、プロトン付加体として m/z 411 を示し、dimethylpyrimidine 部位に特徴的な m/z 125、fluoropyridine 部位に特徴的な m/z 113、fluorophenyl 部位に特徴的な m/z 175 及び 147 など、以下に示したプロダクトイオンが認められた。



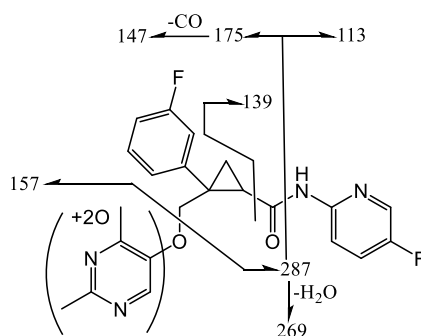
M3, M4, M9 及び M10 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 16 Da 大きい m/z 427 を示し、プロダクトイオンとして m/z 287, 269, 175, 147, 141, 139 及び 113 が認められた。プロダクトイオン m/z 141 は、dimethylpyrimidine 部位が一酸化反応を受けたことを示している。標準物質との比較から、M3 及び M9 は水酸化代謝物、M4 及び M10 は N-oxide 代謝物と同定した。



M1 及び M7 も、プロトン付加体として m/z 427 を示し、 m/z 303, 285, 191, 163, 139, 125, 及び 113 のプロダクトイオンを示した。プロダクトイオン m/z 191, 125 及び 113 は、fluorophenyl 部位が一酸化反応を受けたことを示唆しており、標準物質との比較から、M1 及び M7 は水酸化代謝物と同定した。

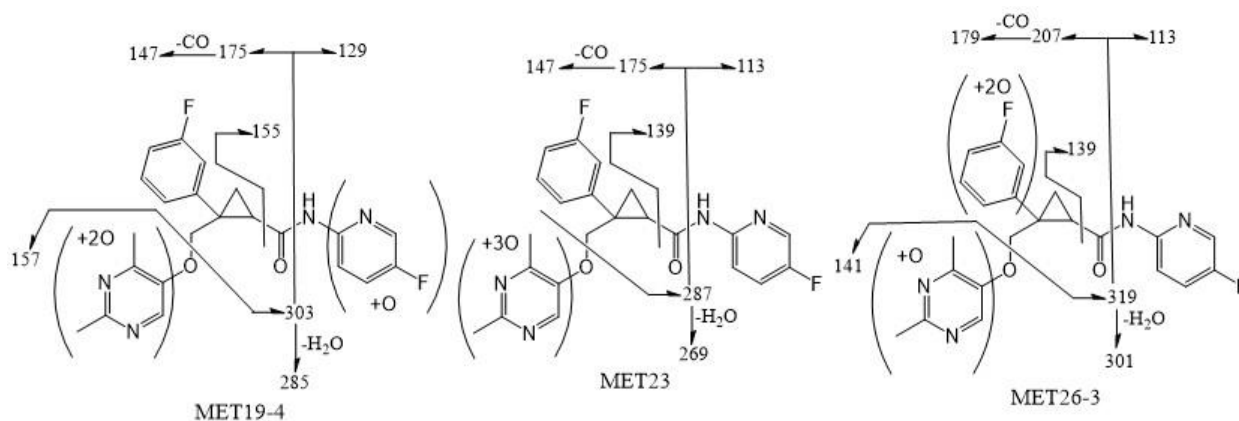


M13, M14 及び MET31-1 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 32 Da 大きい m/z 443 を示し、プロダクトイオンとして m/z 287, 269, 175, 147, 139 及び 113 が検出された。これらに加えて、M13 及び M14 では、プロダクトイオン m/z 425 及び 157 が認められた。プロダクトイオン m/z 287 は、dimethylpyrimidine 部位が二酸化反応を受けたことを示しており、標準物質との比較から、M13 は dimethylpyrimidine の 2 位メチルの水酸化及び 5 位の N-oxide 体、及び M14 は 4 位メチルの水酸化及び 5 位の N-oxide 体と同定した。MET31-1 も同様のプロダクトイオンのパターンを示すと共に、カラム保持時間が異なることから M13 及び M14 とは異なる二酸化代謝物と推定した。



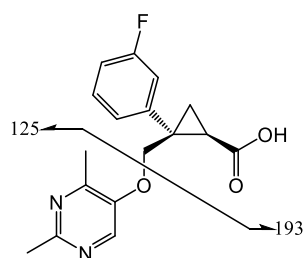
MET19-4, MET23 及び MET26-3 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 48 Da 大きい m/z 459 を示した。MET19-4 は、プロダクトイオン m/z 157 及び 129 を示し、それぞれ dimethylpyrimidine 部位が二酸化反応を、fluoropyridine 部位が一酸化反応を受けたことを示唆している。MET23 は、プロダクトイオン m/z 287 を示したことから、dimethylpyrimidine 部位が三酸化反応を受けたと考えられた。また、MET26-3 は、プロ

ダクトイオン m/z 207 及び 141 を示し, fluorophenyl 部位が二酸化反応を, dimethylpyrimidine 部位が一酸化反応を受けたこと示唆している。これらから, MET19-4, MET23, MET26-3 は三酸化代謝物と推定した。

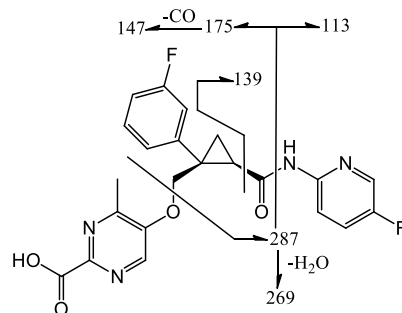


M16, M18, M20 及び M21 は, プロトン付加体として, 未変化体よりも 192 Da 大きい m/z 603 を示した。これら代謝物のプロダクトイオンパターン及びカラム保持時間は, 水酸化代謝物である M1, M3, M8 及び M9 から生合成したグルクロン酸抱合体と一致したことから, それぞれ M1, M3, M8 及び M9 のグルクロン酸抱合体と同定した。

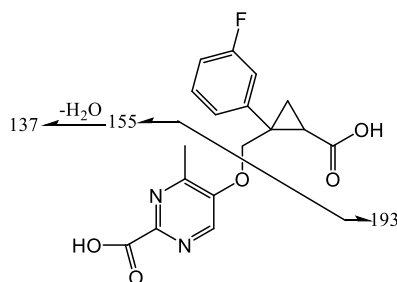
M11 は, プロトン付加体として, 未変化体よりも 94 Da 小さい m/z 317 を示した。また, プロダクトイオン m/z 193 及び 125 を示し, 標準物質との比較から, M11 はアミド加水分解体と同定した。



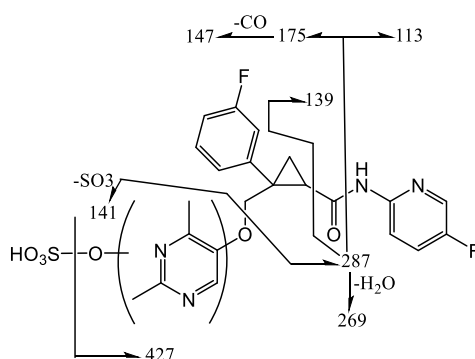
M12 は, プロトン付加体として, 未変化体よりも 30 Da 大きい m/z 441 を示した。また, プロダクトイオン m/z 287, 269, 175, 147, 139 及び 113 が認められた。プロダクトイオン m/z 287 から, dimethylpyrimidine 部位がカルボキシル化されていることが示唆され, また, 標準物質との比較から, M12 をカルボキシル化体と同定した。



MET27-1 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 64 Da 小さい m/z 347 を示した。また、プロダクトイオン m/z 193 及び 155 から、それぞれアミド加水分解及び dimethylpyrimidine 部位のカルボキシル化が生じていると示唆された。これらから、MET27-1 は M11 のカルボキシル化体と推定した。

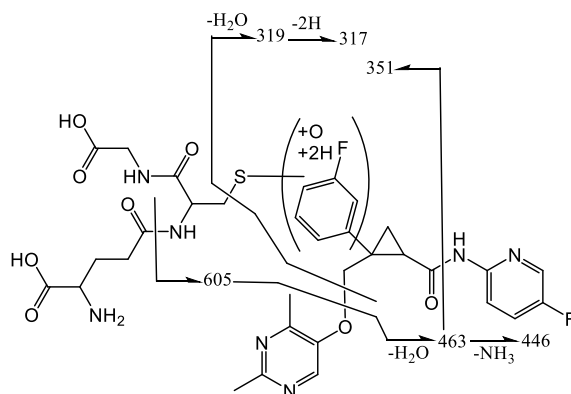


MET29 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 96 Da 大きい m/z 507 を示した。一酸化体に特徴的な m/z 427 よりも 80 Da 大きく、またこの値は硫酸抱合代謝物に特徴的である。プロダクトイオン m/z 287 から、dimethylpyrimidine 部位で酸化代謝及び硫酸抱合が生じていると考えられ、MET29 は一酸化代謝物の硫酸抱合体と推定した。

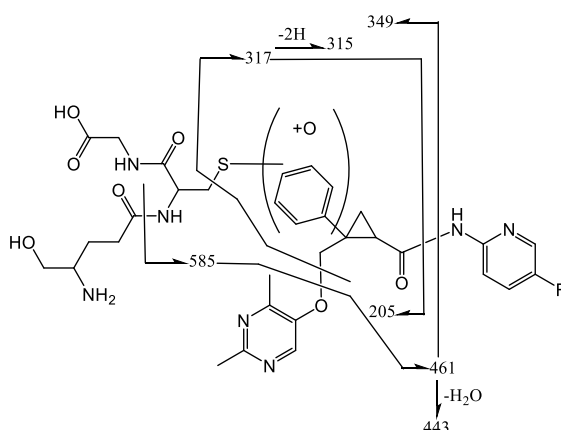


MET3-2 及び MET7-2 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 323 Da 大きい m/z 734 を示した。プロダクトイオン m/z 605 及び 463 は、それぞれグルタミン酸部位、水

分子及び dimethylpyrimidine 部位の脱離を示し、プロダクトイオン m/z 463 から生じた m/z 351 及び 319 は、fluoropyridine 部位及び S-CH₂ 結合の開裂を示唆していると考えられた。これらは、fluorophenyl 部位における酸化代謝、グルタチオン抱合反応及び還元反応を示唆しており、MET3-2 及び MET7-2 は、一酸化代謝物のグルタチオン抱合体と推定した。



MET10 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 303 Da 大きい m/z 714 を示した。プロダクトイオン m/z 585 及び 461 は、それぞれグルタミン酸部位及び dimethylpyrimidine 部位の脱離を示し、プロダクトイオン m/z 461 から生じた m/z 349 及び 317 は、fluoropyridine 部位及び S-CH₂ 結合の開裂を示唆していると考えられた。これらから、fluorophenyl 部位において酸化的脱フッ素反応とその後グルタチオン抱合反応を受けたことを示唆しており、MET10 は酸化的脱フッ素代謝物のグルタチオン抱合体と推定した。



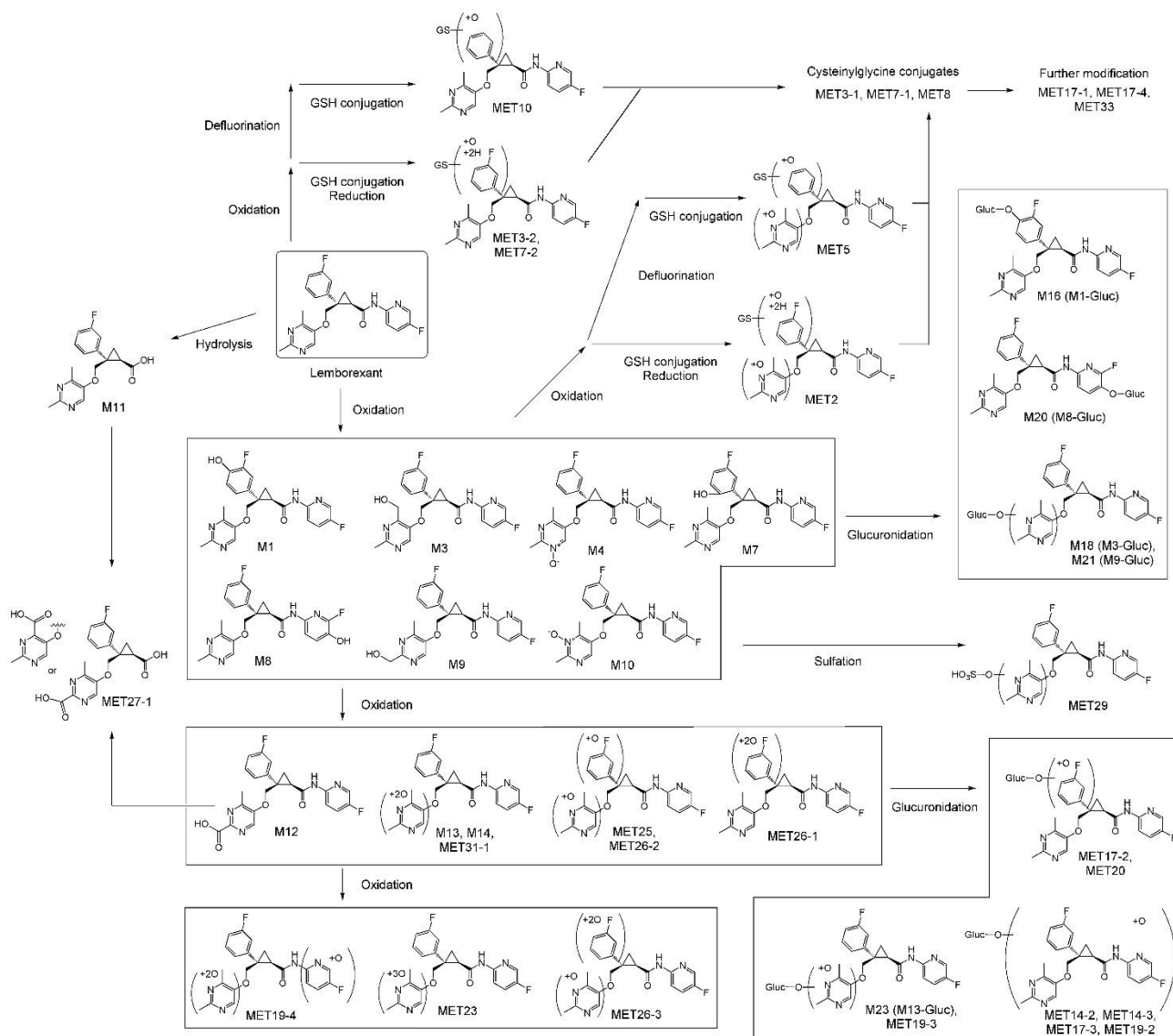


Figure. 2-6 Proposed metabolic pathways of lemborexant in rats and monkeys

Gluc: glucuronide, GSH: glutathione.

Table. 2-5 Molecular ions and characteristic fragment ions of lemborexant and metabolites detected in animal biological samples.

Analyte	M No.	Detection		Molecular formula	[M+H] ⁺		Δ ppm	Key fragment ions (<i>m/z</i>)
		Rat	Monkey		Theoretical	Observed		
Lemborexant	—	P	P	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₂	411.16271	411.16313	1.02	287, 269, 175, 147, 139, 125, 113
MET1	—	P, B	ND	Unknown	—	—	—	—
MET2	—	B	ND	C ₃₂ H ₃₈ F ₂ N ₇ O ₁₀ S	750.23634	750.23605	-0.39	621, 463, 461, 446, 351, 319, 317
MET3-1	—	B	ND	C ₂₇ H ₃₀ FN ₆ O ₇ S	601.18752	601.18724	-0.47	461, 443, 349, 317, 315, 203, 139, 113
MET3-2	—	B	ND	C ₃₂ H ₃₈ F ₂ N ₇ O ₉ S	734.24143	734.24104	-0.53	605, 463, 446, 351, 319, 317
MET4	—	P, U	ND	Unknown	—	—	—	—
MET5	—	B	ND	C ₃₂ H ₃₇ FN ₇ O ₁₀ S	730.23012	730.22986	-0.36	601, 461, 349, 317, 315, 203
MET6	—	P	ND	Unknown	—	—	—	—
MET7-1	—	B	ND	C ₂₇ H ₃₁ F ₂ N ₆ O ₆ S	605.19884	605.19863	-0.35	463, 446, 351, 319, 317, 139
MET7-2	—	B	ND	C ₃₂ H ₃₈ F ₂ N ₇ O ₉ S	734.24143	734.24097	-0.63	605, 463, 461, 446, 351, 319, 317
MET8	—	B	ND	C ₂₇ H ₃₀ FN ₆ O ₆ S	585.19261	585.19196	-1.11	461, 443, 349, 317, 315, 203, 139, 113
MET9	—	P	ND	Unknown	—	—	—	—
MET10	—	B	ND	C ₃₂ H ₃₇ FN ₇ O ₉ S	714.2352	714.23505	-0.21	585, 461, 443, 349, 317, 315, 205
MET11	—	P	ND	Unknown	—	—	—	—
MET12	—	ND	P	Unknown	—	—	—	—
MET13	—	ND	P, U	Unknown	—	—	—	—
MET14-1	M23 (M13-Gluc)	ND	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18451	-0.19	443, 425, 287, 269, 175, 147, 139, 113
MET14-2	—	ND	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18451	-0.19	443, 303
MET14-3	—	ND	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18451	-0.19	319
MET15	—	P, F	ND	Unknown	—	—	—	—

Table. 2-5 Molecular ions and characteristic fragment ions of lemborexant and metabolites detected in animal biological samples (continued).

Analyte	M No.	Detection		Molecular formula	[M+H] ⁺		Δ ppm	Key fragment ions (<i>m/z</i>)
		Rat	Monkey		Theoretical	Observed		
MET16	—	P	ND	Unknown	—	—	—	—
MET17-1	—	U	P, U	C ₁₇ H ₁₆ FN ₂ O ₆ S ₂	427.04283	427.04316	0.77	409, 347, 329
MET17-2	—	ND	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.1845	-0.21	443, 319, 301, 207, 179, 139, 113
MET17-3	—	ND	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.1845	-0.21	443, 303
MET17-4	—	U	P, U	C ₂₃ H ₂₄ FN ₂ O ₉ S	523.11811	523.11848	0.71	505, 347, 329, 153
MET18	—	P, F	ND	Unknown	—	—	—	—
MET19-1	M16 (M1-Gluc)	B	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₉	603.18971	603.1887	-1.67	479, 427, 303, 285, 191, 179, 163, 139, 125, 113
MET19-2	—	B	U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18347	-1.87	443, 303
MET19-3	—	B	U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18347	-1.87	443, 287, 269, 175, 157, 147, 139, 113
MET19-4	—	ND	U	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₅	459.14745	459.14735	-0.22	303, 285, 175, 157, 155, 147, 129
MET20	—	ND	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18425	-0.61	495, 443, 319, 301, 207, 179, 139, 113
MET21	—	P	ND	Unknown	—	—	—	—
MET22	M18 (M3-Gluc)	B	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₉	603.18971	603.18853	-1.96	427, 287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
MET23	—	ND	P, U	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₅	459.14745	459.14684	-1.33	287, 269, 175, 147, 139, 113
MET24	—	ND	P	Unknown	—	—	—	—
MET25	—	F	ND	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15311	1.29	303, 285, 191, 163, 139, 113
MET26-1	—	ND	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15257	0.07	319, 301, 207, 179, 139, 113
MET26-2	—	ND	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15257	0.07	303, 285, 191, 163, 141, 139, 113
MET26-3	—	ND	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₅	459.14745	459.14727	-0.39	319, 301, 207, 179, 141, 139, 113
MET27-1	—	P, U	ND	C ₁₇ H ₁₆ FN ₂ O ₅	347.10378	347.10434	1.61	329, 303, 193, 155, 137

Table. 2-5 Molecular ions and characteristic fragment ions of lemborexant and metabolites detected in animal biological samples (continued).

Analyte	M No.	Detection		Molecular formula	[M+H] ⁺		Δ ppm	Key fragment ions (<i>m/z</i>)
		Rat	Monkey		Theoretical	Observed		
MET27-2	M13	U	P, U	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15277	0.52	425, 287, 269, 175, 147, 139, 113
MET28	M20 (M8-Gluc)	B	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₉	603.18971	603.18822	-2.47	479, 427, 303, 285, 283, 175, 155, 147, 129, 125
MET29	—	ND	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₆ S	507.11444	507.11449	0.1	427, 287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
MET30	M21 (M9-Gluc)	B	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₉	603.18971	603.18841	-2.16	427, 287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
MET31-1	—	F	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15245	-0.20	287, 269, 175, 157, 147, 139, 113
MET31-2	M11	P, F	P, U, F	C ₁₇ H ₁₈ FN ₂ O ₃	317.12960	317.13009	1.55	193, 125
MET31-3	M14	P, U	P, U	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15295	0.93	287, 269, 175, 147, 139, 113
MET32	M1	F	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15837	1.76	303, 285, 191, 179, 163, 139, 125, 113
MET33	—	F	ND	C ₂₃ H ₂₄ FN ₄ O ₃ S	455.15477	455.15566	1.96	331, 313, 219, 179, 153, 139, 113
MET34-1	M12	P, B, F	U, F	C ₂₂ H ₁₉ F ₂ N ₄ O ₄	441.13689	441.13736	1.07	287, 269, 175, 147, 139, 113
MET34-2	M4	P	P	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15812	1.17	287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
MET34-3	M7	ND	P, F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15722	-0.94	303, 285, 191, 163, 139, 125, 113
MET35-1	M3	P, F	P, F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15809	1.1	287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
MET35-2	M9	P, F	P, F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15806	1.03	287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
MET36	M10	ND	P	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15717	-1.05	287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
MET37	M8	F	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15871	2.55	303, 285, 283, 175, 155, 147, 129, 125

B, bile; F, feces; Gluc, glucuronide; P, plasma; U urine; ND, not detected; —, not applicable.

第三節 考察

本章では、ラット及びサルにおけるレンボレキサントの吸収、分布、代謝、排泄を明らかにした。ラットに単回経口投与した $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントは速やかに吸収され、血液中放射能濃度は、投与後 0.83 時間で最大値を示した。その後、生体内の放射能は速やかに排泄され、投与後 24 時間以内に投与放射能の 94.4%が尿及び糞中に回収された。血液中放射能濃度の消失半減期は 110 時間と比較的長い一方で、分布相における半減期は約 4.2 時間と短く、消失半減期よりも分布相の半減期が生体内からの放射能の排泄を反映していた。胆管カニューレ処置ラットでは、投与された放射能は速やか、かつほぼ完全に胆汁中に回収された。これらのことから、ラットに経口投与された $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントはほぼ完全に吸収され、その後、胆汁を介して糞中に排泄されることが明らかとなった。また、代謝物プロファイリングにおいて、ラット排泄物中に未変化体であるレンボレキサントが検出されておらず、この面からもラットにおいて高い吸収率であることを支持している。サルにおいても、経口投与後 $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントは速やかに吸収され、血液、血漿及び血球中放射能濃度は投与後 1.2~1.8 時間で最大値を示した。その後、放射能濃度推移は、三相性のプロファイルを示し、消失半減期 110 時間で減少した。投与した放射能のうちの大部分（投与放射能量の 96.5%）は、投与後 168 時間までに排泄物（主に糞）中に回収された。レンボレキサントの動態的特徴である速やかな吸収と糞中への排泄は、少なくともラット及びサルでは動物種間で保存された特徴であることが明らかとなり、ヒトにおいても同様の性質を示すことが予期された。

ラット血液中放射能濃度推移において、投与後 8 時間で第二のピークが検出された (Figure. 2-2A)。胆管カニューレ処置ラットでの放射能の尿中排泄率（投与放射能量の 1.1%）が、カニューレ未処置ラット（5.9%）と比較して低いこと、ラット胆汁中で投与放射能量の 10%以上を示すグルクロン酸抱合代謝物が検出されていることを考慮すると、血液中濃度推移に第二ピークが認められたのは、生成した代謝物が胆汁中に排泄され、消化管で脱抱合反応を受けたのち、再度吸収された（腸肝循環）ためと考えられる。

ラットに経口投与された放射能は、組織内に速やかに広く分布し、臓器重量及び各臓器・組織中放射能濃度を考慮すると、肝臓に最も高く放射能が分布することが示された（投与後 1 時間において投与放射能量の 4.85%）。この結果は、非常に速やかに投与放射能が胆汁に排泄されることと整合性がある。多くの臓器・組織における放射能濃度は、投与後 336 時間で最大値の 1%以下又は検出限界未満にまで減少し、放射能の蓄積は認められなかった。

ラット及びサルにおいて、未変化体であるレンボレキサントは尿、糞及び胆汁中で検出されなかったことから、レンボレキサントの生体内からの主な消失経路は代謝であり、

Figure. 2-6 に示した代謝経路のように、レンボレキサントは多様かつ逐次的な経路を介して代謝されることが明らかとなった。

代謝物プロファイリングから、サル血漿では未変化体が主要放射性構成成分であった一方で、ラット血漿では未変化体が占める割合は小さく、代謝物が放射能の大部分を占めていた。これは、サルに比べ、ラットで未変化体の代謝クリアランスが大きく、速やかに代謝物に変換されることが要因と考えられた。排泄物中で検出された代謝物の構造及びその存在比率より、ラット及びサルにおけるレンボレキサントの主な代謝経路は、**dimethylpyrimidine** 部位又は **fluorophenyl** 部位の酸化代謝であることが明らかとなった。レンボレキサントは、まず複数の一次酸化体に代謝され、その後、更に酸化代謝又は抱合代謝を受け、カルボキシル化体や二酸化体、抱合代謝物となって生体から排泄されていた。第二相代謝反応のうち、ラットでは、グルタチオン又はグルクロン酸抱合反応が主な代謝経路であった。一方、サルでは、グルクロン酸抱合反応が主な第二相代謝経路であり、硫酸抱合やグルタチオン抱合反応はマイナーであった。加水分解体 (M11 及び MET27-1) が検出されたことから、アミド加水分解もレンボレキサントの代謝に寄与することが示されたが、排泄物中の該当代謝物の存在比から、ラット、サル共にマイナー経路であると考えられた。ラット及びサルの尿糞中に、複数の脱フッ素代謝物が認められ、総量としてそれぞれ投与放射エネルギーの 16%及び 3.7%を占めていた。このことから、酸化的脱フッ素化がラット及びサルにおけるレンボレキサントの代謝経路の 1 つであることが示された。検出された脱フッ素代謝物の多くがグルタチオン抱合体もしくはその派生代謝物であり、また、酸化的脱フッ素化は、反応性の高い代謝中間体の生成につながることで知られている[31],[32]。このことから、検出された脱フッ素代謝物は、レンボレキサントの **fluorophenyl** 部位で酸化的脱フッ素化が生じたのち、グルタチオン抱合を受けて生成したものであると考えられた。

概して、ラットとサルにおいてレンボレキサントの代謝経路は類似しており、**dimethylpyrimidine** 部位または **fluorophenyl** 部位の酸化反応が主要代謝経路であった。

第四節 結論

本章では、レンボレキサントのラット及びサルにおける吸収、分布、代謝、排泄の詳細を明らかにした。¹⁴Cレンボレキサントは、経口投与後速やかかつほぼ完全に生体内に吸収され、多くの組織へ速やかに広く分布し、酸化代謝を主要経路とした多様かつ逐次的な代謝を受けたのち、主に胆汁排泄を介して糞中へ排泄されることが示された。また、組織中の残存放射エネルギーも低く、動物へ投与した薬剤のほとんどが排泄物中に回収されることから、ヒトにおいても放射エネルギーが残存することなくマスバランス試験が実施可能であると考えられた。

第三章 ヒトにおけるレンボレキサントの体内動態

第一節 緒言

医薬品開発において、健康成人における吸収、代謝及び排泄などの薬物動態特性に関わる基本情報は、DDI リスクや肝及び腎機能障害患者などの病態時における薬物動態プロファイルを精査するための重要な情報である。

第二章で示したように、レンボレキサントは、ラット及びサルにおいて、多様かつ逐次的な代謝を受けて、非常に多くの代謝物へと変換されることが明らかとなった。循環血中に存在する代謝物が薬理活性を有する場合、活性代謝物として未変化体と共に薬理ターゲットへと作用し、薬効持続時間の延長や薬効投与量の低下といった医薬品開発上一見好ましい効果が予期される。一方で、活性代謝物に因る薬効への寄与が大きい場合、代謝能の個体間バラツキによって活性代謝物の生成量やそれによって引き起こされる薬理効果が容易に変動することに繋がり、薬物動態や薬効の制御の観点においてはより一層複雑性が増すことになる。一定の用法・用量で反復投与を行い、定常状態において1日のうち長期間薬効の持続を期待するような薬剤とは異なり、レンボレキサントのような不眠症治療薬では、夜間のみ薬効が持続することを期待するため、作用持続時間の変動に繋がる不確定要素が少なく、濃度と薬効の関係性がシンプルであることが望ましい。

また、循環血中で高い暴露量を示す代謝物は、安全性及びDDIの観点においても、その潜在リスクを評価することが求められる。例えば、米国FDAのMIST及びICH M3(R2)ガイダンスでは、大規模臨床試験(通常Phase 3試験)の前までに、ヒトにおいて薬物関連総暴露量に対して10%以上の暴露量を示す主要代謝物の同定と非臨床毒性試験での十分な暴露の確保を要求されると共に[2], [3], DDIガイドラインでは、上記の主要代謝物(薬物関連総暴露量に対して10%以上の暴露量を示す代謝物)のうち、未変化体暴露量の25%以上の暴露量を示す代謝物に対して、代謝酵素及びトランスポーターに対するDDI作用を評価することが推奨されている[5]。

そこで、本章ではレンボレキサントのヒトにおける体内動態特性、マスバランス(物質収支)、代謝物プロファイルの詳細を明らかにするとともに、血漿で認められた代謝物について、レンボレキサント投与による睡眠誘発効果への寄与を精査すると共に、MISTガイダンス及びICH M3(R2)ガイダンスをもとに、代謝物の安全性評価の観点でヒト及び動物における暴露量評価を行った。

第二節 結果

3-2-1. レンボレキサント及び代謝物の血漿中体内動態

[¹⁴C]レンボレキサント 10 mg を健康男性成人に単回経口投与した時の血漿中の放射能, レンボレキサント及びその代謝物の濃度推移を Figure. 3-1 に, その推移から得られた PK パラメータを Table. 3-1 に, それぞれ示す。

Table. 3-1 PK parameters of radioactivity, lemborexant, and its metabolites in plasma after a single oral administration of [¹⁴C]lemborexant to healthy male subjects

Parameter	Unit	Radioactivity	Lemborexant	M4	M9	M10
C _{max}	(ng/mL) ^a	61.7±9.81	29.5±5.91	5.18±1.34	3.87±0.533	3.32±0.915
t _{max}	(h)	1.00 [1.00–3.00]	1.00 [1.00–3.00]	3.50 [2.00–4.00]	2.00 [1.00–4.00]	4.00 [3.00–8.00]
AUC _(0-inf)	(ng·h/mL) ^a	1390±450	317±92.5	96.2±27.1	65.6±14.7	167±57.4
t _{1/2}	(h)	43.6±16.3	45.2±15.5	30.5±11.3	27.7±6.21	36.2±9.39
CL/F	(L/h)	7.60±2.12	32.8±7.79	—	—	—
V _z /F	(L)	440±56.0	2120±907	—	—	—
AUC _(0-inf) ratio	(% of RA)	—	23.1±2.3	7.0±0.8	4.9±0.6	12.1±2.5

Parameters except for t_{max} represent the mean ± SD of eight subjects. The t_{max} is expressed as median and range.

—, not applicable; CL/F, oral clearance; RA, radioactivity; t_{1/2}, terminal elimination half-life; t_{max}, time to reach maximum concentration; V_z/F, volume of distribution based on the terminal phase.

^a Units for radioactivity are ng eq./mL and ng eq.·h/mL.

血漿中放射能及びレンボレキサント濃度は, 投与後 1 時間に C_{max} に達し, その後二相性の消失を示した。消失半減期は, それぞれ 43.6 時間, 45.2 時間であった。代謝物である M4, M9 及び M10 は, 投与後 2~4 時間に C_{max} に達し, 消失半減期は 27.7~36.2 時間と算出され, レンボレキサント及び放射能の消失半減期よりも多少短い値を示した。

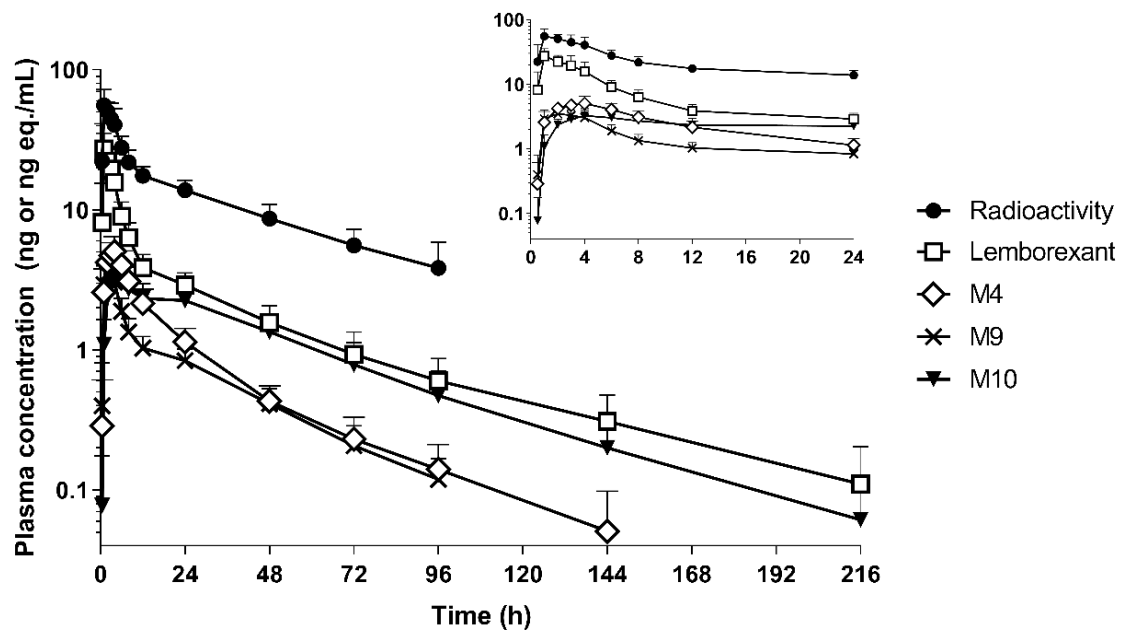


Figure. 3-1 Plasma concentration-time profiles of radioactivity, lemborexant, and its metabolites after a single oral administration of $[^{14}\text{C}]$ lemborexant to healthy male subjects.

Each point represents the mean + SD of eight subjects.

3-2-2. 尿及び糞中への排泄

$[^{14}\text{C}]$ レンボレキサント 10 mg を健康男性成人に単回経口投与した時の尿及び糞中放射能累積排泄率の時間推移を Figure. 3-2 に示す。

投与した放射能のうち 86.5% (個別値 : 75.6%~91.7%) が、投与後 20 日までに尿及び糞中に回収された。主な排泄経路は糞中への排泄 (57.4%) であり、尿中への排泄は 29.1%であった。なお、トイレトペーパー中に検出された放射エネルギーはわずかであった (0.08%)。

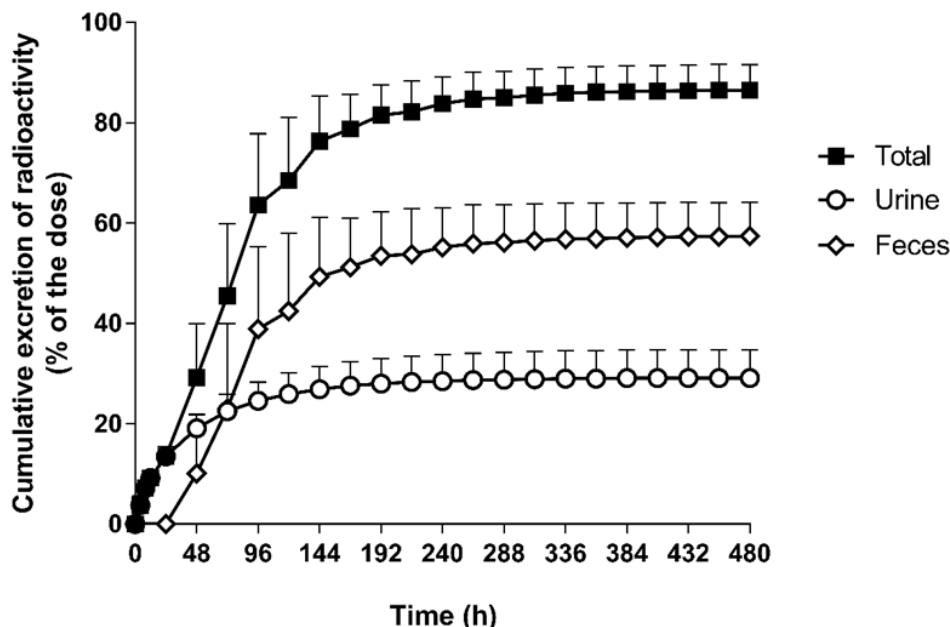


Figure. 3-2 Cumulative excretion of radioactivity recovered in urine and feces after a single oral administration of [¹⁴C]lemborexant to healthy male subjects.

Each point represents the mean + SD of eight subjects.

3-2-3. 血漿，尿及び糞中代謝物のプロファイリング及び構造解析

[¹⁴C]レンボレキサント 10 mg を健康男性成人に単回経口投与した後，得られた血漿，尿及び糞中の代謝物プロファイルを Table. 3-2 及び Table. 3-3 に示す。また，Figure. 3-3 に，各生体試料の代表的なラジオクロマトグラムを示す。

<代謝物プロファイリング>

AUC pooling method にて調製したヒト血漿試料では，レンボレキサントが最も多く，試料中総放射能の 26.5% を占めた。次いで，M10，M9，M4，M18 (M3 のグルクロン酸抱合体) が多く，それぞれ 12.5%，6.6%，6.3%，6.0% であった。他の代謝物は，血漿中の総放射能に対して，3.2% 以下であった。

尿では，M18 が最も多く認められ，投与放射エネルギーの 11.0% を示した。次いで，Met24 (M12 及び M4 の共溶出物；4.0%)，Met9 (M16，Met9-2，Met9-3 及び M22 の共溶出物；1.7%) 及び M21 (1.4%) が多く検出された。その他の代謝物は，投与放射エネルギーに対して 1.0% 未満であった。

糞中では、レンボレキサントと Met29 の共溶出物が投与放射エネルギーに対して 13.0%を占めた。この共溶出物の概算存在比を得るため、LC-MS を用いた解析を行った結果、レンボレキサント由来のマスイオン強度は、Met29 由来のものに比べて非常に大きく (Mass intensity : レンボレキサント vs. Met29 = 246,964,160 vs. 2,938,070), この共溶出物の放射能は、主にレンボレキサントに起因するものと考えられた。M12 が主な代謝物として認められ (投与放射エネルギーの 12.0%), 次いで、Met22 (M1 と Met22-2 の共溶出物 ; 4.7%), Met15 (Met15-1 と Met15-2 の共溶出物 ; 2.5%), M7 (1.7%) 及び Met19 (1.1%) が多く検出された。その他の代謝物はマイナーであった (1.0%未満)。

Table. 3-2 Relative exposures of lemborexant and its metabolites in human AUC-pooled plasma

Analyte	M No.	Total drug-related exposure (%)
Met1	—	1.1
Met2	—	1.2
Met3	—	1.6
Met5	—	2.8
Met7	—	3.2
Met8	—	2.2
Met11-2	—	2.0
Met12	M18	6.0
Met16-2	M13	1.6
Met17	M20	1.5
Met18	—	1.4
Met21 ^a	M11 ^b , M14 ^b	3.0
Met23	M15	2.6
Met24-1	M12	3.1
Met24-2	M4	6.3
Met26-2	M9	6.6
Met27	M10	12.5
Lemborexant	—	26.5

—, not applicable.

a Met21 was a mixture of Met21-1 and Met21-2.

b Met21-1 and Met21-2 were identified as M11 and M14, respectively.

Table. 3-3 Relative abundance of lemborexant and its metabolites recovered in human excreta

Analyte	M No.	% of the dose		
		Urine	Feces	Total
Met4	—	0.5±0.4	ND	0.5±0.4
Met5	—	0.7±0.4	ND	0.7±0.4
Met6	M23	0.5±0.4	ND	0.5±0.4
Met7	—	0.2±0.3	ND	0.2±0.3
Met9 ^a	M16 ^b , M22 ^b	1.7±0.4	ND	1.7±0.4
Met10	—	ND	0.3±0.4	0.3±0.4
Met11 ^c	M17 ^d	0.6±0.3	ND	0.6±0.3
Met12	M18	11.0±2.5	ND	11.0±2.5
Met13	M24 (M14-Gluc)	0.9±0.2	ND	0.9±0.2
Met14 ^e	—	ND	0.8±0.5	0.8±0.5
Met15 ^f	—	ND	1.7±0.4	1.7±0.4
Met16 ^g	M13 ^h	0.9±0.2	ND	0.9±0.2
Met17	M20	0.5±0.4	ND	0.5±0.4
Met19	—	ND	1.1±0.4	1.1±0.4
Met20	M21	1.4±0.7	ND	1.4±0.7
Met21 ⁱ	M11 ^j , M14 ^j	0.8±0.3	ND	0.8±0.3
Met22 ^k	M1 ^l	ND	2.5±0.7	2.5±0.7
Met24 ^m	M12 ⁿ , M4 ⁿ	4.0±1.3	12.0±2.1	16.0±1.8
Met25	M7	ND	1.4±0.3	1.4±0.3
Met26 ^o	M3 ^p , M9 ^p	ND	4.7±1.8	4.7±1.8
Met28	M8	ND	0.7±0.5	0.7±0.5
Lemborexant + Met29 ^q	—	ND	13.0±5.3	13.0±5.3

Each value represents the mean ± SD of eight subjects.

ND, below the lower limit of detection; —, not applicable.

a Met9 was a mixture of Met9-1, Met9-2, Met9-3, and Met9-4.

b Met9-1 and Met9-4 were identified as M16 and M22.

c Met11 was a mixture of Met11-1, Met11-2, and Met11-3. d Met11-1 was identified as M17.

e Met14 was a mixture of Met14-1 and Met14-2. f Met15 was a mixture of Met15-1 and Met15-2.

g: Met16 was a mixture of Met16-1 and Met16-2. h Met16-2 was identified as M13.

i Met21 was a mixture of Met21-1 and Met21-2. j Met21-1 and Met21-2 were identified as M11 and M14.

k Met22 was a mixture of Met22-1 and Met22-2. l Met22-1 was identified as M1.

m Met24 was a mixture of Met24-1 and Met24-2. Met24-2 was not detected in feces.

n Met24-1 and Met24-2 were identified as M12 and M4. o Met26 was a mixture of Met26-1 and Met26-2.

p Met26-1 and Met26-2 were identified as M3 and M9. q Met29 was eluted as a mixture with lemborexant.

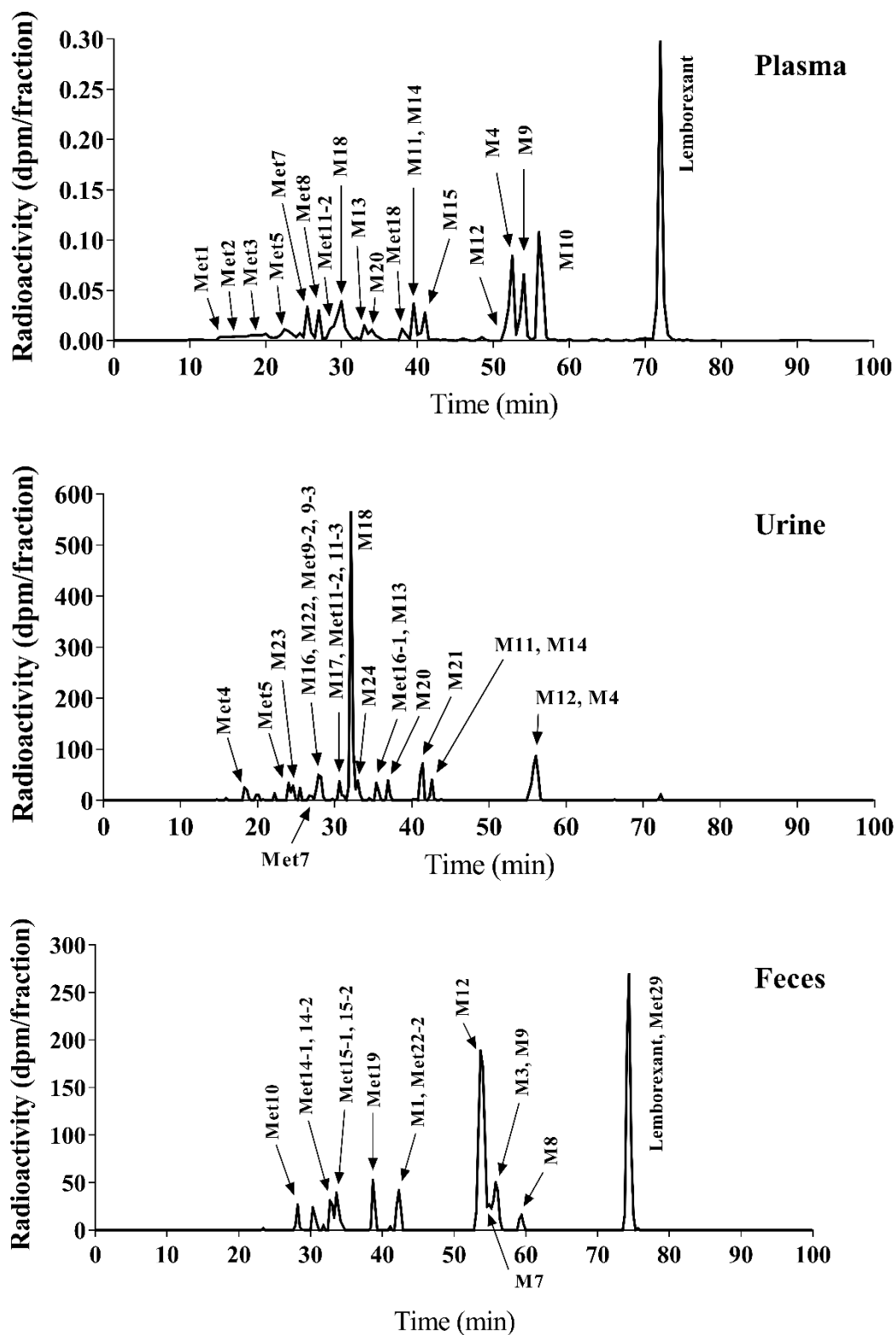


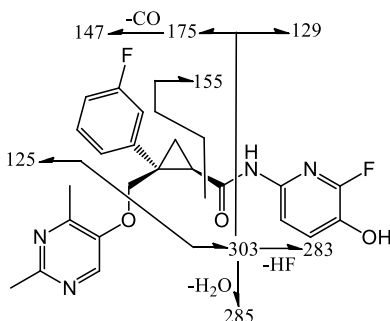
Figure. 3-3 Representative HPLC radiochromatograms of lemborexant and its metabolites in human biological samples

<代謝物構造解析>

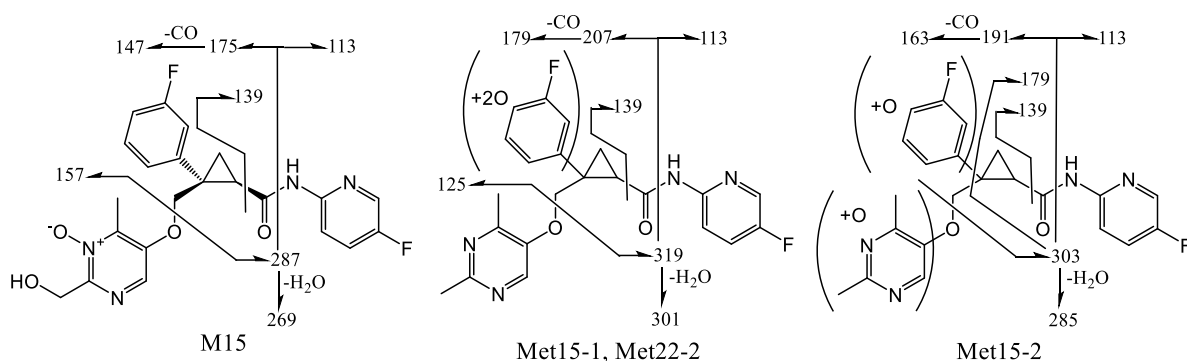
ラット及びサルと同様に、ヒトにおいてもレンボレキサントは複数の代謝経路を介して多様な代謝物に代謝され、ヒト血漿、尿及び糞中において、44 代謝物が検出された。そのうち、33 代謝物について、代謝物標準物質又は *in vitro* で生成させたグルクロン酸抱合体と比較することで、構造を同定又は推定した。未変化体及び検出された代謝物の精密質量、分子式、マスプロダクトイオンを Table. 3-4 にまとめた。また、動物でも検出された代謝物については、その代謝物番号(MET No.)を併記した。検出された代謝物をもとに推定したヒトにおけるレンボレキサントの代謝経路を Figure. 3-4 に示す。

以下に、ヒトで検出された代謝物の構造解析について記載する。なお、動物において認められ、2-2-3.項に記載した代謝物については内容が重複するため、ここでは記載を割愛する。

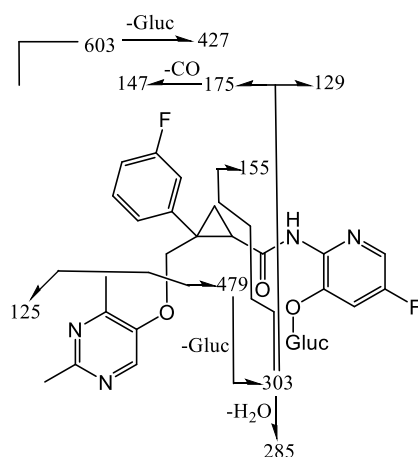
M8 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 16 Da 大きい m/z 427 を示し、プロダクトイオンとして m/z 303, 285, 283, 175, 155, 147, 129 及び 125 が認められた。プロダクトイオン m/z 129 は、fluoropyridine 部位が一酸化反応を受けたことを示している。標準物質との比較から、M8 は一酸化反応と NIH-shift に類似した機構によって fluoropyridine 部位のフッ素が転移した水酸化代謝物と同定した。



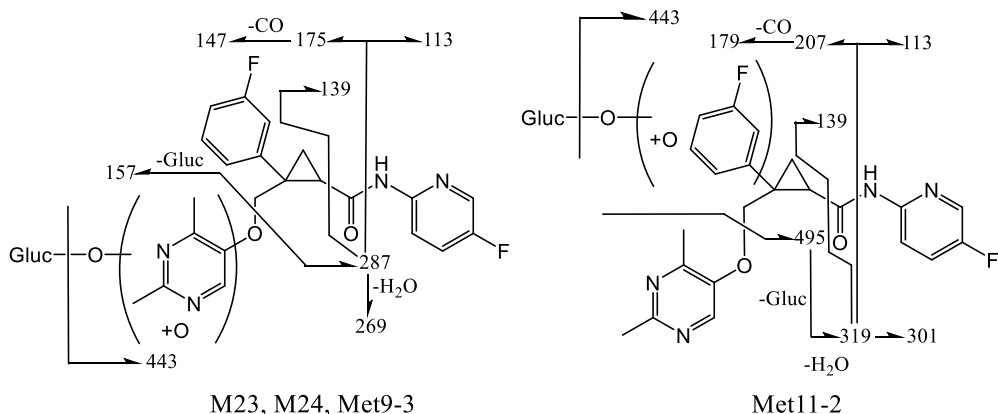
M15, Met15-1, Met15-2 及び Met22-2 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 32 Da 大きい m/z 443 を示した。M15 で認められたプロダクトイオン m/z 287 は、dimethylpyrimidine 部位が二酸化反応を受けたことを示しており、標準物質との比較から、M15 は二酸化代謝物と同定した。Met15-1 及び Met22-2 では、プロダクトイオン m/z 319 及び 207 が認められ、fluorophenyl 部位が二酸化反応を受けたと考えられた。また、Met15-2 では、プロダクトイオン m/z 303 及び 191 を示し、dimethylpyrimidine 部位及び fluorophenyl 部位がそれぞれ一酸化反応を受けていると考えられた。これらから、Met15-1, Met15-2 及び Met22-2 は二酸化代謝物と推定した。



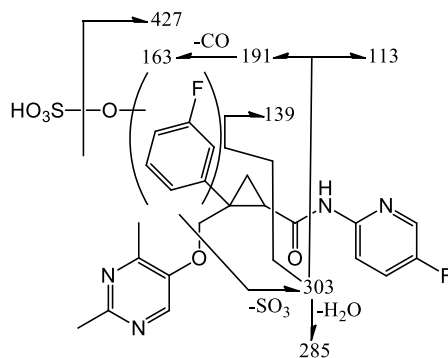
M17は、プロトン付加体として、未変化体よりも 192 Da 大きい m/z 603 を示した。M17 のプロダクトイオン及びカラム保持時間は、水酸化代謝物である M5 から生合成したグルクロン酸抱合体と一致したことから、M17 は一酸化代謝物 M5 のグルクロン酸抱合体と同定した。



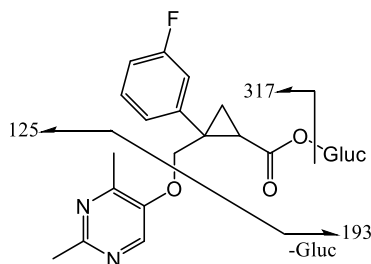
M23, M24, Met9-2, Met9-3, Met11-2 及び Met11-3 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 208 Da 大きい m/z 619 を示し、二酸化体に特徴的な m/z 443 よりも 176 Da 大きく、この値はグルクロン酸抱合体代謝物に特徴的であることから、これら代謝物は二酸化代謝物のグルクロン酸抱合体であると推定された。M23, M24 及び Met9-3 は、プロダクトイオン m/z 287 を示し、dimethylpyrimidine 部位が二酸化反応及びグルクロン酸抱合体反応を受けていることを示唆している。M23 及び M24 のプロダクトイオン及びカラム保持時間は、M13 及び M14 から生合成したグルクロン酸抱合体と一致したため、M23 及び M24 は二酸化代謝物 M13 及び M14 のグルクロン酸抱合体と同定した。Met11-2 は、プロダクトイオン m/z 495 及び 207 を示したことから、fluorophenyl 部位で二酸化反応及びグルクロン酸抱合体反応を受けていると考えられた。Met9-2 及び Met11-3 については、プロダクトイオンパターンから更なる詳細な構造情報を得ることはできなかった。



Met14-1 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 96 Da 大きい m/z 507 を示した。一酸化体の特徴的な m/z 427 よりも 80 Da 大きく、またこの値は硫酸抱合代謝物に特徴的である。プロダクトイオン m/z 191 は、fluorophenyl 部位で酸化代謝及び硫酸抱合が生じたことを示している。これらから、Met14-1 は一酸化代謝物の硫酸抱合体と推定した。

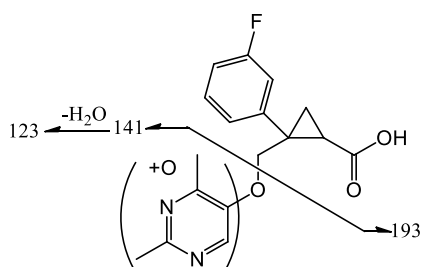


M22 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 82 Da 大きい m/z 493 を示した。M22 のプロダクトイオン及びカラム保持時間は、アミド加水分解体である M11 から生合成したグルクロン酸抱合体と一致したことから、M22 は M11 のグルクロン酸抱合体と同定した。

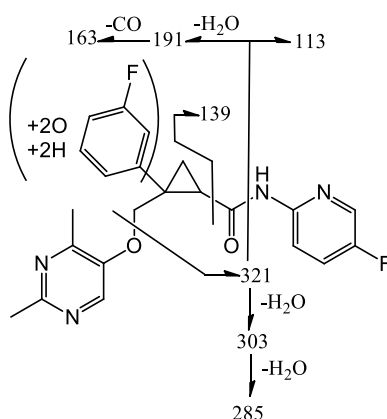


Met16-1 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 78 Da 小さい m/z 333 を示した。

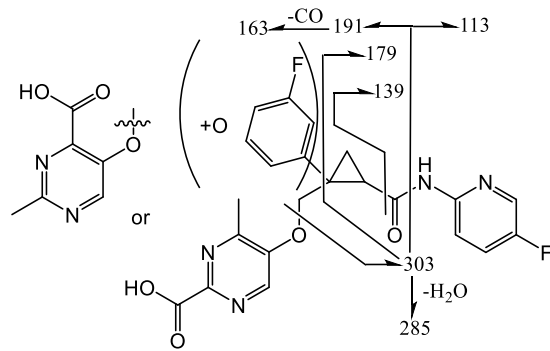
プロダクトイオン m/z 193 及び 141 は、アミド加水分解反応及び dimethylpyrimidine 部位での酸化代謝が生じたことを示している。従って、Met16-1 は、M11 の一酸化代謝物であると推定された。



Met5 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 34 Da 大きい m/z 445 を示した。プロダクトイオン m/z 321, 191 及び 113 は、レンボレキサントが fluorophenyl 部位で二酸化代謝及びその後の還元反応を受けたことを示している。これらから、Met5 はレンボレキサントのジヒドロジオール体であると推定された。



Met14-2 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 46 Da 大きい m/z 457 を示した。プロダクトイオン m/z 303 及び 191 は、fluorophenyl 部位における一酸化反応及び dimethylpyrimidine 部位のカルボキシル化を示唆している。従って、Met14-2 は、一酸化代謝物のカルボキシル化体であると推定された。



Met29 は、プロトン付加体として、未変化体よりも 44 Da 大きい m/z 455 を示した。プロタクトイオン m/z 169 は、dimethylpyrimidine 部位がカルボキシル化されたのち、メチル化されたことを示唆している。このため、Met29 は、カルボキシル化したレンボレキサントのメチル化体であると推定された。

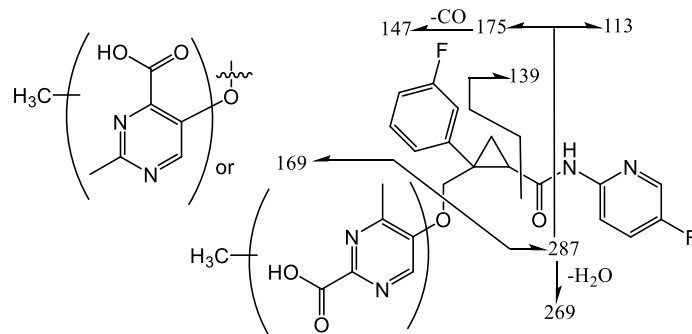


Table. 3-4 Molecular ions and characteristic fragment ions of lemborexant and metabolites detected in human biological samples.

Analyte	M No.	MET No. ^a	Detection	Molecular formula	[M+H] ⁺		Δ ppm	Key fragment ions (<i>m/z</i>)
					Theoretical	Observed		
Parent	Lemborexant	—	P, F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₂	411.16271	411.16318	1.1	287, 269, 175, 147, 139, 125, 113
Met1	—	—	P	Unknown	—	—	—	—
Met2	—	—	P	Unknown	—	—	—	—
Met3	—	—	P	Unknown	—	—	—	—
Met4	—	—	U	Unknown	—	—	—	—
Met5	—	D	P, U	C ₂₂ H ₂₃ F ₂ N ₄ O ₄	445.16819	445.16757	-1.4	321, 303, 285, 191, 163, 139, 113
Met6	M23 (M13-Gluc)	MET14-1	U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18472	0.1	443, 425, 287, 269, 175
Met7	—	—	P, U	Unknown	—	—	—	—
Met8	—	—	P	Unknown	—	—	—	—
Met9-1	M16 (M1-Gluc)	MET19-1	U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₉	603.18971	603.18928	-0.7	479, 427, 303, 285, 191, 179, 163, 139, 125, 113
Met9-2	—	MET19-2	U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18581	1.9	479, 443, 303, 285, 175, 155, 147, 141, 129
Met9-3	—	MET19-3	U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18581	1.9	443, 287, 269, 175, 157, 147, 139, 113
Met9-4	M22 (M11-Gluc)	ND	U	C ₂₃ H ₂₆ F ₂ N ₂ O ₉	493.16169	493.15977	-3.9	317, 193, 125
Met10	—	—	F	Unknown	—	—	—	—
Met11-1	M17 (M5-Gluc)	D	U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₉	603.18971	603.18958	-0.2	479, 427, 303, 285, 175, 155, 147, 129, 125
Met11-2	—	MET20	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18529	1.1	495, 443, 319, 301, 207, 179, 139, 113
Met11-3	—	ND	U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18603	2.3	443, 303
Met12	M18 (M3-Gluc)	MET22	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₉	603.18971	603.19153	3.0	427, 287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
Met13	M24 (M14-Gluc)	D	U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₁₀	619.18463	619.18534	1.1	443, 287, 269, 175, 147, 139, 113
Met14-1	—	D	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₆ S	507.11444	507.11472	0.6	427, 303, 285, 191, 163, 139, 113
Met14-2	—	D	F	C ₂₂ H ₁₉ F ₂ N ₄ O ₅	457.13180	457.13227	1.0	303, 285, 191, 179, 163, 139, 113

Table. 3-4 Molecular ions and characteristic fragment ions of lemborexant and metabolites detected in human biological samples (continued).

Analyte	M No.	MET No. ^a	Detection	Molecular formula	[M+H] ⁺		Δ ppm	Key fragment ions (<i>m/z</i>)
					Theoretical	Observed		
Met15-1	—	MET26-1	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15281	0.6	319, 301, 207, 179, 139, 125, 113
Met15-2	—	MET26-2	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15281	0.6	303, 285, 191, 179, 163, 139, 113
Met16-1	—	D	U	C ₁₇ H ₁₈ FN ₂ O ₄	333.12451	333.12518	2.0	193, 141, 123
Met16-2	M13	MET27-2	P, U	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15324	1.6	425, 287, 269, 175, 147, 139, 113
Met17	M20 (M8-Gluc)	MET28	P, U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₉	603.18971	603.18953	-0.3	479, 427, 303, 285, 283, 175, 155, 147, 129, 125
Met18	—	—	P	Unknown	—	—	—	—
Met19	—	MET29	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₆ S	507.11444	507.11559	2.3	427, 287, 269, 175, 147, 139
Met20	M21 (M9-Gluc)	MET30	U	C ₂₈ H ₂₉ F ₂ N ₄ O ₉	603.18971	603.19066	1.6	427, 287, 269, 175, 147, 139, 113
Met21-1	M11	MET31-2	P, U	C ₁₇ H ₁₈ FN ₂ O ₃	317.12960	317.12927	-1.0	193, 125
Met21-2	M14	MET31-3	P, U	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15273	0.4	287, 269, 175, 157, 147, 139, 113
Met22-1	M1	MET32	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15805	1.0	303, 285, 191, 179, 163, 139, 125, 113
Met22-2	—	D	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15287	0.7	425, 319, 301, 207, 179, 139, 113
Met23	M15	D	P	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	443.15254	443.15278	0.5	287, 269, 175, 157, 147, 139, 113
Met24-1	M12	MET34-1	P, U, F	C ₂₂ H ₁₉ F ₂ N ₄ O ₄	441.13689	441.13700	0.2	287, 269, 175, 147, 139, 113
Met24-2	M4	MET34-2	P, U	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15801	0.9	287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
Met25	M7	MET34-3	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15817	1.3	303, 285, 191, 163, 139, 125, 113
Met26-1	M3	MET35-1	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15809	1.1	287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
Met26-2	M9	MET35-2	P, F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15785	0.5	287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
Met27	M10	MET36	P	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15820	1.4	287, 269, 175, 147, 141, 139, 113
Met28	M8	MET37	F	C ₂₂ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	427.15762	427.15791	0.7	303, 285, 283, 175, 155, 147, 129, 125
Met29	—	D	F	C ₂₃ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₄	455.15254	455.15273	0.4	287, 269, 175, 169, 147, 139, 113

D, detected in animals; F, feces; Gluc, glucuronide; ND, not detected in animals; P, plasma; U, urine; —, not applicable.

^a For metabolites detected in animals, MET No. is shown.

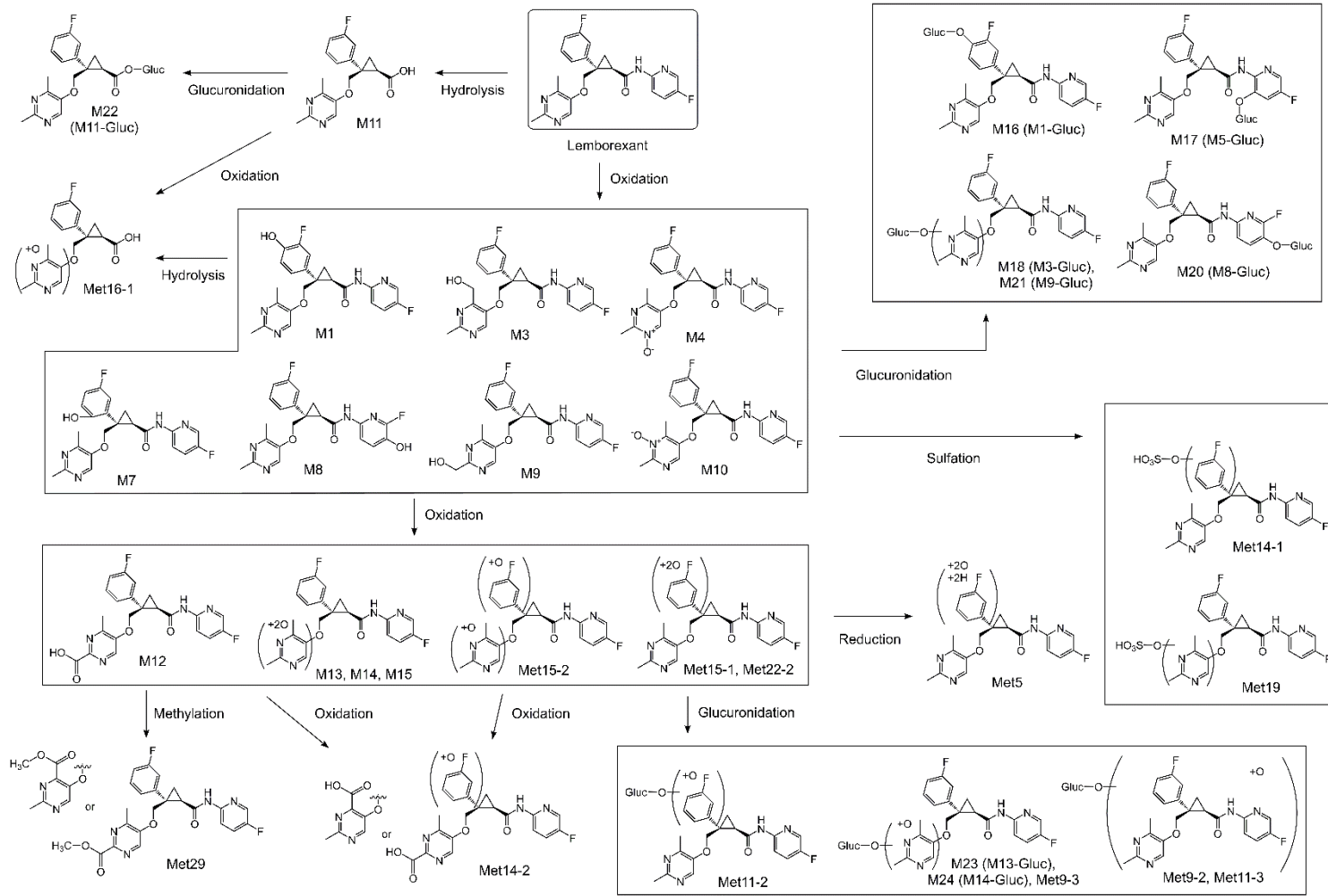


Figure. 3-4 Proposed metabolic pathways of lemborexant in humans
 Gluc, glucuronide.

3-2-4. 代謝物のオレキシン受容体への結合親和性

代謝物プロファイリングにおいて、比較的高い血漿中暴露量を示し、かつ非グルクロン酸抱合代謝物として検出された M4, M9 及び M10 について、その特性を明らかにするため、更なる検討を行った。

ヒト OX1R 及び OX2R に対する M4, M9 及び M10 の結合親和性を receptor binding assay にて評価した。いずれの代謝物もヒト OX1R 及び OX2R に対して結合親和性を示し (Table. 3-5), 算出された代謝物の IC₅₀ は、レンボレキサント (OX1R : 6.1 nmol/L, OX2R : 2.6 nmol/L) と同程度であった[25]。

Table. 3-5 Binding affinity of lemborexant metabolites to human orexin receptors

Compound	IC ₅₀ (nmol/L)	
	OX1R	OX2R
M4	11.7±1.7	3.8±1.1
M9	18.6±1.3	4.7±1.5
M10	4.2±1.2	2.9±1.5

Values represent the mean ± SEM of three independent experiments performed in triplicate.

3-2-5. P-gp 及び BCRP 発現細胞を用いた経細胞輸送

レンボレキサントは、コントロール細胞である LLC-PK1 細胞及び MDCK-II 細胞を用いた経細胞輸送評価において、高い膜透過性を示した (透過係数 P_{app} : 28~32 ×10⁻⁶ cm/sec)。P-gp 及び BCRP 発現細胞におけるレンボレキサントの CFR (corrected flux ratio) は、それぞれ 1.47 及び 1.28 と算出された。P-gp の典型阻害剤である verapamil の存在下では、CFR が僅かに低下し、1.16 となった。一方、BCRP の典型阻害剤である Ko143 による CFR の変化は認められなかった (Table. 3-6)。

コントロール細胞 (LLC-PK1 細胞及び MDCK-II 細胞) において、代謝物である M4, M9 及び M10 は比較的高い膜透過性を示した (P_{app} : 9.6~29 ×10⁻⁶ cm/sec)。P-gp 発現細胞における M4, M9 及び M10 の CFR は、それぞれ 16.3, 2.86, 4.41 と高い値を示し、これらの値は、verapamil 存在下で低下した。一方、BCRP 発現細胞における M4, M9 及び M10 の CFR は、それぞれ 1.42, 1.04, 0.94 であり、Ko143 による CFR の変化は認められなかった (Table. 3-6)。

Table. 3-6 Transcellular transport of lemborexant and its metabolites via P-gp and BCRP

Compound	Corrected Flux Ratio			
	P-gp		BCRP	
	-	+	-	+
Lemborexant	1.47	1.16	1.28	1.21
M4	16.3	2.32	1.42	1.21
M9	2.86	1.19	1.04	1.14
M10	4.41	1.22	0.94	0.99

Values represent corrected flux ratios in the absence (-) and presence (+) of a typical inhibitor of P-gp (30 $\mu\text{mol/L}$ verapamil) or BCRP (50 nmol/L Ko143).

3-2-6. ヒト血漿中蛋白結合率評価

平衡透析法を用いて、レンボレキサント、M4、M9 及び M10 のヒト血漿中蛋白結合率を測定した (Table. 3-7)。これら化合物の血漿中蛋白結合率は、評価した濃度範囲 (100~1000 ng/mL) において同程度の値を示し、濃度依存性は認められなかった。

Table. 3-7 Plasma protein binding of lemborexant and its metabolites in humans

Concentration (ng/mL)	Plasma Protein Binding (%)			
	Lemborexant	M4	M9	M10
100	88.7 \pm 0.1	74.3 \pm 0.0	85.7 \pm 0.6	91.5 \pm 0.2
300	88.4 \pm 0.4	74.4 \pm 0.8	86.2 \pm 0.9	91.9 \pm 0.6
1000	87.4 \pm 0.8	74.4 \pm 0.5	85.3 \pm 0.5	92.0 \pm 0.3

Values represent the mean \pm SEM of three determinations. Individual blank plasma obtained from male human healthy subjects was used.

3-2-7. ヒト及び動物間における代謝物の血漿中暴露量比較

ヒト及び動物 (ラット及びサル) にレンボレキサントを反復経口投与した際のレンボレキサント、M4、M9 及び M10 の血漿中暴露量 ($\text{AUC}_{(0-24\text{h})}$) を Table. 3-8 に示す。

ヒトにおいて、レンボレキサント 10 mg を 1 日 1 回 14 日間反復経口投与した後のレンボレキサント、M4、M9 及び M10 の $\text{AUC}_{(0-24\text{h})}$ は、 ^{14}C レンボレキサント 10 mg を単回経口投与した際の $\text{AUC}_{(0-\text{inf})}$ と同程度であった (Table. 3-8)。また、これらの化合物の消失半減期が 27.7~45.2 時間であることを考慮すると、14 日間の反復経口投与は、定常状態の血漿中暴露量を評価するために、十分な時間であると考えられる。

ラット及びサルにおいて、雄性サルの 1000 mg/kg 投与群を除き、投与量依存的なレンボレキサント、M4、M9 及び M10 の $AUC_{(0-24h)}$ の上昇が認められた。ラットでは、血漿中暴露量に性差が認められ、概して、雌性で高い暴露量を示した。このことは、ラット非臨床毒性試験での評価投与量の性差に繋がっている（実験の項参照）。

反復経口投与後の定常状態における M4、M9 及び M10 のヒト血漿中暴露量と比較したところ、ラットにおいては、それぞれ 30 mg/kg 以上、10 mg/kg 以上、1000 mg/kg でヒトの暴露量を超える暴露量（Exposure Multiple: 1.0 以上）を示した。一方、サルにおいては、M4、M9 及び M10 いずれも 10 mg/kg 以上で、ヒトの暴露量を超える値を示した。

Table. 3-8 Comparison of plasma exposures of lemborexant and its metabolites between humans and animals

Parameter	Species	Dose	Lemborexant	M4	M9	M10	
$AUC_{(0-24 h)}$ (ng·h/mL)	Human	10 mg	431±226	172±71.4	98.0±54.3	259±110	
		10 mg/kg	n.t./584	n.t./2.13	n.t./2100	n.t./1.76	
	Rat	30 mg/kg	2630/n.t.	238/n.t.	2390/n.t.	9.85/n.t.	
		100 mg/kg	16,500/39,100	1600/627	4940/13600	74.1/204	
		1000 mg/kg	40,000/223,000	2770/12,100	10,100/25,100	259/3070	
	Monkey	10 mg/kg	4090/3820	2290/2020	195/328	353/320	
		100 mg/kg	94,000/88,300	33,100/25,200	5660/5950	3650/3210	
		1000 mg/kg	74,000/162,000	23,000/61,700	2600/13,200	2820/6780	
	Exposure Multiple	Rat	10 mg/kg	—	n.t./0.012	n.t./21.4	n.t./0.007
			30 mg/kg	—	1.38/n.t.	24.4/n.t.	0.038/n.t.
100 mg/kg			—	9.30/3.65	50.4/139	0.286/0.788	
1000 mg/kg			—	16.1/70.3	103/256	1.00/11.9	
Monkey		10 mg/kg	—	13.3/11.7	1.99/3.35	1.36/1.24	
		100 mg/kg	—	192/147	57.8/60.7	14.1/12.4	
		1000 mg/kg	—	134/359	26.5/135	10.9/26.2	

Plasma samples collected after multiple oral administrations of lemborexant for 14 days (humans) and 28 days (rats and monkeys) were used. Each value except for $AUC_{(0-24 h)}$ in humans represents values of males/females. $AUC_{(0-24 h)}$ values in humans are expressed as mean ± SD of six subjects. Exposure multiple was calculated by dividing $AUC_{(0-24 h)}$ in animals by that in humans. —, not applicable; n.t., not tested.

第三節 考察

本章では、ヒトにおけるレンボレキサントの吸収、代謝、排泄を明らかにした。また、検出された代謝物のうち、循環血中で比較的高い暴露量を示した M4、M9 及び M10 について、各種 *in vitro* 評価及びヒト-動物間の血漿中暴露量の比較を行い、薬理活性及び安全性の観点で特性把握を行った。

健康男性成人に単回経口投与した¹⁴C]レンボレキサントは速やかに吸収され、血漿中放射能濃度は投与後 1 時間で最大値を示した。その後、消失半減期 43.6 時間で減少した。生体内の放射能は主に糞中に排泄され、投与後 20 日までに投与した放射能の 86.5%が尿及び糞中に回収された。

LC-MS/MS を用いて血漿中濃度の定量を行った 4 化合物（レンボレキサント、M4、M9 及び M10）の AUC_(0-inf)の合算値は、放射能濃度の AUC_(0-inf)のおおよそ 50%を占めており（Table. 3-1）、残り半分は他の代謝物に起因するものと考えられた。本結果は、代謝物プロファイリングで得られたラジオクロマトグラムの結果と同様であり（Table.3-2）、M4、M9 及び M10 以外の代謝物が血漿中には複数存在し、それぞれの暴露量は高くないものの、それらの合算値が放射能の約 50%を占めることが明らかとなった。また、AUC pooling method にて調製したヒト血漿試料のラジオクロマトグラム上の未変化体や代謝物（M4、M9 及び M10）の存在比は、LC-MS/MS による定量値を基にした放射能と未変化体や代謝物の AUC 比と同等であり、AUC pooling method は、測定対象の血漿中暴露量（AUC）を効率的に把握する上で有益であることが再確認できた。

ヒトへの単回経口投与後、レンボレキサントは尿中では検出されず、糞中では投与放射能の 13.0%を占める主要放射性成分として検出された。第二章で示したように、ラット及びサルにおいて、溶液として投与された¹⁴C]レンボレキサントはほぼ完全に吸収されるとともに、ラット・サル尿及びラット胆汁中への未変化体の排泄は認められておらず、主要な消失経路は代謝である。ヒトおよびラット・サルにおける代謝物プロファイリングにおいて、未変化体の直接的な抱合反応によって生成したグルクロン酸抱合代謝物は認められていない。加えて、レンボレキサントは pH 依存的な溶解度を示し[33]、pH 2.0 から 7.0 における水溶液において低い溶解度 (<0.1 mg/mL) を示す。これらのことから、動物を用いた試験で認められたように、溶液で投与された¹⁴C]レンボレキサントは、高い膜透過性のために速やかに吸収される一方で、ヒトにおいては、固体製剤で投与されたレンボレキサントが低い溶解度のために消化管内で完全に溶解できなかった可能性がある。このため、ヒト糞中に検出されたレンボレキサントは、消化管内で一部溶解しきれなかった未吸収の¹⁴C]レンボレキサントに由来するものと考えられた。従って、ラットやサルと同様に、ヒトにおいても尿または糞中への未変化体の排泄はマイ

ナーであり、生体内からの主な消失経路は代謝であると推察できる。

動物では多様な代謝物が検出され、その中には、反応性が高い代謝中間体を介したと考えられる代謝物も認められたことから、ヒトにおいても代謝物プロファイルを精査した。その結果、ヒトにおいてもレンボレキサントは複数かつ多様な経路を介して代謝されることが明らかとなり、尿及び糞中に検出された代謝物の存在比率から、ヒトにおけるレンボレキサントの主な代謝経路は、**dimethylpyrimidine** 部位における酸化代謝であり、その後、更に酸化代謝又はグルクロン酸抱合代謝を受けることが明らかとなった。

第二章で示したように、ラット及びサルでは、代謝経路の 1 つとして酸化的脱フッ素化が認められ、複数の脱フッ素代謝物が排泄物中に認められたが、ヒト血漿、尿及び糞中にはこれらの脱フッ素代謝物は認められなかった。ヒトで検出された代謝物のうち、**fluoropyridine** 部位におけるフッ素の位置転移が生じた代謝物として M8 が認められている。M8 の構造から脱フッ素代謝反応の可能性が疑われたが、ラット及びサルで認められた全ての脱フッ素代謝物は、**fluorophenyl** 部位における酸化的脱フッ素反応によって生じており、また、ラット・サルでは同一代謝部位でグルタチオン抱合代謝物が認められた一方、ヒトにおいては検出されなかった。これらのことから、M8 への代謝経路は、反応性は低く、また酸化的脱フッ素反応とは異なる機構によるものと考えられた。

ラット及びサルと同様に、ヒトにおいてもマイナーな代謝経路としてアミド加水分解が認められた。レンボレキサントがアミド加水分解によって代謝される際、M11 の生成と共に、生体内で活性化し発がん性を示すことが知られている芳香族アミン (**fluoroaminopyridine**) が生じる[34]。しかしながら、ラット及びマウスにおけるがん原性評価において、レンボレキサント及び代謝物による発がん性は認められていないことから[35]、代謝によって生じる芳香族アミンに毒性的な懸念は無いと判断した。第二章で示した動物における代謝物プロファイルと比較すると、ヒトで認められた血漿中代謝物のうち、M15 を除く全ての代謝物はラット及びサルにおいても認められている。また、別途レンボレキサントを反復投与後に得たラット及びサル血漿には M15 が認められていたことから[36]、ヒト特異的な代謝物は無いと結論付けた。以上のように、酸化的脱フッ素反応やグルタチオン抱合反応はヒトにおいて認められなかったが、概して、ヒトにおけるレンボレキサントの代謝経路は、動物における代謝経路と類似していた。

薬物関連総暴露量の 10%以上を示す主要な代謝物として M10 (12.5%)が検出されたが、M4, M9 及び M18 (M3 のグルクロン酸抱合体)も比較的高い血漿中暴露量を示した (6.0%~6.6%)。グルクロン酸抱合代謝物である M18 を除いた M4, M9 及び M10 について、代謝物特性を明らかにするため更なる検討を行った。*In vitro* 評価系により、これら 3 つの代謝物は、レンボレキサントと同程度のオレキシン受容体への結合親和性を示す

と共に、高い膜透過性を示すことが確認され、これら代謝物が BBB を透過して中枢に移行し薬効へ寄与する可能性が危惧された。従って、薬効面への寄与を精査すべく更なる追加評価を実施したところ、ヒトにおけるレンボレキサント及びその代謝物の血漿中蛋白結合率はおよそ 70%~90%を示すと共に、レンボレキサントは P-gp によってほとんど輸送されない一方、これら代謝物は P-gp の良好な基質であることが明らかとなった。

これらの知見をもとに、レンボレキサント、M4、M9 及び M10 の血漿中非結合型暴露量及びオレキシン受容体への結合親和性をもとに、ヒトにおける睡眠誘発効果への寄与を見積った。なお、レンボレキサント及び代謝物は、OX1R よりも OX2R に対して強い活性を示すことから、OX2R に対する結合親和性をもとに算出した。以下の Table. 3-8 に示すように、 C_{max} 及び AUC ベースでの寄与率は、レンボレキサントで 70.2%及び 51.7%と算出され、代謝物のうち、M4 が最も高い寄与率 (C_{max} : 18.5%, AUC: 23.5%)を示すことを確認した。この寄与率は血漿中濃度ベースであり、これら代謝物が P-gp の基質であることを考慮すると、代謝物の脳移行性は未変化体よりも低いことが想定され、脳内濃度をベースにした寄与率は更に低下すると考えられる。以上のことから、レンボレキサントがヒトにおける薬理作用に主に寄与し、代謝物の寄与は低いと推察された。

Table. 3-8 Contribution of lemborexant and its metabolites to efficacy based on plasma levels and *in vitro* binding affinity on OX2R

Parameters	Unit	Lemborexant	M4	M9	M10
MW	—	410.42	426.42	426.42	426.42
OX2R IC ₅₀	(nmol/L)	2.6	3.8	4.7	2.9
$f_{u,p}^a$	—	0.113	0.257	0.143	0.085
C_{max}^b	(ng/mL)	29.5	5.18	3.87	3.32
$C_{max,u}$	(nmol/L)	8.1	3.1	1.3	0.7
$C_{max,u}/IC_{50}$	—	3.12	0.82	0.28	0.23
C_{max} -based Contribution Ratio	(% of parent) (% of total)	100 70.2	26.3 18.5	8.8 6.2	7.3 5.1
AUC _(0-inf) ^b	(ng·h/mL)	317	96.2	65.6	167
AUC _{(0-inf),u}	(nmol·h/L)	87.3	58.0	22.0	33.3
AUC _{(0-inf),u}/IC₅₀}	—	33.6	15.3	4.7	11.5
AUC-based Contribution Ratio	(% of parent) (% of total)	100 51.7	45.5 23.5	13.9 7.2	34.2 17.7

a: measured values at 100 ng/mL (Table. 3-7) were used.

b: PK data after a single oral administration of [¹⁴C]lemborexant at 10 mg (Table. 3-1) was used. AUC_{(0-inf),u} = unbound AUC from time zero to infinity, $C_{max,u}$ = unbound C_{max} , $f_{u,p}$ = unbound fraction in plasma, MW = molecular weight.

長期非臨床毒性試験において、無毒性量（NOAEL）はラットで 30(雌性)及び 100 mg/kg(雄性)、サルで 10 mg/kg(雌雄とも)である[35]。本評価の結果、M10 のみが血漿中の薬物関連総暴露量の 10%以上を示す主要な血漿中代謝物であった。そのため、FDA の MIST ガイダンス及び ICH M3(R2)ガイダンスに従い[2], [3], ヒト及び非臨床毒性試験で用いた動物種での定常状態における M10 の血漿中暴露量を比較し、レンボレキサントを用いた長期非臨床毒性試験において M10 への十分な暴露が達成されているか確認を行った。ラットにおいて、M10 への代謝は限定的であり、血漿中暴露量は低かったが、最大評価投与量(1000 mg/kg)において、ヒト 10 mg での M10 の暴露量を上回っていた。一方サルでは、最低評価投与量かつ NOAEL である 10 mg/kg からヒトの暴露量を超える M10 の暴露が認められた。M4 及び M9 についても同様にサル 10 mg/kg においてヒトを上回る暴露量を示した。これらの結果から、少なくとも 1 種の毒性評価動物種において、ヒトにおける暴露量を超える暴露量を示しており、これら代謝物がレンボレキサントを用いた非臨床毒性試験において適正に評価されることが確認できた。

第四節 結論

本章では、ヒトにおけるレンボレキサントの体内動態及び代謝プロファイルについて精査を行った。レンボレキサントは経口投与後速やかに吸収され、酸化代謝を主な一次代謝経路とする多様な経路によって生体内で代謝された後、様々な代謝物として主に糞中へ排泄されることを明らかにした。代謝物プロファイルの結果、M4、M9 及び M10 が比較的高い血漿中暴露量を示す代謝物として同定され、これらはレンボレキサントと同程度のオレキシン受容体への結合親和性を示すことを明らかにした。しかしながら、未変化体に比べ血漿中暴露量が低いこと、および脳移行性を制限する P-gp の良好な基質となっていることから未変化体よりも低い脳移行性が想定されることから、薬理作用への寄与は限定的であり、レンボレキサントが主に薬効に寄与すると考えられた。また、ガイダンスによって定義される主要代謝物は M10 のみであることを明らかにするとともに、ヒト-動物間における血漿中暴露量の比較結果から、非臨床毒性試験において代謝物の安全性が適正に評価されていることを裏付けた。

第四章 生理学的薬物速度論モデルを用いた CYP3A 阻害剤併用時におけるレンボレキサントの薬物動態に及ぼす影響予測と用量設定への活用

第一節 緒言

不眠症は他の内科的疾患や精神疾患と併発しやすいことが知られており、不眠症患者のうち約 40%がうつ状態などの精神疾患症状を示す[37],[38],[39]。また、罹患率や症状の重さは年齢と共に悪化し、~93%の患者が心臓病や脳卒中、糖尿病といった他の疾患を持っている[40],[41]。他の疾患を併発している不眠症患者は多く、医療現場において複数の薬剤を用いた治療手段が選択されることが少なくない。睡眠への不満と処方箋無しで得られる一般医薬品の使用増加との関連も指摘されており[42]、不眠症患者では潜在的に DDI リスクが高いと考えられている。

レンボレキサントの DDI リスクを精査するため、これまでにいくつかの臨床薬理試験が実施されている。第三章で示したヒトマスバランス試験や *in vitro* 代謝評価によって、レンボレキサントは主に CYP3A を介した肝代謝によって生体内から消失することが示されており、臨床 DDI 試験では、CYP3A 阻害剤又は誘導剤によるレンボレキサントの PK への影響が評価されている[43]。その試験では、強力な CYP3A 阻害剤である itraconazole との併用によってレンボレキサントの C_{max} が 1.3 倍、AUC が 3.7 倍上昇することが、中程度の阻害剤である fluconazole においても同程度の影響 (1.6 倍の C_{max} 上昇, 3.8 倍の AUC 上昇) が認められている。一方、強力な CYP3A 誘導剤である rifampicin との併用では、レンボレキサントの暴露量を大きく減少させることが明らかとなっており (C_{max} で 92%, AUC で 97%の減少)、これらの所見は、レンボレキサントが主に CYP3A によって代謝されることを裏付けている。

PBPK モデルによる DDI 予測は、臨床試験の代替となり得る有用なツールとして規制当局に認知されており、これまでも複数の薬剤について PBPK モデルによる DDI 予測が実施され、添付文書への注意喚起に用いられている[4],[11],[44],[45],[46],[47]。不眠症患者において複数の薬剤が併用されることを考慮すると、実際の医療現場においてレンボレキサントが安全かつ適正に使用されるためには、主な代謝酵素である CYP3A の代謝活性を変動させる薬剤との DDI 作用について精査し、患者並びに医療従事者へ情報提供することは極めて重要である。そこで本章では、PBPK シミュレーションソフトウェア Simcyp Simulator を用いてレンボレキサントの PBPK モデルを構築・検証すると共に、臨床試験では未検証の CYP3A 阻害剤との DDI 作用予測に適用し、併用時におけるレンボレキサントの推奨投与量を精査することを目的とした。

第二節 結果

4-2-1. PBPK モデルの構築

レンボレキサントのPBPKモデルは、Simcyp Simulator (V17r1; Certara)を用い、第三章で示した *in vitro* 評価及びヒトマスバランス試験から得られた情報、独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (PMDA) 掲載データ及び学術論文に基づき、物理化学的情報、吸収、分布、代謝、排泄に関するデータ、速放性製剤 (IR tablet) の *in vitro* 溶出プロファイルデータをもとに構築した。Figure. 4-1 にヒトにおける単回経口投与後のレンボレキサントのマスバランス (物質収支) の模式図を、Table. 4-1 にPBPKモデル構築に使用したパラメータ及び用いたモデルを示す。

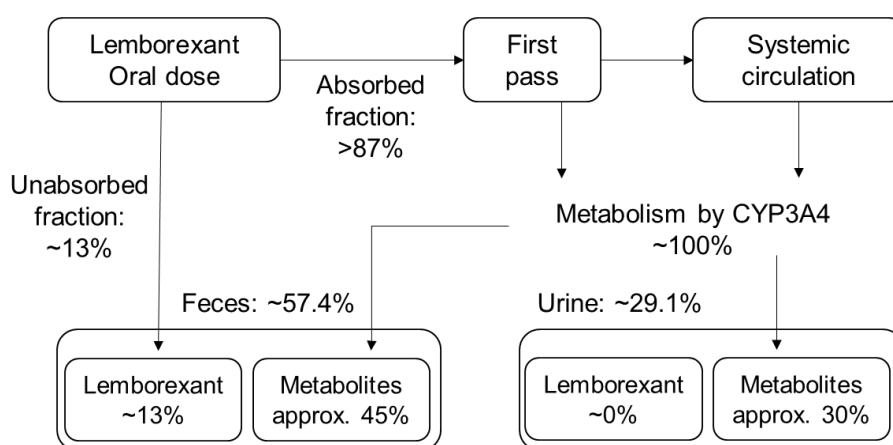


Figure. 4-1 Proposed mass balance diagram of lemborexant after an oral administration to humans.

レンボレキサントの物理化学的情報であるオクタノール-水分配係数 ($\log P$) は実測値を、酸解離定数 (pK_a) は実験で得られた測定下限値 (3.5) を用いた。また、吸収過程の記述には、ADAM モデルを使用した。臨床試験において、開発初期ではカプセル製剤を用いており、後に IR tablet に変更されている。PBPK モデルによる予測において、カプセル製剤を用いた試験との比較には溶液製剤として、IR tablet を用いた試験との比較では同一製剤の *in vitro* 溶出プロファイルをモデルに組み込んで IR tablet として、モデルに入力した [33]。消化管における膜透過性パラメータ (P_{eff}) は、 $\log P$ をもとに、Simcyp に搭載の Mechanistic P_{eff} モデルで算出された値を用いた。分布の記述には、full PBPK モデルを使用した。Simcyp の full perfusion-limited distribution method による推定分布容積 (V_{ss}) が適当でなかったため、parameter estimation 機能を用いて、第三章に記載したヒトマスバランス試験における血漿中濃度推移をもとに K_p scalar を最適化した。第三章で示したように、レンボレキサントのヒトにおける主な消失経路は代謝であり、尿中排泄はほ

とんど認められていない。また、ヒト肝ミクロソーム及び凍結肝細胞を用いた *in vitro* 代謝評価において、レンボレキサントの代謝クリアランスには主に CYP3A4 が関与することが確認されている。従って、PBPK モデルでは、CYP3A4 による代謝クリアランスをレンボレキサントの消失経路とし、腎クリアランスは寄与しない設定とした。CYP3A4 における消失は、recombinant enzyme kinetics system における CYP3A4 の固有クリアランス(CL_{int})として設定し、Simcyp の retrograde calculator を用いて、ヒトマスバランス試験における経口クリアランス(CL/F 32.8 L/h; Table.3-1)及び糞中の $[^{14}C]$ レンボレキサントの割合(投与放射エネルギーに対して 13.0%)から算出した吸収率(f_a 0.87; Table.3-3)をもとに算出した。Retrograde calculator による計算では、便宜上、消化管アベイラビリティ(f_g)は 1 を入力して、 CL_{int} の算出を行った。

レンボレキサントは、CYP3A4 で主に代謝され生体内から消失する一方、CYP3A に対する弱い阻害作用並びに、CYP3A4 及び CYP2B6 に対する弱い誘導作用が *in vitro* 評価にて確認されている。レンボレキサントの CYP3A 及び CYP2B6 の代謝活性に対する影響を精査するために、CYP3A の典型基質である midazolam 及び CYP2B6 の基質である S-bupropion との臨床 DDI 試験を実施した際、レンボレキサントは midazolam の血漿中暴露量に影響を与えず、S-bupropion の暴露量を 45.5%低下させた[43]。このことから、レンボレキサントは臨床投与量 10 mg において CYP2B6 に対する弱い誘導作用を示すものの CYP3A については阻害作用も誘導作用も示さないと考えられた。従って、CYP3A 阻害剤及び誘導剤との併用時における DDI 評価を主な目的とした本解析においては、レンボレキサントの阻害及び誘導に関するパラメータを PBPK モデルに組み込まないこととした。以下に、本解析で用いたレンボレキサントの PBPK モデル概念図を示す。

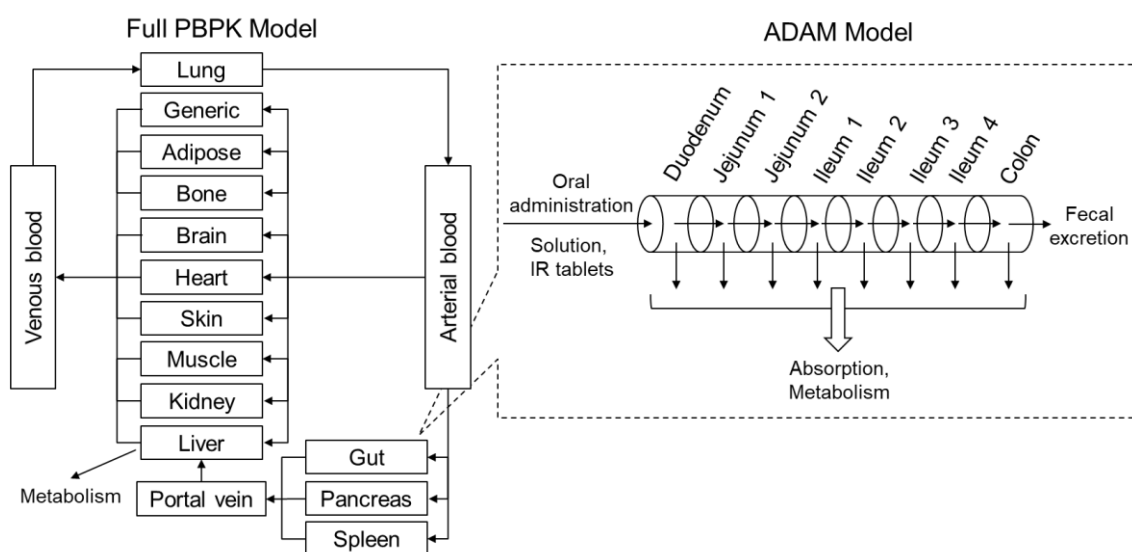


Figure. 4-2 Schematic diagram of PBPK model for lemborexant.

Table. 4-1 Input parameters used for PBPK model development of lemborexant

Parameter	Value / Option	Source / Notes
Molecular weight	410.42 g/mol	Calculated based on Standard Atomic Weights 2010.
LogP	3.7	[36]
Compound type	Monoprotic base	—
pK _a	3.5	[36]
B:P	0.636	[36]
f _{u,p}	0.113	Table. 3-7
Binding protein	Albumin	[36]
Absorption model	ADAM	—
P _{eff}	8.799 10 ⁻⁴ cm/s	Predicted by Mechanistic P _{eff} model
Formulation	Solution or IR tablet	—
Dissolution	Dissolution profiles at pH 1.2 and 6.8 for stomach and small intestine, respectively	[33]
V _{ss}	12.914 L/kg	Predicted by the full PBPK, method 2
K _p scalar	0.51	Optimized; See section 4-2-1.
CL _{int} for CYP3A4	Recombinant enzyme kinetics, 0.4684 μL/min/pmol protein	Optimized; See section 4-2-1.
CL _{ren}	0 L/h	Table. 3-3
Metabolic interactions	None	See section 4-2-1.

ADAM = Advanced Dissolution, Absorption, and Metabolism, B:P = blood to plasma partition ratio, CL_{int} = intrinsic clearance, CL_{ren} = renal clearance, f_{u,p} = unbound fraction in plasma, IR = immediate release, K_p = tissue to plasma partition coefficient, LogP = logarithm of the octanol:water partition coefficient, P_{eff} = effective membrane permeability, pK_a = logarithm of the acid dissociation constant, V_{ss} = volume of distribution at steady state.

4-2-2. PBPK モデルの検証：血漿中濃度推移の予測

構築したレンボレキサントの PBPK モデルの妥当性を検証するため、臨床試験における血漿中濃度推移（実測値）とモデルによるシミュレーション結果（予測値）を比較した。まず、レンボレキサント単独投与時の血漿中濃度推移について、構築したモデルの評価及び検証を行った。レンボレキサントを単回（2.5, 10 及び 100 mg）及び反復（10 mg, 1 日 1 回, 14 日間）経口投与した際の血漿中濃度推移及び PK パラメータのシミュレーション結果と実測値を Figure. 4-3, Table. 4-2 にそれぞれ示す。

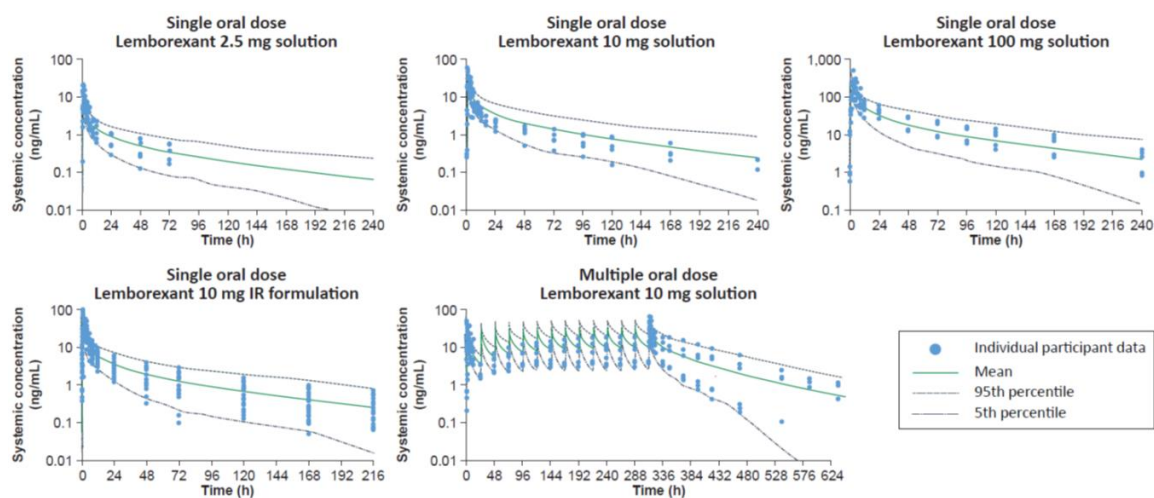


Figure. 4-3 Predicted and observed plasma concentration-time profiles of lemborexant in healthy volunteers under fasted conditions.

絶食条件下における単回及び反復投与のシミュレーションにおいて、概ね予測した血漿中濃度推移は実測値と一致していた。2.5 mg 及び 10 mg (IR tablet)単回投与時において、予測された C_{max} は実測値よりも低く、実測値の大よそ 50%であった。他の投与量及び条件においては、 C_{max} の予測値は大よそ実測値と同程度であった。AUC については、評価した全ての投与量及び条件で、実測値とほぼ同程度の予測値が得られた。

Table. 4-2 Observed and predicted PK parameters of lemborexant after single and multiple oral administration to healthy subjects

Dose (mg)	Conditions	Observed			Predicted			Fold difference	
		C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)	C_{max}	$AUC_{(0-t)}$
2.5	single, capsule	14.9	1.01	74.4	6.79	1.06	66.4	0.46	0.89
10	single, capsule	32.0	1.00	274	27.1	1.06	354	0.85	1.29
100	single, capsule	242	3.00	4,300	261	1.08	3,270	1.08	0.76
10	single, IR	54.3	1.00	411	25.3	1.06	327	0.47	0.80
10	multiple, Day1	28.0	3.25	182	24.2	1.11	168	0.86	0.92
10	multiple, Day14	44.8	1.75	321	32.9	1.10	327	0.73	1.02

食事の影響を評価した試験において、AUC の予測値は実測値と同程度を示す一方で、 C_{max} は実測値よりも低い値を示したが、臨床試験結果と同様に、食事によって t_{max} が遅

延すると共に、 C_{max} がわずかに減少し、AUC は大きく変動しない、という傾向がシミュレーションにおいても認められた。また、絶食条件下に対する飽食条件下の C_{max} または AUC 比の予測値は実測値を反映していた。これらの結果から、構築したモデルは、レンボレキサントの血漿中濃度推移を予測するにあたって、信頼性のあるモデルと判断した。

Table. 4-3 Observed and predicted PK parameters of lemborexant after single oral administration to healthy subjects under fed and fasted conditions

Dose (mg)	Conditions	Observed			Predicted			Fold difference	
		C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	AUC _(0-t) (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	AUC _(0-t) (ng·h/mL)	C_{max}	AUC _(0-t)
10	single, fed	44.1	3.00	460	15.1	1.86	327	0.34	0.71
10	single, fasted	57.1	1.00	389	25.5	1.08	331	0.45	0.85
Ratio (fed/fasted)		0.77	—	1.18	0.59	—	0.99	0.77	0.84

4-2-3. PBPK モデルの検証：DDI の予測

構築したモデルによる DDI の予測性を検証するため、CYP3A の阻害剤 (itraconazole [200 mg q.d.] 及び fluconazole [200 mg q.d., ただし初回投与時は 400 mg]) 又は誘導剤 (rifampicin [600 mg q.d.]) と併用した際のレンボレキサント 10 mg 単回投与時の血漿中濃度推移及び PK パラメータについてシミュレーションを行った。得られた血漿中濃度推移を Figure. 4-4 に、レンボレキサント単回投与時に対する CYP3A 阻害剤・誘導剤を併用した時の C_{max} 及び AUC の比 ($C_{max}R$ 及び AU CR) を Table. 4-4 に示す。

強力な CYP3A 阻害剤である itraconazole との併用時において、 $C_{max}R$ 及び AU CR の予測値は 1.45 及び 3.13 を示し、実測値 ($C_{max}R$: 1.36, AU CR: 3.58) と同程度であった。中程度の CYP3A 阻害剤である fluconazole との併用時では、 $C_{max}R$ 及び AU CR の予測値は 1.37 及び 2.83 であり、実測値 ($C_{max}R$: 1.62, AU CR: 3.76) よりも低い値を示す傾向があったが、Guest らの方法[48]に従って実測値のバラつきを考慮して算出した AU CR の許容予測範囲内であった。

一方、強力な CYP3A 誘導剤である rifampicin との併用時では、 $C_{max}R$ 及び AU CR の予測値は 0.38 及び 0.19 であり、レンボレキサントの血漿中濃度に対する rifampicin の強い誘導作用は認められたものの、実測値 ($C_{max}R$: 0.085, AU CR: 0.033) よりも高い値だった。また、予測値は AU CR の許容予測範囲外であった。

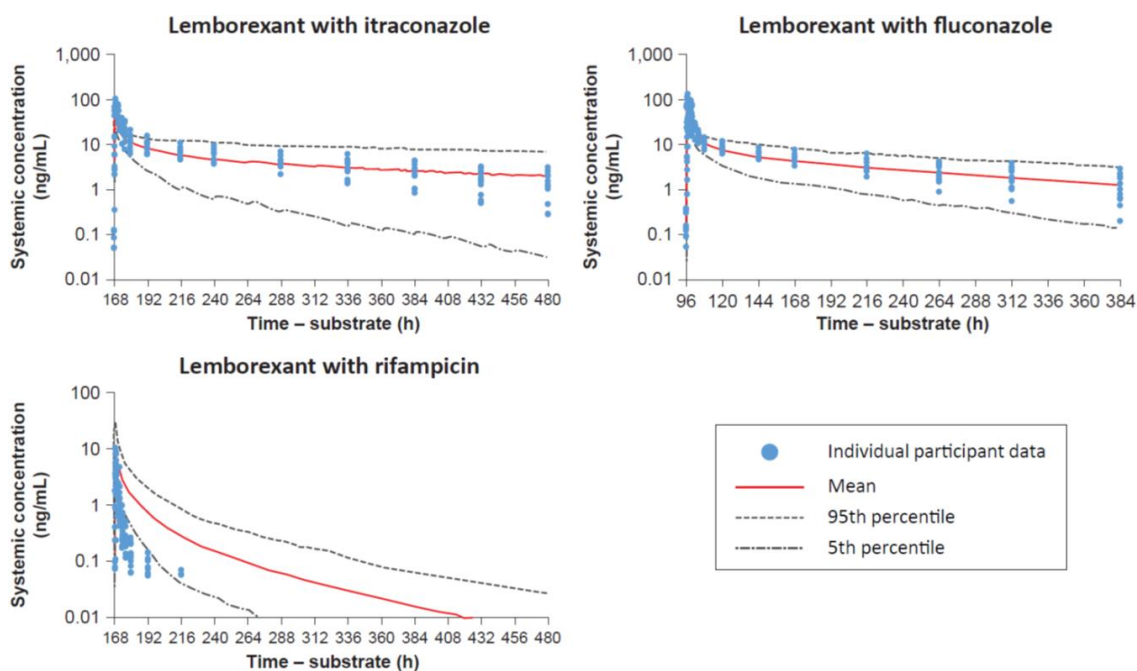


Figure. 4-4 Predicted and observed plasma concentration-time profiles of lemborexant in healthy volunteers after co-administration with CYP3A inducer and inhibitors.

これらの結果から、構築したモデルは、CYP3A 誘導剤 (rifampicin) によるレンボレキサントへの影響を過小評価するものの、CYP3A 阻害剤 (itraconazole 及び fluconazole) による影響を精度高く予測ことが示され、CYP3A 阻害剤とレンボレキサントの DDI を予測するにあたって、信頼性のあるモデルと判断した。

Table. 4-4 Observed and predicted $C_{\max R}$ and AUCR for DDI simulations of lemborexant with itraconazole, fluconazole, and rifampicin

Concomitant drug	Dose	Observed		Predicted		Acceptable range of AUCR
		$C_{\max R}$	AUCR	$C_{\max R}$	AUCR	
Itraconazole	200 mg q.d.	1.36	3.58 (32.6%)	1.45	3.13	1.98-6.49
Fluconazole	200 mg q.d.	1.62	3.76 (15.3%)	1.37	2.83	2.12-6.67
Rifampicin	600 mg q.d.	0.085	0.033 (49.1%)	0.38	0.19	0.017-0.065

Values in parentheses represent percent coefficient of variation around the geometric mean of the observed AUCR in clinical studies.

4-2-4. 中程度及び弱い CYP3A 阻害剤併用時における DDI シミュレーション

臨床試験では未検証である他の CYP3A 阻害剤とレンボレキサントの DDI について、構築した PBPK モデルを用いてシミュレーションを行った。併用薬として、中程度の阻害剤である erythromycin (500 mg q6h)及び verapamil (80 mg t.i.d.), 弱い阻害剤である fluoxetine (40 mg q.d.)及び ranitidine (150 mg b.i.d.)を用いた。構築したモデルによる予測結果を Table. 4-5 に示す。

評価した併用薬のうち、erythromycin との併用時において、最も大きい阻害作用が認められ、C_{max}R 及び AUCR の予測値はそれぞれ 1.46 及び 4.33 と算出された。次いで、verapamil との併用時で大きく、C_{max}R は 1.43, AUCR は 3.87 と予測され、これら阻害剤による DDI の影響は、FDA DDI guidance[11]による分類から“Moderate”に分類された。Fluoxetine 及び ranitidine との併用による DDI の影響は小さく、C_{max}R は 1.11~1.21, AUCR は 1.54~1.77 と予測された。同様に、これらの結果は、FDA DDI guidance から“Weak”と分類された。

Table. 4-5 Predicted C_{max}R and AUCR for DDI simulations of lemborexant with weak and moderate CYP3A inhibitors

Concomitant drug	Dose	C _{max} R	AUCR	Predicted DDI impact ^a
Erythromycin	500 mg q6h	1.46 (1.42-1.50)	4.33 (4.03-4.66)	Moderate
Verapamil	80 mg t.i.d.	1.43 (1.40-1.46)	3.87 (3.59-4.17)	Moderate
Fluoxetine	40 mg q.d.	1.21 (1.19-1.23)	1.77 (1.69-1.84)	Weak
Ranitidine	150 mg b.i.d.	1.11 (1.10-1.12)	1.54 (1.49-1.60)	Weak

Values represent geometric mean and 90% confidence interval.

a: DDI impact classification made in accordance with FDA DDI guidance.

第三節 考察

本章では、レンボレキサントの血漿中濃度推移及び PK パラメータ、CYP3A 阻害剤併用時におけるレンボレキサントの PK 変動を予測可能とする PBPK モデルを構築し、臨床試験では検証されていない阻害強度の異なる複数の CYP3A 阻害剤との DDI 予測シミュレーションを行った。

レンボレキサントの物理化学的情報、*in vitro* 情報、ヒトマスバランス試験の実測データをもとに構築した PBPK モデルは、レンボレキサントの血漿中濃度推移及び PK パラメータについて、複数の臨床試験で認められた実測データをよく反映した予測結果を

示した。また、構築したモデルは、CYP3A 阻害剤である itraconazole 及び fluconazole との併用時における DDI を精度高く予測し、単独投与時における PK プロファイル及び CYP3A 阻害に起因する DDI の予測を可能とするレンボレキサントの PBPK モデルを初めて構築することができた。

一方、構築した PBPK モデルは、実測値と同様に、rifampicin による強い CYP3A 誘導作用を予測したが、レンボレキサントの PK に対する DDI の影響は、実測値を過小評価していた。Rifampicin との DDI を評価した臨床試験において、rifampicin の血漿中濃度の実測値は得られておらず、本モデル解析における rifampicin の濃度予測値と比較することができなかった。そのため、構築したモデルが rifampicin による誘導作用を過小評価する要因として、本モデル解析における rifampicin の血漿中濃度及び定常状態における濃度の蓄積の予測値が、実測値に比べて過小評価している可能性が考えられた。これまで、Simcyp を用いた CYP3A 典型基質である midazolam と rifampicin の DDI について過小評価する事例がいくつか報告されている[49]。また、今回構築したレンボレキサントのモデルは、CYP 阻害剤による DDI が精度高く予測できることを考えると、rifampicin による誘導作用の過小評価は、Simcyp に搭載されている rifampicin の化合物モデルに起因すると考えられた。レンボレキサントと rifampicin の DDI 作用を評価した際の臨床試験における被験者数は 15 例であり[43]、例数として必ずしも多くないことから、個体間又は施設間のバラつきによる影響を受けている可能性も考えられる。本結果も含め、様々な実測データを取得し公表することで、rifampicin モデルの更なる改良・改善に繋がると考えられる。いずれにしても、構築したモデルは、rifampicin によって強い誘導作用を受けることを示しており、レンボレキサントと強い CYP3A 誘導剤の併用は避けるべきであるという実際の臨床結果に基づく注意喚起を補強する知見となった。

臨床 DDI 試験において、強力又は中程度の CYP3A 阻害剤(itraconazole 及び fluconazole)と併用した際、レンボレキサントの AUC は 3.76 及び 3.58 倍上昇し、PBPK モデルによるシミュレーションにおいても同等の予測結果が得られた[43]。興味深いことに、中程度の阻害剤である fluconazole と強力な阻害剤である itraconazole では、同程度の DDI 作用が認められた。中程度の CYP 阻害剤による DDI リスクをより精査するために、他の中程度の阻害剤 (erythromycin 及び verapamil) との併用効果についてシミュレーションを実施した結果、これらの阻害剤による DDI 作用は、fluconazole による作用と同程度であった。これらの結果から、中程度の阻害剤においても 4 倍程度の暴露量上昇が認められると結論付けた。一方、弱い CYP3A 阻害剤との併用時における DDI 作用を評価した臨床試験は実施されなかったため、2 種の弱い阻害剤 (fluoxetine 及び ranitidine) による DDI 作用をシミュレーションによって解析した。いずれの阻害剤も、レンボレキサント 10 mg 投与時の AUC を最大 1.77 倍上昇させたが、その程度は弱い

ことを明らかにした。

レンボレキサントと異なる阻害強度を持つ CYP3A 阻害剤との DDI 作用を臨床試験及び PBPK モデルによるシミュレーションによって評価した結果、阻害強度に応じたレンボレキサントの暴露量の上昇が認められた。そこで、本解析によって明らかとなった DDI 作用が、レンボレキサントの有効性及び安全性に与える影響を精査した。これまで、レンボレキサントの暴露量と有効性及び安全性との関係性は、Phase 2 及び Phase 3 試験、翌朝の眠気を評価した臨床安全性試験で評価されている[27], [28], [29], [50], [51]。これら試験では、レンボレキサント 5 mg 以上の投与量において、臨床的に意義のある睡眠誘発効果を示すと共に、10 mg を超える投与量では、眠気による副作用リスクが高まることが明らかになっている[27], [52]。また、レンボレキサント投与後の有害事象として、眠気が最も頻度高く認められるが、5~10 mg の投与量範囲においては、眠気の発生頻度は暴露量に依存しないことが確認されている[53]。従って、DDI によって、レンボレキサント 10 mg 単独投与時の暴露量を超えるような条件下では、有効性は期待できるものの安全性面での懸念が高いと考えられた。

臨床 DDI 試験の結果に加え、シミュレーションにおいて、強力又は中程度の CYP3A 阻害剤との併用によって、最大 4.33 倍のレンボレキサントの AUC 上昇が認められたことから、これら阻害剤の併用時にレンボレキサントの投与量を 5 mg としても、レンボレキサント 10 mg 単独投与の暴露量を容易に超過すると推察される。一方、併用時にレンボレキサントの投与量を 2.5 mg へ減量することで、その際の暴露量は 10 mg 単独投与時と同程度となることから、強力又は中程度の阻害剤との併用時は、2.5 mg を超えない投与量が推奨投与量であると考えられた。また、2.5 mg 錠の承認が得られていない国（米国など）では、これら阻害剤との併用を避けるべきであると結論付けた。弱い阻害剤との併用時においては、2 倍以下の暴露量上昇であったことから、5 mg を超えない投与量が推奨投与量であると考えられた。

第四節 結論

本章では、レンボレキサントの単独投与における PK プロファイル及び CYP3A 阻害剤との DDI を精度高く予測する PBPK モデルを構築した。臨床試験で未検証の CYP3A 阻害剤との DDI 予測に本モデルを活用し、得られた予測結果とレンボレキサントの薬効及び安全性に基づいた情報から、CYP3A 阻害剤を併用する患者への推奨投与量の提示を可能とした。本モデルは、医療現場において、DDI における体内動態変化を考慮した適正使用に貢献するツールとなると考えられた。

第五章 総括

有効かつ安全な医薬品の開発及び医療現場における適正使用には、開発段階における薬物の体内動態特性の詳細な把握が極めて重要である。生体内に投与された薬物は、吸収、分布、代謝、排泄を経て生体内から消失する。その過程で生じる代謝物も、生体にとっては外的因子であり、時に、薬効や毒性、DDIを引き起こすことから、医薬品開発の成功確度向上のためには、投与薬剤そのもののみならず、生体で生じる主要な代謝物についても体内動態挙動を把握し、有効性・安全性の面で精査することが望まれる。一方、医薬品開発過程で得られる情報には限りがあるため、M&S手法を積極的に活用することで、効率的な臨床試験の実施と医薬品開発の加速に繋げると共に、実際の医療現場で直面しうる課題を事前に精査・解決することが、医薬品の適正使用及び価値最大化に繋がると期待される。

本研究では、不眠症治療薬であるレンボレキサントを研究対象とし、レンボレキサントの体内動態特性の解明、ヒト主要血漿中代謝物の睡眠誘発効果への寄与及び非臨床安全性評価の妥当性確認を行うと共に、PBPKモデルを構築してCYP3A阻害剤とのDDIリスク評価並びに併用薬を使用する患者へのレンボレキサントの推奨投与量の提示を行った。

第二章では、¹⁴C標識されたレンボレキサントを用いて、ラット及びサルにおける吸収、分布、代謝、排泄を評価した。レンボレキサントは、速やかに消化管から吸収され、多くの組織へ広く分布し、多様な代謝経路を介して、非常に多くの代謝物に変換された後、胆汁排泄を介して主に糞中へ排泄されることが明らかとなった。ラット及びサルにおいて、レンボレキサントの主な消失経路は代謝であり、量的な違いは認められるものの、概して、代謝経路の質的な種差は認められないことを示した。

第三章では、ヒトにおけるレンボレキサントの体内動態を精査し、ラット及びサルと同様に、速やかな吸収、酸化代謝を主な一次代謝経路とした多様な代謝経路及び糞中への排泄で特徴付けられる薬物動態特性を示すことを明らかにした。ヒト血漿中では、比較的高い暴露量、高い膜透過性、未変化体と同程度の*in vitro*薬理活性を示す3種の一酸化代謝物を同定した。代謝物の主薬効への関与を精査するため更なる検討を実施し、これら代謝物が脳移行性制御に関わるP-gpの基質であることを見出した。また、血漿中非結合型濃度及びOX2Rに対する結合親和性をもとにした寄与率の見積から、レンボレキサントが薬理作用に主に寄与し、代謝物の主薬効への関与は小さいことを明らかにした。更には、ヒト-動物間における血漿中暴露量の比較により、ヒト薬効投与量におけるM10の血漿中暴露量は、非臨床毒性試験における動物でのM10の暴露量よりも低いことを明らかにし、非臨床毒性試験において代謝物の安全性が適正に評価されている

ことを裏付けた。

第四章では、レンボレキサントの物理化学的情報、*in vitro* 情報、臨床試験における実測データをもとに、実際の臨床試験で認められたレンボレキサント単独投与時の血漿中濃度推移及び CYP3A 阻害剤である itraconazole, fluconazole との DDI 作用を精度高く再現する PBPK モデルを初めて構築した。更に、本モデルを用いて、臨床試験では未検証の阻害強度の異なる CYP3A 阻害剤との DDI 作用を予測し、中程度の阻害剤ではレンボレキサントの AUC を 4 倍程度、弱い阻害剤では AUC を 2 倍程度上昇させることを明らかにした。本 DDI 予測結果と、血漿中暴露量に対する睡眠誘発効果及び安全性の相関解析から、通常 1 日 1 回 5~10 mg を推奨投与量とするレンボレキサントの用量について、強力または中程度の CYP3A 阻害剤との併用時では 2.5 mg が、弱い阻害剤との併用時では 5 mg を超えない投与量が推奨投与量となることを示した。

本研究では、未変化体及び代謝物による薬効への寄与率を、血漿中濃度の C_{max} 及び AUC をもとに算出した。レンボレキサントのように中枢が作用部位である場合、より定量的な寄与率の算出には、脳移行性を詳細に考慮することが望ましい。また、AUC が薬効と相関するレンボレキサントとは異なり、各時点の薬物濃度とその時間推移が薬効の変化に直接反映されるケースもある。そのような場合では、脳内濃度の時間推移を考慮することが必要となる。薬物の脳内濃度の代替として CSF 中濃度が頻用されるが、被験者の負担軽減の為、臨床試験における CSF の頻回採取は必ずしも容易ではなく、得られたとしても、限られた時点のみのデータとなることが多い。今後、本研究で構築したような PBPK モデルを更に発展させ、限られた時点の CSF 中濃度から、血漿中濃度に対する CSF 中濃度比(CSF to plasma concentration ratio)といった脳移行性パラメータを得ると共に、*in vitro* 評価で得られた膜透過性パラメータや P-gp による排出クリアランスを PBPK モデルに組み込むことで、CSF 中または脳内濃度の時間推移を精度高く予測することが可能になると期待される。これにより、作用部位における各化合物の薬効への寄与率とその時間推移を詳細に予測することが可能となり、更には、未変化体及び代謝物の薬効又は毒性と濃度の関係性の解明に大きく貢献すると考えられる。

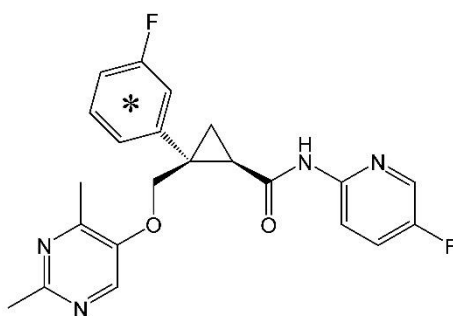
また、本研究は、PBPK モデルを用いることで DDI が予期される条件下での用量調節を提示した事例であり、このような PBPK モデルの活用による情報提供は、本来使用が望ましいにも関わらず、医療機会を損失していた患者への医薬品アクセス向上に寄与することが期待される。本手法の活用を更に広げていくためには、DDI や病態変化、個体間変動などの内的・外的要因による薬物動態変化をより一層精度高く予測していくことが必要となる。上記のような薬効又は毒性と濃度の関係性を精査する取り組みと合わせることで、医薬品のより一層安全かつ有効な使用に寄与することが期待される。

以上のようにレンボレキサントを対象に実施した本研究の成果は、中枢作用薬の開発段階から代謝物の寄与に着目し、代謝物プロファイルの網羅的な解析と代謝物に起因する有効性変動及び安全性リスクを適切に精査・対処するための新たな薬物動態評価スキームを示すと共に、現在広く使われている添付文書による『併用禁忌』、『併用注意』といった DDI リスクの注意喚起に加えて、従来困難であった併用薬の使用条件下での具体的な推奨投与量の提示を可能とする DDI 予測手法を示した。これらは、今後の中枢作用薬開発の成功確度向上に繋がるだけでなく、複数の薬剤が併用される実際の医療現場での薬剤の有効かつ安全な使用、更には様々な背景を持つ患者の医薬品アクセス向上に貢献するものと考えられる。

実験の部

試薬

レンボレキサント及び各種代謝物の標品は、エーザイ株式会社 (Ibaraki, Japan) または Eisai Inc. (Andover, MA) で合成されたものを使用した。[¹⁴C]レンボレキサントは、Curachem Inc. (Gyeonggi, Korea ; 動物実験用, 比放射能 : 4.84 MBq/mg, 放射化学的純度 : ≥98.5%) または Ricerca Biosciences, LLC (Concord, OH ; 臨床試験用, 比放射能 : 4.02 mCi/mmol, 放射化学的純度 : 97.5%) で合成されたものを使用した。[¹⁴C]レンボレキサントの構造式及び ¹⁴C 標識部位を以下に示す。LC-MS/MS による濃度測定で内標準物質として用いたレンボレキサント及び代謝物 (M4, M9 及び M10) の重水素標識化合物は、エーザイ株式会社または Shanghai ChemPartner Co., Ltd. (Shanghai, China) で合成されたものを使用した。その他の試薬は、市販の特級品または分析グレード品を用いた。



実験動物

全ての動物実験は、エーザイ株式会社における動物実験委員会によって審査・承認された計画に従って実施した。

雄性の Sprague-Dawley ラット及び雌性のカニクイザルは、日本チャールス・リバー株式会社及び株式会社イブバイオサイエンスからそれぞれ購入したものを使用した。動物は、12時間の明暗サイクル、温度 20~26 °C、湿度 40%~70%に管理された飼育部屋内で、自由に水及び標準固形飼料 (ラット : CR-LPF, サル : PS [共にオリエンタル酵母工業株式会社]) を摂取させて飼育した。ラット及びサルは、実験開始時はそれぞれ 8 週齢及び 2 歳齢であり、入荷後 7 日間以上または 22 日間の順化期間後に実験に使用した。また、動物は、少なくとも投与前 16 時間から投与後 6 時間まで絶食処置を行った。

ラット及びサルにおける吸収・排泄評価

[¹⁴C]レンボレキサント投与液は、0.1 mol/L hydrochloric acid を投与媒体として、投与日に調製した。ラットでは、[¹⁴C]レンボレキサントを 10 mg/7.4 MBq/kg の用量で単回経

口投与し、投与後 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 時間にヘパリン処理ガラスキャピラリーを用いて約 100 μ L ずつ尾静脈から採血した。サルでは、 $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントを 3 mg/7.4 MBq/kg の用量で単回経口投与し、ラットの採血時点に加え、投与後 192, 216, 240, 264, 288, 312, 336 時間に、ヘパリン処理シリンジを用いて約 500 μ L ずつ大腿静脈から採血した。得られたサル血液は、遠心分離によって、血漿及び血球を得た。ラット、サル共に、尿及び糞は 24 時間間隔で採取し、ラットでは投与後 168 時間、サルでは投与後 336 時間まで採取した。

胆汁排泄評価には、投与日にイソフルラン麻酔下で予め胆管カニューレを施したラットを使用した。麻酔から覚醒後、 $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントを単回経口投与 (10 mg/7.4 MBq/kg) し、投与後 0~2, 2~4, 4~6, 6~8, 8~12, 12~24, 24~48 時間の間隔で胆汁を採取した。また、同時に、尿及び糞を投与後 0~24, 24~48 時間の間隔で採取した。投与後 48 時間では、体内の残存放射エネルギーを測定するため、消化管内容物とカーカス (屍体) を採取した。糞及び消化管内容物は蒸留水を添加してホモジネートを調製し、カーカスは 1 g/mL potassium hydroxide/ethanol (3:7, v/v) で消化して調製した。

ラットにおける組織分布評価

ラットに $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントを単回経口投与 (10 mg) し、投与後 1, 8, 24, 168, 336 時間に採血及び臓器採取を行った。採血は、イソフルラン麻酔下で腹部大動脈より全採血を行い、得られた血液の一部を遠心分離して、血漿及び血球を得た。その後、以下の臓器を採取した。

<採取臓器>

大脳、小脳、下垂体、延髄、脊髄、眼球、ハーダー氏腺、腸間膜リンパ節、顎下腺、甲状腺、期間、心臓、肺、胸腺、脂肪、褐色脂肪、皮膚、骨格筋、坐骨神経、骨髄、精巣、精嚢、腹部大動脈、下大静脈、前立腺、膀胱、脾臓、すい臓、副腎、腎臓、腎皮質、腎髄質、肝臓、胃、小腸、盲腸、大腸、カーカス (屍体)

臨床試験

$[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントを用いたヒトマスバランス試験は、Phase 1, オープンラベル、単一施設の経口投与試験として、Covance Clinical Research Unit, Inc. (Madison, WI) で実施された。試験計画書、インフォームドコンセント、その他の関連資料は、治験審査委員会の承認を受けると共に、すべての被験者は、治験参加前にインフォームドコンセントに署名を行った。被験者には、健康成人男性 8 名 (年齢 18~55 歳) が参加した。

被験者は、投与日の朝に 100 μ Ci を含む 10 mg の $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントカプセルを

240 mL の水と共に単回経口投与した。被験者は、少なくとも投与前 10 時間から投与後 4 時間まで絶食し、またサンプルの採取の為、21~35 日間試験施設に滞在した。

投与前、投与後 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 144, 216, 312, 408, 648, 816 時間に採血し、遠心分離によって、血漿を得た。尿、糞及びトイレットペーパー試料は、投与前から 24 時間間隔で回収し、24 時間間隔で回収された試料の総放射エネルギーが投与放射エネルギーの 1%未満が 2 度継続するまで、回収を実施した。得られた尿、糞及びトイレットペーパー試料は重量を測定し、糞及びトイレットペーパー試料には、水を加えて、それぞれ 20% w/v の糞ホモジネート及びトイレットペーパー懸濁液を調製した。

放射能の測定

<動物試料>

血液、血漿、血球、臓器組織、糞及び消化管内容物に含まれる放射能は燃焼法を用いて測定した。一定量のサンプルを燃焼コーンに添加し、重量を測定した後、Sample Oxidizer (A030701, PerkinElmer, Waltham, MA) を用いて燃焼した。生じた $^{14}\text{CO}_2$ を二酸化炭素吸収剤 (Carbo-Sorb E) に吸収させ、液体シンチレーター PermaFluor E⁺ (PerkinElmer, Waltham, MA) で回収した。得られたサンプル中の放射能は、液体シンチレーションカウンター (2100TR; Packard Instrument Company) を用いて 5 分間測定した。測定前には、市販の回収率測定用試料を燃焼及び測定することで、燃焼効率を確認した。

尿、胆汁、カーカス中に含まれる放射能は液体シンチレーション法を用いて測定した。一定量のサンプルをバイアルに採取し、液体シンチレーター Hionic-Fluor (PerkinElmer) を添加した後、液体シンチレーションカウンター (LS6500 及び LS6000IC; Beckman, CA) を用いて 5 分間測定した。測定計数効率の補正は、外部標準線源法によって行った。

得られたサンプル中放射エネルギーから、採取量及び比放射能をもとに試料中放射エネルギー濃度 (dpm/mL or g) 及びレンボレキサンに換算した血漿中放射エネルギー濃度 (ng eq./mL) を算出した。

<臨床試料>

血漿、尿、糞及びトイレットペーパーに含まれる放射能は燃焼法を用いて、動物試料と同様の手順にて測定した。なお、測定には、Sample Oxidizer (Model 307, Packard Instrument Company, Meriden, CT)、液体シンチレーター PermaFluor (PerkinElmer, Waltham, MA) 及び液体シンチレーションカウンター (2900TR 及び 2910TR; Packard Instrument Company) を用いた。

薬物濃度測定

レンボレキサント, M4, M9 及び M10 の血漿中濃度は, LC-MS/MS を用いて内標準法にて測定した。血漿サンプル(100 µL)に, 25 µL の内標準物質及び 0.1%ギ酸を含んだ acetonitrile/distilled water (1:1, v/v), 100 µL の 10%水酸化アンモニウム溶液を加えて攪拌したのち, 1 mL の methyl *t*-butyl ether を添加して, 化合物を抽出した。遠心後, 上清を窒素ガスにより蒸発乾固させたのち, 200 µL の 0.1%ギ酸を含んだ acetonitrile/distilled water (1:1, v/v)で再溶解した後, LC-MS/MS により分析した。分析には, Shimadzu LS System (島津製作所, Kyoto, Japan) を連結した API-5000 mass spectrometer (Sciex, Concord, Canada) を用いた。分析条件の詳細を以下に示す。

Column: Phenomenex Kinetex XB-C18, 5 µm, 4.6 mm I.D. × 250 mm
Column temperature: Room Temperature
Mobile phase A: 0.1% Formic acid
Mobile phase B: Acetonitrile
Autosampler temperature: 4 °C
Injector wash: 75% Methanol
Injection volume: 10 µL
Run time: 17.5 minutes

Gradient program:

Time (min)	A (%)	B (%)	Flow rate (mL/min)
0.00	65	35	1.2
2.00	65	35	1.2
5.00	62	38	1.2
7.00	62	38	1.2
8.00	62	38	0.7
11.60	62	38	0.7
12.00	62	38	1.2
12.10	45	55	1.2
14.50	45	55	1.2
14.60	65	35	1.2
17.50	65	35	1.2

Ionization: Electrospray positive ionization
Curtain gas flow: 20 psi
Gas supply 1: 70 psi
Gas supply 2: 50 psi

Ion spray voltage: 3000 V
 Source temperature: 650 °C
 Collision gas flow: 5 psi
 Scan mode: Multiple reaction monitoring

Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Collision energy (V)	Declustering potential (V)	Dwell time (msec)
Lemborexant	411.2	287.0	23	23	200
M4, M9, M10	427.2	287.0	24	90	750
Lemborexant-IS	414.2	290.1	23	23	100
M4-IS, M9-IS, M10-IS	430.2	290.2	24	90	250

濃度算出時のピーク面積及びピーク面積比の計算，検量線作成，定量値の算出は，LC-MS/MS 定量ソフトウェア(Analyst ver. 1.6.2)を用いた。試料中のレンボレキサント，M4，M9 及び M10 とそれぞれの内標準物質はクロマトグラムにおける保持時間及び検出イオン(m/z)を基に同定した。検量線（濃度範囲: 0.05~50 ng/mL）は，レンボレキサント，M4，M9 及び M10 とそれぞれの内標準物質のピーク面積比(Y)と検量線用試料の設定濃度(X)の直線回帰 ($Y = aX + b$, a: 傾き, b: Y 切片, 重み付け: $1/X^2$) により求め，得られた検量線と測定試料のピーク面積比を用いてレンボレキサント，M4，M9 及び M10 濃度を算出した。

PK パラメータの算出

血液，血漿及び血球中放射能濃度，血漿中レンボレキサント及び代謝物濃度の時間推移をもとに，Phoenix WinNonlin version 6.1 又は 6.2 (Certara, St. Louis, MO)を用いてノンコンパートメント解析によって，PK パラメータを算出した。 C_{max} 及び t_{max} は，実際の濃度測定値をもとに得た。

代謝物プロファイリング

<動物試料>

ラット血漿は， $[^{14}C]$ レンボレキサントを単回経口投与（10 mg/48.4 MBq/kg）し，投与後 1，4，8 時間に採血して得られた試料を使用した。また，吸収及び排泄評価で得られたラット尿（投与後 0~24 時間），糞ホモジネート（0~24 時間），胆汁（0~12 時間），サル血漿（投与後 1，4，6 時間），尿（0~96 時間）及び糞ホモジネート（0~96 時間）試料を用いた。ラット胆汁，サル尿及び糞ホモジネートは，各採取時点の試料量に応じて混合し，プール試料を調製した。

血漿及び糞ホモジネートに3倍量のメタノールを添加し、10分間振盪した後、遠心分離によって上清を得た。残渣について、3倍量のメタノールを加え、同様に振盪・遠心分離する操作を2回繰り返した。3回のメタノール抽出で得られた上清を合わせて、濃縮乾固したのち、30%メタノールで再溶解し、遠心分離で得られた上清を分析試料とした。尿及び胆汁は、遠心分離後、得られた上清を分析試料とした。

試料中に含まれる代謝物の定量分析には、Shimadzu LC-10Avp 又は LC-20A（島津製作所, Kyoto, Japan）を用い、2組の移動相を使用して分析した。分析条件の詳細を以下に示す。

<HPLC 条件 1>

Column: Inertsustain C18, 3 μ m, 4.6 mm I.D. \times 250 mm L
 Column temperature: 40 $^{\circ}$ C
 Mobile phase A: 0.1% Formic acid
 Mobile phase B: 0.1% Formic acid in acetonitrile
 Gradient program:

Time (min)	A (%)	B (%)	Flow rate (mL/min)
0	85	15	1.0
25	70	30	1.0
40	70	30	1.0
65	65	35	1.0
70	60	40	1.0
80	60	40	1.0
90	1	99	1.0
100	1	99	1.0
101	85	15	1.0
115	85	15	1.0

UV detection: 250 nm
 Run time: 115 minutes

<HPLC 条件 2>

Mobile phase A: 10 mmol/L Ammonium formate
 Mobile phase B: Acetonitrile

他の条件は、HPLC 条件 1 と同じものを用いた。

HPLC 分析における放射能の検出には、投与後 4 及び 6 時間のサル血漿についてはオフライン法を、その他のラット及びサル試料についてはオンライン法を用いた。オンライン法では、HPLC 溶出液にシンチレーターULTIMA-FLO M (PerkinElmer) を移動相の 3 倍の流速で送液しながら混合し、放射能検出器 (525TR, 625TR, PerkinElmer) に導入して 6 秒積算で放射能を測定した。オフライン法では、HPLC 溶出液を 18 秒間隔で分画採取し、液体シンチレーターHionic-Fluor を添加後、液体シンチレーションカウンター (2500TR, 3100TR PerkinElmer) で 2 分間放射能を測定した。得られた各 HPLC フラクシオンの放射能量をもとに、ラジオクロマトグラムを構築した。

試料中に含まれる総放射能量に対する各代謝物の量比 (% of total radioactivity) は、HPLC 条件 1 で分析して得られたラジオクロマトグラムとメタノールによる放射能抽出率をもとに算出した。1 つの放射能ピークに複数の代謝物が認められた場合には、HPLC 条件 2 における結果からその量比を算出した。また、試料中の各代謝物の量比 (% of total radioactivity) 及び各試料中に回収された放射能量から、投与放射能量に対する尿、糞及び胆汁中に排泄された各代謝物の量比 (% of the dose) を算出した。

<臨床試料>

血漿試料は、AUC pooling method に従って、採取時間の AUC を反映する 1 つの血漿サンプル (AUC プール血漿サンプル) を調製した[54]。まず、各時点に採取した被験者 8 名分の個別別血漿を等量混和して、各時点のプール試料を調製した。各時点のプール試料を以下の Table. 6-1 に示した比率で混合し、AUC プール血漿サンプルを調製した。

Table. 6-1 Volume mixing ratio for preparation of AUC pooled plasma sample

Time (h)	0	0.5	1	2	3	4	6	8	12	24	48	72	96
Ratio	0.5	1	1.5	2	2	3	4	6	16	36	48	48	24

尿及び糞試料は、個別別に各採取時点で回収された総量の比率で混合し、プール試料を調製した (尿 : 0~120 時間, 糞 : 0~264 時間)。

調製した血漿、尿及び糞試料に 3 倍量のメタノールを添加し、10 分間振盪した後、遠心分離によって上清を得た。残渣について、3 倍量のメタノールを加え、同様に振盪・遠心分離する操作を、尿試料については 1 回、血漿及び糞試料については 2 回繰り返した。メタノール抽出で得られた上清を合わせて、濃縮乾固したのち、尿試料については 30%メタノールで、血漿及び糞試料については *N*-methyl-2-pyrrolidinone/30% methanol (2:3, v/v) で再溶解し、遠心分離で得られた上清を分析試料とした。

試料中に含まれる代謝物の定量分析は、動物試料の分析時と同様の機器を用い、HPLC 条件 1 で実施した。HPLC 分析における放射能の検出にはオフライン法を用い、血漿試料については AMS を、尿及び糞試料については液体シンチレーションカウンターを用いて放射能を検出した。各 HPLC フラクシオンの放射エネルギーからラジオクロマトグラムを構築して、解析を行った。AMS による分析では、HPLC 溶出液を 30 秒間隔で分画採取し、以下の Table. 6-2 に従って、HPLC 分析時間に応じて分画採取した試料を混和して、AMS 分析試料とした。

Table. 6-2 HPLC fractionation for AMS analysis

Time after HPLC injection (min)	0-10	10-20	20-80	80-100
Number of Fractions	1	5	120	10
Time interval for each fraction	10 min	120 sec	30 sec	120 sec

AMS 分析は、Tozuka らの方法に従い[55], Pelletron AMS system (1.5SDH-1 0.6MV; National Electrostatics Corporation, Tokyo, Japan)を用いて、株式会社加速器分析研究所で実施した。測定試料を風乾させた後、マッフル炉内で燃焼して二酸化炭素を生成させ、二酸化炭素ガス圧の測定によって、試料中の炭素含有量 (g Carbon in sample) を算出した。生成させた二酸化炭素に約 2 倍量の水素ガスを加えて還元し、グラファイトを調製した後、Pelletron AMS system により、 $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比及び pMC (試料中炭素に対する ^{14}C の割合) を測定した。試料中炭素含有量及び pMC (100 pMC = 13.56 dpm/g Carbon) から、試料中放射能濃度(dpm/g)に換算して、各 HPLC フラクシオンの放射エネルギー(dpm/fraction) を求めた。

構造解析

ラット血漿 (投与後 1 時間), 胆汁 (0~12 時間), 尿 (0~24 時間) 及び糞ホモジネート (0~24 時間), サル血漿 (投与後 1 時間), 尿 (0~24 時間) 及び糞ホモジネート (24~48 時間), ヒト AUC プール血漿サンプル, 尿 (0~120 時間) 及び糞試料 (0~264 時間) を、代謝物プロファイリングと同様の手順で処理し、分析サンプルを得た。分析には、LTQ Orbitrap XL mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)を用いた。HPLC システム及び HPLC 条件は、代謝物プロファイリングと同じものを用い、HPLC 溶出液は 4:1 に分岐し、放射能検出器 (4/5) 及び質量分析計 (1/4) に導入した。検出された代謝物の構造は、質量数とマススペクトルから同定もしくは推定を行った。各代謝物の標準物質及びヒト肝ミクロソーム中で各代謝物から生成したグルクロン酸抱合代謝物についても分析し、得られたカラム保持時間、分子量、マススペクトルと比較することで、代謝物の同定を実施した。グルクロン酸抱合代謝物は、各代謝物の標準物質を uridine 5'-

diphospho-glucuronic acid (5 mmol/L) 存在下でヒト肝ミクロソーム (1 mg/mL ; Sekisui XenoTech, LLC, Kansas City, KS) とインキュベート (1 時間, 37 °C) して生成した。生体試料中代謝物のうち、構造が同定できたものについては、M 番号を付与した (eg, M1)。

オレキシン受容体への結合親和性評価

M4, M9 及び M10 のオレキシン受容体への結合親和性は、Beuckmann らの方法に従って、放射性リガンドを用いた競合的 receptor binding assay にて評価した[25]。96-well FlashPlate (PerkinElmer)に、ヒト OX1R 又は OX2R を発現した CHO 細胞より調製した膜画分(5 µg protein/well)及び^[125I]Orexin-A (OXA, 0.2 nmol/L; PerkinElmer)を加え、被験物質 (M4, M9 又は M10; 0.6-600 nmol/L) の存在下及び非存在下でインキュベート (30 分, 室温) した。^[125I]OXA の非特異的な結合を評価するため、被験物質の代わりに非標識 OXA (10 µmol/L; Peptide Institute, Osaka, Japan) を用いた。各 well の溶液を除き、500 mmol/L NaCl を含む 25 mmol/L HEPES buffer で洗浄した後、各 well の残存放射エネルギーを測定した (TopCount; PerkinElmer)。各評価濃度における被験物質の阻害活性は以下の式で算出し、GraphPad Prism (version 6.02; GraphPad Software, Inc.)を用いて IC₅₀ を求めた。

$$\text{阻害活性 (\%)} = 100 - 100 \times \frac{(\text{Radioactivity}_{\text{test}} - \text{Radioactivity}_{\text{NB}})}{(\text{Radioactivity}_{\text{control}} - \text{Radioactivity}_{\text{NB}})}$$

Radioactivity _{test} :	被験物質存在下における放射エネルギー
Radioactivity _{NB} :	非標識 OXA 存在下における放射エネルギー
Radioactivity _{control} :	化合物非存在下における放射エネルギー

P-gp 及び BCRP 発現細胞を用いた経細胞輸送評価

レンボレキサン、M4, M9 及び M10 の P-gp 及び BCRP 発現細胞を用いた経細胞輸送評価は、Yoshida らの報告に従って実施した[56]。ヒト P-gp を介した経細胞輸送評価には、ブタ近位尿管由来細胞である LLC-PK1 細胞 (コントロール細胞) 及びヒト P-gp 発現遺伝子を組み込んだ LLC-PK1 細胞 (P-gp 発現細胞) を、ヒト BCRP を介した評価には、イヌ腎尿管上皮由来細胞である MDCK-II 細胞 (コントロール細胞) 及びヒト BCRP 発現遺伝子を組み込んだ MDCK-II 細胞 (BCRP 発現細胞) を用いた。細胞を 6.0 × 10⁵ (P-gp 評価) または 4.2 × 10⁵ cells/cm² (BCRP 評価) の密度で 24-well cell culture insert 上に播種し、単層膜を形成するため 6 日間培養した (37 °C, 5%CO₂/95% air atmosphere)。経細胞輸送評価時は、各細胞を 10 mmol/L HEPES を含んだ Hanks' balanced salt solution (HBSS buffer) 中でプレインキュベーション (2 時間, 37 °C) した後、細胞の頂側膜側 (Apical 側) または基底膜側 (Basal 側) の buffer を被験物質 (レンボレキサン

ト, M4, M9 または M10; 3 $\mu\text{mol/L}$) を含む HBSS buffer に置換して, インキュベートした(2 時間, 37 °C)。なお, P-gp 及び BCRP の典型阻害剤である verapamil (30 $\mu\text{mol/L}$) 及び Ko143 (50 nmol/L) による被験物質の経細胞輸送に対する阻害効果を確認する際は, 各阻害剤を含んだ HBSS buffer を用いた。2 時間のインキュベーション後, 被験物質を添加していない側から HBSS buffer を回収し, LC-MS/MS を用いて被験物質量を測定した。透過係数(P_{app})は, 被験物質の透過量(Q), インキュベーション時間(t), 被験物質の添加初期濃度(C_0), 単層膜の表面積(A)から, $P_{\text{app}} = Q / t / C_0 / A$ に従い, Apical 側から Basal 側への透過係数 ($P_{\text{app, a to b}}$) 及び Basal 側から Apical 側への透過係数 ($P_{\text{app, b to a}}$) について算出した。また, 以下の式に従い, コントロール細胞及び P-gp 又は BCRP 発現細胞における flux ratio 及び CFR を算出した。

$$\text{Flux ratio} = P_{\text{app, b to a}} / P_{\text{app, a to b}}$$

$$\text{CFR} = \text{P-gp or BCRP 発現細胞における flux ratio} / \text{コントロール細胞における flux ratio}$$

血漿中蛋白結合率の測定

レンボレキサント, M4, M9 及び M10 のヒト血漿中蛋白結合率は, 健康成人 (男性) から得た新鮮血漿を用いて, 平衡透析法にて測定した。被験物質 (100~1000 ng/mL) を血漿に添加し, 透析膜 (分子量カットオフ値: 14 kDa) を介して PBS (pH 7.4) に対して平衡透析を行った (37 °C, レンボレキサント: 17 時間, 各代謝物: 12 時間)。透析後の血漿及び PBS 試料中の化合物濃度を LC-MS/MS で測定し, 以下の式に従って, 血漿中蛋白結合率を算出した。

$$\text{血漿中蛋白結合率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{透析後 PBS 試料中化合物濃度}}{\text{透析後血漿試料中化合物濃度}} \right) \times 100$$

ヒト-動物間における血漿中暴露量比較

ヒト血漿は, 反復投与漸増試験 (Study No. E2006-A001-002) で, レンボレキサント 10 mg を白人健康成人に 1 日 1 回 14 日間反復経口投与し, Day14 における投与前, 投与後 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 及び 24 時間に採取した血漿を用いた。動物血漿は, 4 週間の毒性試験で, 雄性及び雌性の SD ラット又はカニクイザルにレンボレキサントを 1 日 1 回 4 週間反復経口投与し, Day28 における投与前, 投与後 0.5, 1, 2, 4, 8 及び 24 時間に採取した血漿を用いた。レンボレキサントの投与量は, 非臨床毒性試験で用いた投与量とし, 雄性ラットでは 30, 100 及び 1000 mg/kg, 雌性ラット及び

雄性・雌性カニクイザルでは 10, 100 及び 1000 mg/kg とした。血漿試料中のレンボレキサント, M4, M9 及び M10 濃度を LC-MS/MS で測定し, ノンコンパートメント解析によって AUC を算出した。ヒト及び動物間の暴露量の比較の為, Exposure Multiple (暴露量の比) を以下の式に従って算出した。

$$\text{Exposure Multiple} = \text{動物における AUC}_{(0-24\text{h})} / \text{ヒトにおける AUC}_{(0-24\text{h})}$$

PBPK モデルを用いたシミュレーション解析

レンボレキサントの PBPK モデルの構築には, Simcyp Simulator Ver.17r1 (Certara, Sheffield, UK)を用い, *in vitro* 及び *in vivo* データをもとに構築した。レンボレキサントのモデル構築における各種パラメータの設定については, 4-2-1 項を参照。モデル構築及び検証に用いた臨床試験情報を Table. 6-3 にまとめた。

Table. 6-3 Summary of lemborexant PK and DDI clinical trials used in model development and validation

Study No.	Study	Subject	Dose
E2006-A001-007 NCT02046213	Human mass balance study	Healthy volunteers 8 subjects	Single oral, capsule, ¹⁴ C-labeled, 10 mg
E2006-A001-001 NCT01463098 (Part A)	Single ascending dose study	Healthy volunteers 64 subjects	Single oral, capsule, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 200 mg
E2006-A001-002 NCT01673451 (Part A)	Multiple ascending dose study	Healthy volunteers 48 subjects	Multiple oral, capsule, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75 mg q.d. for 14 days
E2006-A001-008 NCT02089412	Food effect study	Healthy volunteers 22 subjects	Single oral, IR tablet, 10 mg, fasted and fed
E2006-A001-004 NCT02085967 (Part A)	DDI study with a strong CYP3A inhibitor or inducer	Healthy volunteers 30 subjects	Single oral, IR tablet, 10 mg alone or combination with itraconazole 200 mg q.d. or rifampicin 600 mg q.d.
E2006-A001-012 NCT03451110 (Part 3)	DDI study with a moderate CYP3A inhibitor	Healthy volunteers 14 subjects	Single oral, IR tablet, 10 mg alone or combination with fluconazole (400 mg on Day1 and 200 mg q.d. from Day2 to Day16)

シミュレーションは、Simcyp のポピュレーションライブラリーに搭載されている白人健康成人 Sim-Healthy volunteer population を用い、被験者数及び背景データ（人種、年齢、男女比）は実際の臨床試験と同様の内容をインプットした。1 試験 10 例について 10 試験分シミュレーションを実施し、100 例の平均値及びバラつきで評価を行った。

検討した併用薬の PBPK モデルは、itraconazole とその代謝物(hydroxy-itraconazole)及び ranitidine のモデルを除き、Simcyp の化合物ライブラリーに搭載されている default file を使用した。Itraconazole 及び hydroxy-itraconazole の PBPK モデルについては、Simcyp に搭載されている default file よりも IQ Consortium の PBPK working group から提供された file の方が、実際の臨床試験での投与条件（絶食下、カプセル製剤投与）の PK プロファイル及び DDI 作用を精度高く予測することから、本解析においても IQ Consortium から提供されたモデルを使用した[57]。Ranitidine の PBPK モデルについては、Simcyp の化合物ライブラリーに搭載されていなかったため、Simcyp member site (<https://members.simcyp.com/>)で公開されている Simcyp Consortium group member によって構築された file を使用した。Itraconazole, verapamil 及び fluoxetine との DDI シミュレーションの際には、それぞれの代謝物（hydroxy-itraconazole, norverapamil 及び norfluoxetine）による CYP3A への阻害作用も考慮するため、代謝物のモデルも組み込んで解析を実施した。

レンボレキサント及び併用薬は、食事の影響評価を除き、絶食下で 250 mL の飲料水と共に経口投与した。食事の影響評価時は、絶食下及び飽食下での投与とした。DDI シミュレーションにおいては、阻害剤又は誘導剤による最大影響を確認するため、各薬剤の血漿中濃度がおおよそ定常状態に到達した後に、レンボレキサントを併用するスケジュールとした。各薬剤は、用法に従って Day 1 から投与を開始し、評価期間反復投与を続けた。レンボレキサントは、fluconazole 及び fluoxetine を除き、Day 8 に阻害剤又は誘導剤と共に、同時経口投与を行った。Fluconazole 及び fluoxetine は、Day 5 及び Day 25 にレンボレキサントの同時投与を行った。

DDI の影響は、レンボレキサント単独投与及び阻害剤又は誘導剤と併用時の暴露量比で表し、 C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$ について算出した($C_{max}R$ 及び $AUCR$)。FDA の DDI ガイダンスに従って、併用薬による DDI の影響は、 $AUCR$ をもとに以下のように判断した[11]。

DDI impact	Negligible	Weak	Moderate	Strong
Inhibitory effect: $AUCR$	<1.25	≥ 1.25 to <2	≥ 2 to <5	≥ 5
Inductive effect: $AUCR$	>0.80	>0.50 to ≤ 0.80	>0.20 to ≤ 0.50	≤ 0.20

構築したモデルによる血漿中濃度推移の予測妥当性検証では、予測した PK プロファイルの平均値及び 90%予測区間と実測個別値との重なり具合及び PK パラメータ(C_{max} 及び AUC)の比較にて評価し、PK パラメータが実測値の 2 倍以内のとき十分な予測精度があると判断した。DDI 作用の予測検証では、AUCR の予測値と実測値の比較にて評価した。Guest らの方法に従って、従来、予測精度の評価の際に使用されていた 2 倍誤差範囲内という固定値の代わりに、AUC 実測値のバラつき(CV 値)を考慮して計算した予測許容範囲に AUCR の予測値が含まれるとき十分な予測精度があると判断した[48]。

構築したモデルの検証及び臨床試験では未検証の CYP3A 阻害剤との DDI 予測のために実施した各シミュレーションの設定条件（被験者情報，投与方法）を Table. 6-4 に示す。

Table. 6-4 Simulation setup used for simulations of lemborexant PK profiles and DDIs with CYP3A inhibitors and inducers

Simulation	Lemborexant	Concomitant drug	Age range / % Female
Single administration	Single, Solution, 2.5, 10, 100 mg	None	2.5 mg: 29-61 years / 50%
	IR tablet, 10 mg		10 mg: 30-58 years / 50%
			100 mg: 34-57 years / 50%
			IR tablet 10 mg: 21-55 years / 20%
Multiple administration	Multiple, Solution, 10 mg, q.d. for 14 days	None	24-48 years / 0%
Food effect	Single, IR tablet, 10 mg Fasted and fed	None	21-55 years / 10%
DDI with CYP3A inhibitors	Single, IR tablet, 10 mg	Itraconazole, 200 mg q.d. for 20 days	Itraconazole: 21-55 years / 20%
	Day5 and Day25 for fluconazole and fluoxetine, respectively.	Fluconazole, 400 mg on Day1, 200 mg q.d. from Day2 to Day16	Fluconazole: 20-52 years / 57.1%
	Day8 for other inhibitors.	Erythromycin, 500 mg q6h for 20 days	Others: 20-50 years / 50%
		Verapamil, 80 mg t.i.d. for 20 days	
		Fluoxetine, 40 mg q.d. for 39 days	
		Ranitidine, 150 mg b.i.d. for 20 days	
DDI with a CYP3A inducer	Single IR tablet, 10 mg Day8	Rifampicin, 600 mg q.d. for 20 days	22-46 years / 0%

発表論文目録

本学位論文は、下記の原著論文に基づいたものである。

- (1) Disposition and metabolism of [¹⁴C]lemborexant, a novel dual orexin receptor antagonist, in rats and monkeys.
Takashi Ueno, Tomomi Ishida, Kazutomi Kusano,
Xenobiotica, 2019, **49**(6): 688-697.

- (2) Disposition and metabolism of [¹⁴C]lemborexant in healthy human subjects and characterization of its circulating metabolites.
Takashi Ueno, Tomomi Ishida, Jagadeesh Aluri, Michiyuki Suzuki, Carsten T. Beuckmann, Takaaki Kameyama, Shoji Asakura, Kazutomi Kusano,
Drug Metab Dispos, 2021, **49**: 31-38.

- (3) Physiologically-based pharmacokinetic modeling to predict drug interactions of lemborexant with CYP3A inhibitors.
Takashi Ueno, Yukiko Miyajima, Ishani Landry, Bojan Lalovic, Edgar Schuck,
CPT Pharmacomet Syst Pharmacol, 2021, **10**(5): 455-466.

引用文献

- [1] Kola I, and Landis J (2004) Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat Rev Drug Discov*, **3**(8): 711-715.
- [2] FDA (2020a) Safety testing of drug metabolites Guidance for industry, *U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research*, Silver Spring, MD.
- [3] ICH (2010) M3(R2) Nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization of pharmaceuticals, *The International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use*, Geneva, Switzerland.
- [4] EMA (2012) Guideline on the Investigation of Drug Interactions, *European Medicines Agency*, Amsterdam, Netherlands.
- [5] FDA (2020b) In vitro drug interaction studies — Cytochrome P450 enzyme- and transporter-mediated drug interactions Guidance for industry, *U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research*, Silver Spring, MD.
- [6] Ministry of Health, Labour and Welfare (2019) Guideline on Drug Interaction for Drug Development and Appropriate Provision of Information, *Ministry of Health, Labour and Welfare*, Tokyo, Japan.
- [7] Jørgensen A, Hansen V, and Overø KF (1973) The distribution pattern of a series of tricyclic and bicyclic thymoleptics compared with their lipophilic properties and binding to plasma proteins. *Acta Pharmacol Toxicol*, **33**(2): 81-91.
- [8] López-Muñoz F, and Álamo C (2013) Active metabolites as antidepressant drugs: the role of norquetiapine in the mechanism of action of quetiapine in the treatment of mood disorders. *Front Psychiatry*, **4**: 102.
- [9] Álamo C, and López-Muñoz F (2013) The pharmacological role and clinical applications of antipsychotics' active metabolites: paliperidone versus risperidone, *Clin Exp Pharmacol*, **3**: 1.

- [10] Harrison TS, and Perry CM (2004) Aripiprazole: a review of its use in schizophrenia and schizoaffective disorder. *Drugs*, **64**(15): 1715-1736.
- [11] FDA (2020c) Clinical drug interaction studies — Cytochrome P450 enzyme- and transporter-mediated drug interactions Guidance for industry, *U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research*, Silver Spring, MD.
- [12] Ohno Y, Hisaka A, Iwamoto T, Kimura T, Momo K, Yonezawa A, and Ito K (2018) How to manage drug interactions in clinical settings (1): New guideline and management in clinical settings. *J Pharm Health Care Sci*, **44**(11): 537-545.
- [13] Koebisu M, Koyama N, Nishida M, and Muramoto K (2021) Preclinical and clinical efficacy of orexin receptor antagonist Lemborexant (Dayvigo®) on insomnia patients. *Folia Pharmacologia Japonica*, **156**(2): 114-119.
- [14] Buysse DJ (2013) Insomnia. *JAMA*, **309**(7):706-716.
- [15] Roth T, Coulouvrat C, Hajak G, Lakoma MD, Sampson NA, Shahly V, Shillington AC, Stephenson JJ, Walsh JK, and Kessler RC (2011) Prevalence and perceived health associated with insomnia based on DSM-IV-TR; international statistical classification of diseases and related health problems, tenth revision; and research diagnostic criteria/international classification of sleep disorders, second edition criteria: results from the America insomnia survey. *Biol Psychiatry*, **69**(6): 592-600.
- [16] Liu X, Uchiyama M, Kim K, Okawa M, Shibui K, Kudo Y, Doi Y, Minowa M, and Ogihara R (2000) Sleep loss and daytime sleepiness in the general adult population of Japan. *Psychiatry Research*, **93**(1): 1-11.
- [17] Hafner, M, Stepanek M, Taylor J, Troxel WM, and Stolk CV (2017) Why Sleep Matters-The Economic Costs of Insufficient Sleep. *Rand Health Q*, **6**(4): 11.
- [18] de Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao X, Foye PE, Danielson PE, Fukuhara C, Battenberg EL, Gautvik VT, Bartlett FS II, et al. (1998) The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**(1): 322-327.

- [19] Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, et al. (1998) Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*, **92**(4): 573-583.
- [20] Brisbare-Roch C, Dingemans J, Koberstein R, Hoeber P, Aissaoui H, Flores S, Mueller C, Nayler O, Gerven JV, de Haas SL, et al. (2007) Promotion of sleep by targeting the orexin system in rats, dogs and humans. *Nat Med* **13**(2):150-155.
- [21] Beuckmann CT, Sinton CM, Williams SC, Richardson JA, Hammer RE, Sakurai T, and Yanagisawa M (2004) Expression of a poly-glutamine-ataxin-3 transgene in orexin neurons induces narcolepsy-cataplexy in the rat. *J Neurosci*, **24**(18): 4469-4477.
- [22] Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, et al. (1999) Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell*, **98**(4): 437-451.
- [23] Hara J, Beuckmann CT, Nambu T, Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Sugiyama F, Yagami K, Goto K, Yanagisawa M, et al. (2001) Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. *Neuron*, **30**(2): 345-354.
- [24] Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Tokita S, Williams SC, Kisanuki YY, Marcus JN, Lee C, Elmquist JK, Kohlmeier KA, et al. (2003) Distinct narcolepsy syndromes in orexin receptor-2 and orexin null mice: molecular genetic dissection of Non-REM and REM sleep regulatory processes. *Neuron*, **38**(5) :715-730.
- [25] Beuckmann CT, Suzuki M, Ueno T, Nagaoka K, Arai T, and Higashiyama H (2017) In vitro and in silico characterization of lemborexant (E2006), a novel dual orexin receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther*, **362**(2): 287-295.
- [26] Beuckmann CT, Ueno T, Nakagawa M, Suzuki M, and Akasofu S (2019) Preclinical in vivo characterization of lemborexant (E2006), a novel dual orexin receptor antagonist for sleep/wake regulation. *Sleep*, **42**(6): zsz076.
- [27] Murphy P, Moline M, Mayleben D, Rosenberg R, Zammit G, Pinner K, Dhadda S, Hong Q, Giorgi L, and Satlin A (2017) Lemborexant, A dual orexin receptor antagonist (DORA) for the

treatment of insomnia disorder: results from a bayesian, adaptive, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Sleep Med*, **13**(11): 1289-1299.

- [28] Rosenberg R, Murphy P, Zammit G, Mayleben D, Kumar D, Dhadda S, Filippov G, LoPresti A, and Moline M (2019) Comparison of lemborexant with placebo and zolpidem tartrate extended release for the treatment of older adults with insomnia disorder: a phase 3 randomized clinical trial. *JAMA Netw Open*, **2**(12): e1918254.
- [29] Vermeeren A, Jongen S, Murphy P, Moline M, Filippov G, Pinner K, Perdomo C, Landry I, Majid O, Van Oers ACM, et al. (2019) On-the-road driving performance the morning after bedtime administration of lemborexant in healthy adult and elderly volunteers. *Sleep*, **42**(4): zsy260.
- [30] Yoshida Y, Naoe Y, Terauchi T, Ozaki F, Doko T, Takemura A, Tanaka T, Sorimachi K, Beuckmann CT, Suzuki M, et al. (2015) Discovery of (1R,2S)-2-[[2-(2,4-Dimethylpyrimidin-5-yl)oxy]methyl]-2-(3-fluorophenyl)-N-(5-fluoropyridin-2-yl)cyclopropanecarboxamide (E2006): a potent and efficacious oral orexin receptor antagonist. *J Med Chem*, **58**(11): 4648-4664.
- [31] Park BK, Kitteringham NR, O'Neill PM (2001) Metabolism of fluorine-containing drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **41**: 443-470.
- [32] Samuel K, Yin W, Stearns RA, Tang YS, Chaudhary AG, Jewell JP, Lanza Jr T, Lin LS, Hagmann WK, Evans DC, et al. (2003) Addressing the metabolic activation potential of new leads in drug discovery: a case study using ion trap mass spectrometry and tritium labeling techniques. *J Mass Spectrom*, **38**(2): 211-221.
- [33] Landry I, Aluri J, Hall N, Kumar D, Dayal S, Moline M, Reyderman L (2020) Effect of gastric acid-reducing agents on the pharmacokinetics and efficacy of lemborexant. *Pharmacol Res Perspect*, **8**(6): e00678.
- [34] Turesky RJ, and Le Marchand L (2011) Metabolism and biomarkers of heterocyclic aromatic amines in molecular epidemiology studies: lessons learned from aromatic amines. *Chem Res Toxicol*, **24**(8): 1169-1214.
- [35] PMDA (2019) Review report for Dayvigo[®] Tablets 2.5, 5, and 10 mg.

<https://www.pmda.go.jp/files/000236878.pdf>.

- [36] PMDA (2020) New Drug Application for Dayvigo[®] Tablets 2.5, 5, and 10 mg. <https://www.pmda.go.jp/drugs/2020/P20200203001/index.html>.
- [37] Byrne EM (2019) The relationship between insomnia and complex diseases-insights from genetic data. *Genome Med*, **11**(1): 57.
- [38] Morin CM, Drake CL, Harvey AG, Krystal AD, Manber R, Riemann D, Spiegelhalder K (2015) Insomnia disorder. *Nat Rev Dis Primers*, **1**: 15026.
- [39] Roth T (2007) Insomnia: definition, prevalence, etiology, and consequences. *J Clin Sleep Med*, **3**(5 Suppl): S7-S10.
- [40] Foley DJ, Monjan A, Simonsick EM, Wallace RB, and Blazer DG (1992) Incidence and remission of insomnia among elderly adults: an epidemiologic study of 6,800 persons over three years. *Sleep*, **22**(2): S366-S372.
- [41] Patel D, Steinberg J, and Patel P (2018) Insomnia in the elderly: a review. *J Clin Sleep Med*, **14**(6): 1017-1024.
- [42] Foley DJ, Monjan AA, Brown SL, Simonsick EM, Wallace RB, and Blazer DG (1995) Sleep complaints among elderly persons: an epidemiologic study of three communities. *Sleep*, **18**(6): 425-432.
- [43] Landry I, Aluri J, Nakai K, Hall, N, Miyajima Y, Ueno T, Dayal S, Filippov G, Lalovic B, Moline M, et al. (2021) Evaluation of the CYP3A and CYP2B6 drug-drug interaction potential of lemborexant. *Clin Pharm Drug Dev*, **10**(6): 681-690.
- [44] Hanke N, Frechen S, Moj D, Britz H, Eissing T, Wendl T, and Lehr T (2018) PBPK models for CYP3A4 and P-gp DDI prediction: a modeling network of rifampicin, itraconazole, clarithromycin, midazolam, alfentanil, and digoxin. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, **7**(10): 647-659.
- [45] Lüpfer C, Dyroff M, von Richter O, Gallemann D, Bawab SEI, Dolgos H, Jung D, Hecht S, and John A (2018) A novel PBPK modeling approach to assess cytochrome P450 mediated

drug-drug interaction potential of the cytotoxic prodrug evofosfamide. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, **7**(12): 829-837.

- [46] Oggianu L, Ke AB, Chetty M, Picollo R, Petrucci V, Calisti F, Garofolo F, and Tongiani S (2020) Estimation of an appropriate dose of trazodone for pediatric insomnia and the potential for a trazodone-atomoxetine interaction. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, **9**(2): 77-86.
- [47] Shebley M, Sandhu P, Emami Riedmaier A, Jamei M, Narayanan R, Patel A, Peters SA, Reddy VP, Zheng M, de Zwart L, et al. (2018) Physiologically based pharmacokinetic model qualification and reporting procedures for regulatory submissions: a consortium perspective. *Clin Pharmacol Ther*, **104**(1): 88-110.
- [48] Guest EJ, Aarons L, Houston JB, Rostami-Hodjegan A, and Galetin A (2011) Critique of the two-fold measure of prediction success for ratios: application for the assessment of drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos*, **39**(2): 170-173.
- [49] Wagner C, Pan Y, Hsu V, Sinha V, Zhao P (2016) 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*, **55**(4): 475-483.
- [50] Kärppä M, Yardley J, Pinner K, Filippov G, Zammit G, Moline M, Perdomo C, Inoue Y, Ishikawa K, and Kubota N (2020) Long-term efficacy and tolerability of lemborexant compared with placebo in adults with insomnia disorder: results from the phase 3 randomized clinical trial SUNRISE 2. *Sleep*, **43**(9): zsaa123.
- [51] Murphy P, Kumar D, Zammit G, Rosenberg R, Moline M (2020) Safety of lemborexant versus placebo and zolpidem: effects on auditory awakening threshold, postural stability, and cognitive performance in healthy older subjects in the middle of the night and upon morning awakening. *J Clin Sleep Med*, **16**(5): 765-773.
- [52] Moline M, Zammit G, Yardley J, Pinner K, Kumar D, Perdomo C, Cheng JY (2021) Lack of residual morning effects of lemborexant treatment for insomnia: summary of findings across 9 clinical trials. *Postgrad Med*, **133**(1): 71-81.
- [53] Lalovic B, Majid O, Aluri J, Landry I, Moline M, Hussein Z (2020) Population

pharmacokinetics and exposure-response analyses for the most frequent adverse events following treatment with lemborexant, an orexin receptor antagonist, in subjects with insomnia disorder. *J Clin Pharmacol*, **60**(12):1642-1654.

- [54] Hamilton RA, Garnett WR, and Kline BJ (1981) Determination of mean valproic acid serum level by assay of a single pooled sample. *Clin Pharmacol Ther*, **29**(3): 408-413.
- [55] Tozuka Z, Kusuhara H, Nozawa K, Hamabe Y, Ikushima I, Ikeda T, and Sugiyama Y (2010) Microdose study of ¹⁴C-acetaminophen with accelerator mass spectrometry to examine pharmacokinetics of parent drug and metabolites in healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther*, **88**(6): 824-830.
- [56] Yoshida Y, Terauchi T, Naoe Y, Kazuta Y, Ozaki F, Beuckmann CT, Nakagawa M, Suzuki M, Kushida I, Takenaka O, et al. (2014) Design, synthesis, and structure-activity relationships of a series of novel N-aryl-2-phenylcyclopropanecarboxamide that are potent and orally active orexin receptor antagonists. *Bioorg Med Chem*, **22**(21): 6071-6088.
- [57] Chen Y, Cabalu TD, Callegari E, Einolf H, Liu L, Parrott N, Peters SA, Schuck E, Sharma P, Tracey H, et al. (2019) Recommendations for the design of clinical drug-drug interaction studies with itraconazole using a mechanistic physiologically-based pharmacokinetic model. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, **8**(9): 685-695.

謝辞

本学位論文の審査に際し、主査として、御懇篤なる御指導、御助言を賜りました徳島大学大学院医歯薬学研究部 薬物動態制御学分野 教授 石田竜弘 先生に深く御礼申し上げます。

同じく、副査として、的確な御指導、御鞭撻を賜りました徳島大学大学院医歯薬学研究部 衛生薬学分野 教授 小暮健太郎 先生に厚く御礼申し上げます。

本学位論文の執筆及び審査に際し、多大なるお時間を割いて頂き、幾多の有益な御助言、御鞭撻、御支援を賜りました徳島大学大学院医歯薬学研究部 創薬理論化学分野 教授 立川正憲 先生に謹んで深く感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり、広範な知識及び経験に基づく数多くの御指導、御支援を頂きました、元エーザイ株式会社 グローバル薬物動態研究部 草野一富 博士に心から感謝の意を表します。

代謝物構造解析に関する深い知識と経験に基づく的確な御支援、御協力を頂きましたエーザイ株式会社 グローバル薬物動態研究部 石田知己 博士、PBPK モデル解析に関する数々の御助言、御支援を頂きました同 グローバル薬物動態研究部 宮嶋之子 氏、経細胞輸送評価に関する豊富な経験と知識に基づく御支援を頂きました同 インテグリティ&サイトマネジメント総括部 DRA 室 亀山毅明 氏に深く御礼申し上げます。

長年にわたり、レンボレキサント開発に向けて共に奮闘し、有益な御討論、御支援を頂きました元エーザイ株式会社 ニューロロジービジネスグループ ディスカバリー筑波研究部 ボイクマン・カーステン 博士、エーザイ株式会社 グローバル安全性研究部 朝倉省二 博士、同 グローバルレギュラトリーサブミッション部 日本・アジアサブミッションマネジメント室 鈴木成教 博士、Eisai Inc. Jagadeesh Aluri 氏、同 Bojan Lalovic 博士、元 Eisai Inc. Ishani Landry 博士、同 Edgar Schuck 博士に厚く御礼申し上げます。

本研究を進めるにあたり、日頃から御支援、御協力を賜りましたエーザイ株式会社 グローバル薬物動態研究部の皆様に感謝の意を表します。

最後に、本研究の遂行や本学位論文の執筆にあたって、深い理解を示し、常に応援してくれた妻 裕子、娘 詩織、息子 誠人に心より感謝致します。