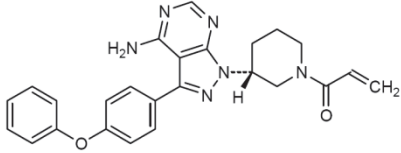
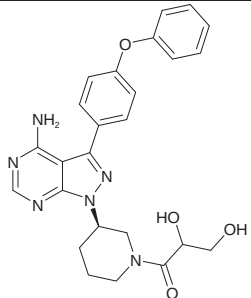


目次

2.6.4	薬物動態試験の概要文	4
2.6.4.1	まとめ	4
2.6.4.2	分析法	10
2.6.4.3	吸収	13
2.6.4.4	分布	21
2.6.4.5	代謝	32
2.6.4.6	排泄	57
2.6.4.7	薬物動態学的薬物相互作用	58
2.6.4.8	その他の薬物動態試験	64
2.6.4.9	考察及び結論	64
2.6.4.10	図表	68
2.6.4.11	参考文献	68
2.6.5	薬物動態試験概要表	1

略号一覧表

略号又は略称	化学名又は一般名	構造式	由来
イブルチニブ (PCI-32765, JNJ-54179060)	1-[(3R)-3-[4-Amino-3-(4-phenoxyphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl]piperidin-1-yl]prop-2-en-1-one		主薬
PCI-45227 (JNJ-54243761)	ジヒドロジオール体 (M37)		代謝物

略号又は略称	名称及び内容
AGP	α_1 -酸性糖たん白質 (α_1 -acid glycoprotein)
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve)
AUC _∞	0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinite time)
AUC _{last}	0 時間から最終定量可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last quantifiable time)
AUC _t	0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve from time zero to time t)
BCRP	乳癌耐性たん白質 (breast cancer resistance protein)
BTK	ブルトン型チロシンキナーゼ (Bruton's tyrosine kinase)
BSA	ウシ血清アルブミン (bovine serum albumin)
C _{max}	最高濃度 (maximum concentration)
CHO	チャイニーズハムスター卵巣 (Chinese hamster ovary)
CL	全身クリアランス (total body clearance)
CL _{int}	固有クリアランス (intrinsic clearance)
CV%	変動係数 (coefficient of variation)
CYP	チトクローム P450 (cytochrome P450)
F	絶対的バイオアベイラビリティ (absolute bioavailability)
F _g	消化管細胞に吸収後門脈血に到達する割合 (fraction of absorbed dose escaping gutwall extraction)
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (Good Laboratory Practice)
HP- β -CD	hydroxypropyl- β -cyclodextrin
HSA	ヒト血清アルブミン (human serum albumin)
[I]	阻害剤の濃度 (inhibitor concentration)
IC ₅₀	50%阻害濃度 (50% inhibitory concentration)
K _i	阻害定数 (inhibition constant)
K _m	ミカエリス定数 (Michaelis constant)
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー－タンデム質量分析 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry)

略号又は略称	名称及び内容
MDR1-LLC-PK1 細胞	P-糖たん白質を発現させた LLC-PK1 細胞 (P-glycoprotein transfected LLC-PK1 cell)
MDR1-MDCK 細胞	P-糖たん白質を発現させた MDCK 細胞 (P-glycoprotein transfected MDCK cell)
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (還元型) (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form))
OAT	有機アニオントランスポーター (organic anion transporter)
OATP	有機アニオン輸送ポリペプチド (organic anion transporting polypeptide)
OCT	有機カチオントランスポーター (organic cation transporter)
P_{app}	みかけの透過係数 (apparent permeability)
PBPK	生理学的薬物速度論 (physiologically-based pharmacokinetic(s))
P-gp	P-糖たん白質 (P-glycoprotein)
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー (quantitative whole-body autoradiography)
SLS	ラウリル硫酸ナトリウム (Sodium lauryl sulfate)
$t_{1/2}$	消失半減期 (elimination half-life)
TK	トキシコキネティクス (toxicokinetics)
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間 (time to reach the maximum plasma concentration)
UPLC	超高速液体クロマトグラフィー (ultra performance liquid chromatography)
V_c	中枢コンパートメントの分布容積 (volume of distribution of the central compartment)
$V_{d_{ss}}$	定常状態における分布容積 (volume of distribution at steady state)
V_{max}	最大速度 (maximum velocity)

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

イブルチニブ（報告書内では PCI-32765 又は JNJ-54179060 と表記）は、求電子性アクリロイル基を有する分子量 440.5（遊離塩基）のブルトン型チロシンキナーゼ（BTK）阻害剤であり、活性部位のシステイン残基（Cys-481）と共有結合することにより、BTK を強力かつ持続的に阻害する¹⁾。

イブルチニブはキラル化合物の *R*-エナンチオマーであり、*S*-エナンチオマー（PCI-32769）も原薬中に低濃度（■%以下）の不純物として存在するものの【2.6.7.4 参照】、その活性は *R*-エナンチオマーの活性の約 1/3.6 であった【2.6.2.2.1 参照】。非臨床薬物動態試験に用いたイブルチニブの ¹⁴C 標識体（¹⁴C-イブルチニブ）は、*R* 及び *S*-エナンチオマーのラセミ混合物（報告書内では ¹⁴C-PCI-31523 と表記）又は単独の *R*-エナンチオマーとして合成された。

PCI-45227（報告書内では JNJ-54243761 と表記、M37）は実験動物種及びヒトの血漿中に認められたイブルチニブの主要な代謝物（ジヒドロジオール体代謝物）であり、BTK に対する活性は、イブルチニブの約 1/15 であった【2.6.2.2.3 参照】。PCI-45227（M37）は、イブルチニブのアクリロイル基（BTK の活性部位の Cys-481 との共有結合形成に関与）の酸化及び加水分解により生成することから【2.6.4.5 参照】、その BTK に対する結合は可逆的であると考えられる。

その他のヒト血漿中主要代謝物である、M23（アミド加水分解体）、M25（ピペリジン環の酸化的開環及びカルボン酸への酸化体）及び M34（ピペリジン環の酸化的開環及び第一級アルコールへの還元体）の BTK に対する活性は、それぞれイブルチニブの約 1/80、1/2000 及び 1/200 であった【2.6.2.2.3 参照】。M23 はアクリロイル基を有さず、BTK に対する結合は可逆的であると考えられるが、M25 及び M34 はアクリロイル基を有し、理論上 BTK と不可逆的に結合する可能性が考えられる。なお、ヒト主要代謝物の一つである M21（末端フェニル基水酸化体の硫酸抱合体）については代謝物標品が入手できなかったことから、*in vitro* 試験での評価は実施しなかった。

イブルチニブの *in vivo* 試験では、マウス、ラット、ウサギ及びイヌを用いて経口又は静脈内投与薬物動態試験を実施した。マウスではイブルチニブを腹腔内又は皮下投与、ラットではイブルチニブを腹腔内又は皮下投与、若しくは PCI-45227（M37）を静脈内投与したときの薬物動態も検討した。また、主要な毒性試験（一般毒性試験、胚・胎児発生に関する試験及び免疫毒性試験）において、イブルチニブ及び PCI-45227（M37）のトキシコキネティクス（TK）を検討した（TK については【2.6.6】及び【2.6.7】も参照）。さらに、¹⁴C-イブルチニブ（ラセミ混合物又は *R*-エナンチオマー）を Lister Hooded、Long Evans 及び Sprague-Dawley ラット並びにビーグル犬に投与し、分布、代謝又は排泄について検討した。

ほとんどの試験で、被験物質は 1%メチルセルロース及び 0.1%ラウリル硫酸ナトリウム（SLS）（並びに 0.4% Cremophor[®] EL 含有又は非含有）懸濁液、0.5%メチルセルロース及び 0.1% SLS 懸濁液、若しくは 10 又は 20% hydroxypropyl-β-cyclodextrin（HP-β-CD）溶液として投与したが、一部のイヌを用いた試験では粉末充填カプセル製剤として投与した。なお、げっ歯類の単回投与薬物動態試験では非微粉化イブルチニブを、ラット及びイヌの反復投与 TK 試験では微粉化イブルチニブを使用した。イヌの単回投与薬物動態試験で使用したカプセル製剤の大部分は、微粉化イブルチニブを用いて調製した。

イブランチニブの *in vitro* 試験では、血漿中安定性（ラット、イヌ及びヒト）、血漿たん白結合及び血球移行（マウス、ラット、イヌ及びヒト）、肝ミクロソーム（ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト）、肝細胞（ラット、ウサギ、イヌ及びヒト）及びヒトチトクローム P450（CYP）発現系における代謝、ヒト CYP 分子種に対する阻害能、Caco-2 細胞及び P-糖たん白質（P-gp）を発現させた MDCK 細胞（MDR1-MDCK 細胞）単層膜を用いた細胞膜透過性、トランスポーター発現細胞又は反転膜小胞を用いた P-gp、乳癌耐性たん白質（BCRP）、有機アニオントランスポート（OAT）1、OAT3、有機カチオントランスポート（OCT）2、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 阻害能、並びにヒト肝細胞を用いた CYP 誘導能を評価した。

ヒト主要代謝物 [M23, M25, M34 及び PCI-45227 (M37)] についても同様の *in vitro* 試験を実施し、血漿たん白結合、ヒト CYP 分子種に対する阻害能、Caco-2 細胞及び MDR1-MDCK 細胞単層膜を用いた細胞膜透過性 [PCI-45227 (M37) のみ]、トランスポーター発現細胞又は反転膜小胞を用いた P-gp、BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 阻害能並びにヒト肝細胞を用いた CYP 誘導能 [PCI-45227 (M37) のみ] を評価した。

また、ヒト CYP 発現系及びヒト肝ミクロソームを用いて、イブランチニブの代謝に関与する CYP 分子種を同定した。イブランチニブ及びその主要代謝物が P-gp 並びに OATP1B1、OATP1B3 及び OATP2B1 [イブランチニブ及び PCI-45227 (M37) のみ] の基質となるかについても検討した。さらに、ラット又はヒト由来の BTK、血漿たん白質、アルブミン、ヘモグロビン及び CYP に対するイブランチニブの共有結合形成能を評価し、イブランチニブがワルファリンのたん白結合に影響を及ぼす可能性についてヒト血漿を用いて検討した。

非臨床薬物動態試験の一覧を【2.6.5.1】に示す。

2.6.4.1.1 吸収

Caco-2 細胞及び MDR1-MDCK 細胞単層膜を用いた *in vitro* 試験において、イブランチニブの細胞膜透過性は吸収及び排出の双方向に高く、P-gp の基質ではないことが示された。

マウス、ラット及びイヌにイブランチニブを単回経口投与したときの吸収は速やかで、最高血漿中濃度到達時間 (t_{max}) は、げっ歯類で 0.08～2.5 時間、イヌで 0.50～4.0 時間であった。ラット及びイヌにイブランチニブを水性懸濁液又は粉末充填カプセル製剤として単回経口投与したときの絶対的バイオアベイラビリティ (F) は 3.8～24.7% であり、経口投与時のイブランチニブの曝露量 [血漿中濃度－時間曲線下面積 (AUC)] に、一貫した食餌の影響は認められなかった。イヌに微粉化イブランチニブ充填カプセル製剤を単回経口投与したときの曝露量は、非微粉化イブランチニブを投与したときに比べて約 2 倍高値であった。また、イヌ（絶食下）にイブランチニブを 11 又は 100 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与したときの曝露量は、懸濁液又はカプセル製剤として経口投与したときに比べ、約 2～8 倍高値であった。

ラット及びイヌにイブランチニブを単回経口投与したとき、最終相の消失半減期 ($t_{1/2}$) は、それぞれ 0.98～4.65 及び 1.58～6.38 時間であった。薬効用量 (10 mg/kg) のイブランチニブを経口投与した薬物動態試験では、イブランチニブの曝露量に明確な性差は認められなかった。また、血漿中 PCI-45227 (M37) の t_{max} はそれぞれ 0.56 及び 1.00～1.75 時間、最終相の $t_{1/2}$ はそれぞれ 1.30 及び 2.05～3.84 時間であった。ラット及びイヌにおいて、0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時

間曲線下面積 (AUC_{∞}) の PCI-45227 (M37) /未変化体比は約 0.5~1.1 であり、明確な種差は認められなかった。

マウス、ラット及びイヌにイブルチニブを単回静脈内投与したとき、イブルチニブの血漿中濃度は概して二相性に低下し、全身クリアランス (CL) はマウスで 6.24 L/h/kg, ラットで 2.23~2.92 L/h/kg, イヌで 1.92~2.43 L/h/kg であった。また、各動物種において中枢コンパートメントの分布容積 (V_d) は 0.531~3.88 L/kg, 定常状態における分布容積 (V_{dss}) は 1.89~5.76 L/kg であった。

ラットに PCI-45227 (M37) を単回静脈内投与したときの PCI-45227 (M37) の CL は 1.02 L/h/kg, V_{dss} は 1.49 L/kg であった。また、ラットにイブルチニブを単回静脈内投与したときの AUC_{∞} の PCI-45227 (M37) /未変化体比は 0.08 であった。これは、経口投与時に比べ極めて低く、経口投与時には PCI-45227 (M37) の多くが初回通過効果により生成したことが示唆された。一方、ラットにイブルチニブを単回経口投与したとき、循環血漿中イブルチニブの AUC_{∞} は門脈血漿中イブルチニブの AUC_{∞} より約 60% 低値であった。また、静脈内投与時の循環血漿中イブルチニブの AUC_{∞} と比較して、経口投与時の門脈血漿中イブルチニブの AUC_{∞} (用量で標準化) は約 1/2 であった。さらに、経口投与時の門脈血漿中 PCI-45227 (M37) の曝露量は、循環血漿中 PCI-45227 (M37) の曝露量と同程度であった。これらのことから、ラットのイブルチニブ代謝には消化管及び肝臓の両方が関与していることが示唆され、ラットに経口投与したときの PCI-45227 (M37) の生成には、消化管による代謝が大きく関与するものと考えられる。

ラット及びイヌを用いた 4 及び 13 週間反復経口投与毒性試験並びにラットを用いた免疫毒性試験において、イブルチニブ (4 及び 13 週間試験並びに免疫毒性試験で測定) 及び PCI-45227

(M37) (13 週間試験及び免疫毒性試験で測定) の曝露量は、おおむねイブルチニブの用量の増加とともに増加した。また、反復経口投与時のイブルチニブの曝露量は、単回投与時に比べてわずかに増加した。ラットに 30 mg/kg 以上の用量を経口投与したとき、イブルチニブの曝露量は雌性の方が雄性より高値であった [最高濃度 (C_{max}) : 最大 3 倍, 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{24}) : 最大 8 倍] もの、イヌでは経口投与時のイブルチニブの曝露量に顕著な性差は認められなかった。ラット及びイヌにおける定常状態での AUC の PCI-45227 (M37) /未変化体比は 0.14~1.00 であった。

2.6.4.1.2 分布

雄性 Long Evans ラットに ^{14}C -イブルチニブ (ラセミ混合物) を単回経口投与した定量的全身オートラジオグラフィ (QWBA) 試験, 及び雄性 Lister Hooded ラットに ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を単回経口投与した QWBA 試験では同様の結果が得られた。最高組織内放射能濃度は、ほとんどの組織 (血漿を含む) において投与 1 時間後に認められ、大部分の組織では放射能濃度が血漿に比べて低く、各測定時点における放射能の分布パターンはおおむね同様であった。

放射能濃度は主に腎臓、肝臓、消化管及び膀胱壁などの排泄器官、並びに副腎で高かった。一方、眼及び一部の中枢神経系組織 (脳及び脊髄) での放射能濃度は低く、イブルチニブ由来物質は血液脳関門を通過しにくいことが示された。血液及び血漿中放射能は緩徐に消失し、投与 168

時間後においても低濃度の放射能が認められた。排泄器官（腎臓及び肝臓），副腎，脾臓，脾臓及び有色皮膚並びに血液における放射能の消失は，血漿中に比べ緩徐であった。

各動物種（マウス，ラット及びイヌ）及びヒトの血漿において，イブルチニブの *in vitro* 血漿たん白結合率は 96.2～99.7%であった。マウス及びラットではたん白結合に若干の濃度依存性が認められたものの，その他の種では認められなかった。ヒト血漿中において，イブルチニブ及びその主要代謝物は主にヒト血清アルブミン（HSA）と結合し， α_1 -酸性糖たん白質（AGP）とも結合することが示された。また，肝機能正常被験者と比較して，重度肝機能障害被験者におけるイブルチニブの血漿たん白結合率の低下はわずかであった。M23，M25，M34 及び PCI-45227

（M37）の *in vitro* ヒト血漿たん白結合率はそれぞれ 92.3，74.5，77.1 及び 91.0%であった。 ^{14}C -イブルチニブ（ラセミ混合物又は *R*-エナンチオマー）は，薬理学的標的たん白質であるヒト BTK に対して，強力かつ不可逆的に結合した。標的として想定されていないオフターゲットのたん白質（ヒト CYP，HSA，ラット及びヒトのヘモグロビン，血漿及び肝ミクロソームたん白質，並びにヒト肝 S9）に対する共有結合の程度は十分に小さく，標的たん白質である BTK に対する選択性が示された。

ラット及びイヌに ^{14}C -イブルチニブ（*R*-エナンチオマー）を単回経口投与したとき，放射能の血液/血漿中濃度比は投与 1 時間後で約 0.7 であり，ラットでは投与 48 時間後までに 1.0 以上に増加した。また，ラット，イヌ及びヒトの血漿並びにラット及びイヌの血球中において，総放射能（共有結合したもの及び共有結合していないものの両者を含む）の消失は，共有結合放射能の消失に比べて速やかであった。 $C_{\max}$ を比較すると，ヒト血漿中の共有結合放射能は，総放射能の約 12%であった。

2.6.4.1.3 代謝

ラット，イヌ及び健康被験者に ^{14}C -イブルチニブ（*R*-エナンチオマー）を単回経口投与したとき， ^{14}C -イブルチニブは顕著に代謝された。ラット，イヌ及びヒトにおいて，イブルチニブの主要な代謝経路は（1）末端フェニル基の水酸化（M35），（2）ピペリジン環の酸化的開環及びそれに続く第一級アルコールへの還元（M34）又はカルボン酸への酸化（M25），（3）アクリロイル基のエチレンのエポキシ化及びそれに続く加水分解によるジヒドロジオール体（M37：PCI-45227）の生成又はグルタチオン抱合（イヌのみ）であった。また，その他の代謝物のほとんどはこれらの主要経路の組合せ又は更に下流の二次的な代謝により生成した。

ラット血漿中主要成分は，投与 1 時間後までは未変化体であったが，それ以降は代謝物であった。ラット血漿中には，主に M15（二酸素付加体のグルクロン酸抱合体），M5（二酸素付加体のグルクロン酸抱合及びシステイン抱合体）及び PCI-45227（M37）が認められた。また，イヌ血漿中には，主に PCI-45227（M37），M34，M35，M21（M35 の硫酸抱合体）及び M31（アクリロイル基のエチレンのグルタチオン抱合体由来代謝物）が認められた。一方，ヒトマスバランス試験において，血液中及び血漿中には，主に M21，M25，M34，PCI-45227（M37）及び未変化体が認められた。また，非標識体のイブルチニブを単回又は反復投与した試験では，ヒト血漿中総薬物関連物質の AUC の 10%を超える，又は反復投与により 10%程度となる主要代謝物として，M21，M23，M25，M34 及び PCI-45227（M37）が示唆された。

ラット、イヌ及びヒトの尿中には代謝物由来の低濃度の放射能が排泄されたが、未変化体はほとんど（イヌ）又は全く（ラット及びヒト）認められなかった。

ラット胆汁中では、主に第Ⅰ相代謝物のグルクロン酸抱合体又は硫酸抱合体が認められた。主要代謝物は硫酸抱合代謝物である M21 であり、未変化体は認められなかった。胆管カニュレーションしていない無処置ラットでは、第Ⅰ相代謝物が糞中に認められたことから、胆汁中に排泄された抱合体が腸内細菌叢により脱抱合を受けた可能性が高いことが示唆された。

ラット糞中代謝物のプロファイルは雌雄で類似しており、主要代謝物は M35、M34 及び M17（M34 のフェニル基の水酸化体）であった。また、イヌ糞中の主要代謝物は、M35、M17 及び M21 であった。一方、ヒト糞中の主要代謝物は M11（M25 のフェニル基の水酸化体）、M17、M20（M25 の脂肪族炭素の水酸化体）、M24（M34 及び M37 経由の両経路の組合せ）、M25、M29（M34 の脂肪族炭素の水酸化体）、M34、M36（M35 のアクリロイル基のジヒドロ化体）及び PCI-45227（M37）であった。無処置及び胆管カニュレーションしたラット、並びにイヌ及びヒトの糞中に未変化体はわずか（投与放射能の 3%未満）であり、多量の酸化代謝物が認められたことから、（1）経口投与後のイブランチニブのほぼ完全な吸収、（2）著しい代謝（消化管及び肝臓）、（3）代謝物の消化管内への分泌及び胆汁中排泄、（4）抱合体の腸内細菌叢による脱抱合、が示唆された。

また、実験動物及びヒトの *in vivo* で、エナンチオマー間のキラル変換はほとんど起こらないことが示された。

ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた *in vitro* 試験において、¹⁴C-イブランチニブ（R-エナンチオマー）の代謝は顕著であった。¹⁴C-イブランチニブの *in vitro* 代謝経路は、すべての動物種で定性的に類似しており、ヒト代謝物はすべて他の動物種の試料でも認められ、ヒト特異的な代謝物はなかった。ヒト肝細胞で認められた *in vitro* 代謝物は、ヒトマスバランス試験で認められた *in vivo* 血漿中代謝物とよく一致した。

イブランチニブは主に CYP3A4 によって代謝され、CYP3A5 の関与の程度は小さいことが示唆された。このことから、CYP3A4 の阻害剤又は誘導剤との併用投与は、イブランチニブの薬物動態に影響を及ぼす可能性が考えられる。

2.6.4.1.4 排泄

ラット及びイヌに ¹⁴C-イブランチニブ（R-エナンチオマー）を単回経口投与したとき、放射能は主に糞中（いずれも約 90%）に排泄され、尿中への排泄はわずか（ラット：2%未満、イヌ：約 3%）であった。放射能の排泄経路及び排泄率に顕著な性差は認められなかった。また、胆管カニュレーションしたラットに ¹⁴C-イブランチニブ（R-エナンチオマー）を単回経口投与したとき、胆汁は主要な排泄経路（投与放射能の 47%が排泄）であった。いずれの種においても、尿中に未変化体はほとんど又は全く排泄されず、糞中に排泄された未変化体もわずか（投与放射能の 3%未満）であった。

健康被験者でも同様の結果が認められ、¹⁴C-イブランチニブ（R-エナンチオマー）を単回経口投与したとき、放射能は主に糞中（80.6%）に排泄され、尿中への排泄は少なかった（7.8%）。ヒト糞中に排泄された未変化体は投与放射能の 0.77%であった【2.7.2.2.1.1 (1)参照】。

2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用の可能性

In vitro において、イブルチニブはワルファリンの血漿たん白結合に影響を及ぼさなかった。

イブルチニブは CYP3A4/5 及び CYP2B6 を誘導せず、10 µmol/L までの名目濃度で濃度非依存的に CYP1A2 の mRNA を誘導したものの、活性には顕著な影響を及ぼさなかった。一方、PCI-45227 (M37) は CYP1A2 を誘導せず、10 µmol/L までの名目濃度で濃度非依存的に CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA を誘導したものの、活性には顕著な影響を及ぼさなかった。また、臨床試験において、イブルチニブ反復投与時の曝露量は単回投与時の曝露量から予測可能であることから、イブルチニブの臨床使用時に CYP3A 活性は顕著に変動しないことが示唆された。

臨床使用時の血漿中 C_{max} を考慮すると、イブルチニブ及びその主要代謝物による生体内での CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 及び CYP3A4/5 の阻害を介した臨床的に意味のある薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。イブルチニブ経口投与後の消化管上部では一時的にイブルチニブ濃度が高くなることが考えられるが、生理学的薬物速度論 (PBPK) モデルを用いて、ミダゾラムを 1 mg の用量で経口投与したときの薬物動態に及ぼすイブルチニブによる CYP3A 阻害の影響を検討したところ、ミダゾラムの曝露量増加は 2 倍未満であると予測された。

イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) は、*in vitro* において OATP1B1, OATP1B3 及び OATP2B1 の基質ではなかった。また、イブルチニブ及び M25 は P-gp の基質ではなかったが、M23, M34 及び PCI-45227 (M37) は P-gp の基質であった。

臨床使用時の血漿中 C_{max} を考慮すると、イブルチニブ及びその主要代謝物による生体内での OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, P-gp 及び BCRP 阻害を介した臨床的に意味のある薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。また、PBPK による予測から、経口投与後の消化管細胞内の非結合型イブルチニブ濃度が P-gp 又は BCRP の 50%阻害濃度 (IC_{50}) 値を上回るのは、投与後 1.5 時間の回腸上部に至るまでのみであることが示唆され、イブルチニブによる消化管での P-gp 及び BCRP 阻害の影響は顕著ではないと考えられる。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 非標識体

イブルチニブの非臨床薬物動態及び TK 試験において、血漿試料中のイブルチニブ及びその代謝物 PCI-45227 (M37) を定量するために、液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法を開発した。なお、特に明記しない限り、キラル分割しない分析法を用いた。

2.6.4.2.1.1 GLP 試験での分析

【評価資料 4.2.2.1.1, 4.2.2.1.2, 4.2.2.1.3, 4.2.2.1.4, 4.2.2.1.5】

医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP) 準拠の TK 試験における血漿試料の分析には、米国食品医薬品局の生体試料分析法ガイダンス¹に従ってバリデートされた LC-MS/MS 法を用いた。各定量法の定量範囲及び安定性に関する情報を表 2.6.4-1 及び表 2.6.4-2 に示す。

最初にバリデートされた定量法では、アセトニトリルによる除たん白を行い、イブルチニブの構造類似体である PCI-31431 を内標準物質として使用して、ラット及びイヌのヘパリン添加血漿中イブルチニブを定量した【4.2.2.1.1 参照】。

次にバリデートされた定量法でも、アセトニトリルによる除たん白を行い、PCI-31431 を内標準物質として使用して、ラット及びイヌのヘパリン添加血漿中イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) を定量した【4.2.2.1.2, 4.2.2.1.3 参照】。

最後にバリデートされた定量法では、アセトニトリルによる除たん白を行い、安定同位体で標識した[D₅]-イブルチニブ及び[D₅]-PCI-45227 を内標準物質として使用して、ラットヘパリン添加血漿中イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) を定量した【4.2.2.1.4 参照】。また、同様の定量法をバリデートし、マウスヘパリン添加血漿中イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) を定量した【4.2.2.1.5 参照】。

¹ : Guidance for Industry : Bioanalytical Method Validation. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER) and Center for Veterinary Medicine (CVM), May 2001

表 2.6.4-1 血漿中イブルチニブ濃度定量法バリデーシヨンの概要

Species	Anticoagulant	Validated Range (ng/mL)	Stability Time		F/T Cycles	Study Reference	Supported GLP Studies
			RT/ice (h)	LTS at -20/-70°C (days)			
Rat	Na Heparin	1.00 – 100; 0.050 – 1.00	-/6	-/68	4	【4.2.2.1.1】	28-Day Study
Dog	Na Heparin	1.00 – 100; 0.050 – 1.00	-/6	-/76	4	【4.2.2.1.1】	28-Day Study
Rat	Na Heparin	1.00 - 1000	6/-	-/212	4	【4.2.2.1.2】	13-Week Study
Dog	Na Heparin	1.00 - 1000	6/-	-/204	4	【4.2.2.1.3】	13-Week Study
Rat	Na Heparin	1.00 - 200	16/16	212/212	4	【4.2.2.1.4】	Embryo/Fetal Development Study, Immunotox Study
Mouse	Na Heparin	1.00 - 500	18/18	57/57	3	【4.2.2.1.5】	Mouse Micronucleus Assay

F/T = freeze/thaw; LTS = long-term stability; Na heparin = sodium heparin; RT = room temperature; - = Not tested

表 2.6.4-2 血漿中 PCI-45227 (M37) 濃度定量法バリデーシヨンの概要

Species	Anticoagulant	Validated Range (ng/mL)	Stability Time		F/T Cycles	Study Reference	Supported GLP Studies
			RT/ice (h)	LTS at -20/-70°C (days)			
Rat	Na Heparin	1.00 - 1000	6/-	-/149	4	【4.2.2.1.2】	13-Week Study
Dog	Na Heparin	1.00 - 1000	6/-	-/149	4	【4.2.2.1.3】	13-Week Study
Rat	Na Heparin	1.00 - 200	16/16	212/212	4	【4.2.2.1.4】	Embryo/Fetal Development Study, Immunotox Study
Mouse	Na Heparin	1.00 - 500	18/18	57/57	3	【4.2.2.1.5】	Mouse Micronucleus Assay

F/T = freeze/thaw; LTS = long-term stability; Na heparin = sodium heparin; RT = room temperature; - = Not tested

2.6.4.2.1.2 非 GLP 試験での分析

【評価資料 4.2.2.1.6, 4.2.2.4.20】

非 GLP の非臨床薬物動態試験では、事前に設定した基準を満たした頑健な LC-MS/MS 法 (qualified research method) を用いた【4.2.2.1.6 参照】。

ヘパリン添加血漿中イブルチニブの定量下限はマウス、ラット及びイヌで 0.3~1 ng/mL, ウサギで 1 ng/mL であり, PCI-45227 (M37) の定量下限はラット及びウサギで 1 ng/mL, イヌで 0.3~1 ng/mL であった。

一方, キラル定量法では, ラット, イヌ及びヒトのヘパリン添加血漿中イブルチニブ及びその *S*-エナンチオマーである PCI-32769 を定量した【4.2.2.4.20 参照】。イブルチニブ及び PCI-32769 の定量下限は, ラットにおいてそれぞれ 2 及び 0.4 ng/mL であり, イヌ及びヒトにおいていずれも 0.1 ng/mL であった。

2.6.4.2.2 標識体

^{14}C -イブルチニブはラセミ混合物又は *R*-エナンチオマー (図 2.6.4-1) として合成し, *in vitro* 及び *in vivo* 試験に用いた。

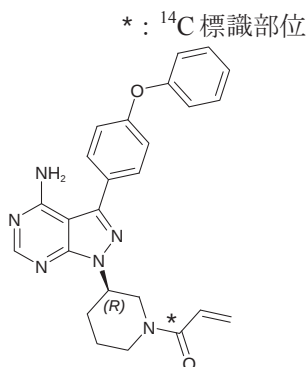


図 2.6.4-1 ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) の化学構造式

^{14}C -イブルチニブの ^{14}C 標識位置の適切性 (代謝安定性) は, 雄性ラットにおいて投与 24 時間後までに呼気から投与放射能の 0.43% しか回収されなかったことにより確認された【4.2.2.4.8 参照】。

ラットにラセミ混合物又は *R*-エナンチオマーの ^{14}C -イブルチニブを投与した組織分布の検討において, QWBA の定量下限はそれぞれ 0.0848 又は 0.033 $\mu\text{g eq./g}$ であった。液体シンチレーションカウンタ測定時の定量下限は, バックグラウンド値の 2 倍とした。

一方, ヒトを対象としたイブルチニブ経口投与時の絶対的バイオアベイラビリティ試験を実施するにあたり, 安定同位体標識イブルチニブ ($[\text{D}_5]$ -イブルチニブ) が利用可能であるかを評価するために, イブルチニブの薬物動態に及ぼす同位体効果の影響について *in vitro*【4.2.2.4.3 参照】及び *in vivo*【4.2.2.4.10 参照】で検討した。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 *In vitro* 試験

【評価資料 4.2.2.2.1, 4.2.2.2.2, 4.2.2.2.3】

Caco-2 細胞及びMDR1-MDCK 細胞単層膜を用い、イブルチニブの頂側膜側から側底膜側（A→B）及び側底膜側から頂側膜側（B→A）方向への細胞膜透過性について、P-gp 阻害剤であるベラパミル及びシクロスポリン A の存在下又は非存在下で評価した【2.6.5.3A（4.2.2.2.1）参照】。その結果、イブルチニブは双方向に高い透過性を示し、P-gp 阻害剤非存在下において A→B 及び B→A 方向のみかけの透過係数（ P_{app} ）は、Caco-2 細胞ではそれぞれ 57.9×10^{-6} 及び 7.55×10^{-6} cm/s、MDR1-MDCK 細胞では 54.1×10^{-6} 及び 29.4×10^{-6} cm/s であった。また、いずれの条件においてもイブルチニブの P_{app} は P-gp 阻害剤の有無による影響を受けず、イブルチニブは P-gp の基質ではないことが示された。ベラパミルの存在下及び非存在下で A→B 方向の透過性を検討したとき、イブルチニブの回収率はそれぞれ 21.4 及び 25.0% であったが、この原因として、イブルチニブの（1）細胞への結合、（2）低い水溶性、又は（3）細胞による代謝、が考えられる。

また別試験において、たん白結合及び代謝を考慮に入れたときの ^{14}C -イブルチニブの P_{app} について、Caco-2 細胞単層膜を用いて評価した【2.6.5.3A（4.2.2.2.2）参照】。その結果、A→B 方向の P_{app} は、CYP3A 阻害剤であるケトコナゾール又はウシ胎児血清の添加の有無によらず同程度（約 35×10^{-6} cm/s）であった。なお、インキュベーション終了後、頂側膜側及び側底膜側の溶液を分析したところ、イブルチニブの代謝が認められ、これが先の試験で認められた低いイブルチニブの回収率の原因となった可能性が示唆された。

一方、PCI-45227（M37）の細胞膜透過性についても、Caco-2 細胞及びMDR1-MDCK 細胞単層膜を用いて、P-gp 阻害剤であるシクロスポリン A の存在下又は非存在下で評価した【2.6.5.3A（4.2.2.2.3）参照】。その結果、Caco-2 細胞において、PCI-45227（M37）の efflux ratio（ P_{app} の B→A/A→B 比）は 2.01 であり、能動的な排出の可能性が示唆された。また、MDR1-MDCK 細胞において、シクロスポリン A 存在下で efflux ratio が 53.3 から 0.883 に低下したことから、PCI-45227（M37）が P-gp の基質であることが示唆された。

2.6.4.3.2 *In vivo* 試験

2.6.4.3.2.1 マウス

雌性 CD1 マウス又は雄性 DBA/10IaHsd マウス（II 型コラーゲン誘発関節炎の動物モデル）にイブルチニブを単回投与し、血漿中イブルチニブの薬物動態を検討した。

(1) 単回投与

【評価資料 4.2.2.2.4, 4.2.2.2.5, 4.2.1.2.7】

1) 経口投与

雌性マウスにイブルチニブを 3.31 及び 14.2 mg/kg の用量で懸濁液として単回経口投与したとき、イブルチニブの吸収は速やかで t_{max} は 0.08～0.33 時間であり、最終相の $t_{1/2}$ は 1.71～3.10 時間であった（表 2.6.4-3）【2.6.5.3B（4.2.2.2.4）参照】。 AUC_{∞} 及び C_{max} 値は用量増加に伴い増加した。30 mg/kg 静脈内投与時の AUC_{∞} と比較（用量で標準化）した F は、3.31 及び 14.2 mg/kg 投

与群でそれぞれ 7.8 及び 25.2%であった。また同様に、雄性マウスにイブルチニブを 12.5 mg/kg の用量で懸濁液として単回経口投与したときの F は 18.0%であり【2.6.5.3B (4.2.1.2.7) 参照】、明確な性差は認められなかった。

2) 静脈内投与

雌性マウスにイブルチニブを 30 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき、イブルチニブは速やかな分布及び消失を示し、 α 相の $t_{1/2}$ は 0.21 時間、 β 相の $t_{1/2}$ は 0.71 時間であった (表 2.6.4-4)【2.6.5.3B (4.2.2.2.5) 参照】。 V_c は 1.88 L/kg, V_{dss} は 1.92 L/kg, CL は 6.24 L/h/kg であった。

3) その他の投与経路

雌性マウスにイブルチニブを 30 mg/kg の用量で溶液として単回腹腔内又は皮下投与したとき、イブルチニブは速やかに吸収され、腹腔内及び皮下投与時の t_{max} はそれぞれ 0.08 及び 0.33 時間であった【2.6.5.3B (4.2.2.2.5) 参照】。腹腔内及び皮下投与時の F はそれぞれ 62.8 及び 93.1%であり、腹腔内投与時には肝初回通過効果を受けることが示唆された。

2.6.4.3.2.2 ラット

雌雄 Sprague-Dawley ラットにイブルチニブを単回又は反復投与、若しくは PCI-45227 (M37) を単回投与し、血漿中イブルチニブ又は PCI-45227 (M37) の薬物動態を検討した。また、 ^{14}C -イブルチニブを単回経口投与して、血漿中放射能の薬物動態を検討した。

(1) 単回投与

【評価資料 4.2.2.2.6, 4.2.2.2.7, 4.2.2.2.8, 4.2.2.2.9, 4.2.2.2.10, 4.2.2.4.8】

1) 経口投与

雌雄ラットにイブルチニブを 10~100 mg/kg の用量で懸濁液として単回経口投与したとき、イブルチニブの全身循環血への吸収は速やかで t_{max} は 0.3~2.5 時間であり、最終相の $t_{1/2}$ は 0.98~4.65 時間であった (表 2.6.4-3)。 C_{max} 及び AUC_{∞} は用量の増加とともに増加したが、個体間変動が大きく、変動係数 (CV%) は、 C_{max} で 22~94%, AUC_{∞} で 16~71%であった。薬効用量である 10 mg/kg 経口投与時には曝露量に明確な性差は認められなかった【2.6.5.3C (4.2.2.2.6, 4.2.2.2.7) 参照】。また、曝露量に食餌の影響は認められず、30 mg/kg 静脈内投与時の AUC_{∞} と比較 (用量で標準化) した F は絶食下投与で 8.5~22.8%, 非絶食下投与で 12.2~24.7%であった【2.6.5.3C (4.2.2.2.6, 4.2.2.2.7, 4.2.2.2.8) 参照】。

雄性ラットにイブルチニブを 10 mg/kg の用量で懸濁液として単回経口投与したとき、PCI-45227 (M37) の t_{max} は 0.56 時間であり、最終相の $t_{1/2}$ は 1.3 時間であった【2.6.5.3C (4.2.2.2.6) 参照】。 AUC_{∞} 及び C_{max} の PCI-45227 (M37) /未変化体比は、それぞれ 1.10 及び 0.64 であった【4.2.2.2.6 参照】。

雌雄ラットに ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を 10 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与したとき、血漿中放射能濃度は投与 1 時間後に C_{max} である 912 ng eq./mL (雄性) 及び 1194 ng eq./mL (雌性) を示した【2.6.5.6C (4.2.2.4.8) 参照】。その後、初期相において放射能濃度は速やかに減少したが、最終相の消失は緩徐であり、投与 48 時間後の血漿中放射能濃度は雄性及び雌性でそれぞれ 65 及び 126 ng eq./mL であった。

2) 静脈内投与

雌雄ラットにイブルチニブを 4 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき、 α 相の $t_{1/2}$ は 0.23～0.44 時間、 β 相の $t_{1/2}$ は 8.56～11.2 時間であり（表 2.6.4-4）、 α 相が総曝露量の大部分を占めた【2.6.5.3C（4.2.2.2.6, 4.2.2.2.7）参照】。また、雄性ラットにイブルチニブを 30 mg/kg の用量で静脈内投与したとき、イブルチニブ濃度は三相性に減少し、 β 相が総曝露量の大部分を占めた【2.6.5.3C（4.2.2.2.9）参照】。 β 相の $t_{1/2}$ は 0.513 時間であり、この値は 4 mg/kg 投与時の α 相の $t_{1/2}$ と同程度であった。 V_c は 0.531～1.46 L/kg、 $V_{d_{ss}}$ は 1.89～2.68 L/kg、CL は 2.23～2.92 L/h/kg であった【2.6.5.3C（4.2.2.2.6, 4.2.2.2.7, 4.2.2.2.9）参照】。また、 AUC_{∞} 及び C_{max} の PCI-45227（M37）/未変化体比はそれぞれ 0.08 及び 0.02 であり、経口投与時に比べ顕著に低かった【2.6.5.3C（4.2.2.2.10）参照】。このことから、経口投与時には初回通過効果で多くの PCI-45227（M37）が生成することが示唆された。

一方、雄性ラットに PCI-45227（M37）を 4 mg/kg の用量で静脈内投与したとき、PCI-45227（M37）の CL 及び $V_{d_{ss}}$ はそれぞれ 1.02 L/h/kg 及び 1.49 L/kg であった【2.6.5.3C（4.2.2.2.10）参照】。

3) その他の投与経路

雄性ラットにイブルチニブを 30 mg/kg の用量で溶液として単回腹腔内又は皮下投与したとき、イブルチニブの吸収は速やかで t_{max} はいずれも 1 時間であった【2.6.5.3C（4.2.2.2.9）参照】。腹腔内及び皮下投与時のイブルチニブの F はそれぞれ 47.3 及び 91.4% であり、マウス同様、腹腔内投与時には顕著な肝初回通過効果を受けることが示唆された。

4) 門脈及び循環血漿における曝露量の比較

雌雄ラットにイブルチニブを 10 及び 30 mg/kg の用量で懸濁液として単回経口投与したときの門脈及び循環血漿中イブルチニブの曝露量を、4 mg/kg の用量で単回静脈内投与時の循環血漿中曝露量と比較した【2.6.5.3C（4.2.2.2.6, 4.2.2.2.7）参照】。また、雄性ラットにイブルチニブを 10 mg/kg の用量で懸濁液として単回経口投与したときの門脈及び循環血漿中 PCI-45227（M37）の曝露量を検討した【2.6.5.3C（4.2.2.2.6）参照】。その結果、経口投与時の循環血漿中イブルチニブの AUC_{∞} は、門脈血漿中イブルチニブの AUC_{∞} より 60% 程度低値であった。また、静脈内投与時の循環血漿中イブルチニブの AUC_{∞} （用量で標準化）と比較して、経口投与時の循環血漿中及び門脈血漿中イブルチニブの AUC_{∞} はそれぞれ平均 19%（範囲 11～25%）及び 51%（範囲 34～73%）であった。一方、イブルチニブ経口投与時の PCI-45227（M37）の曝露量は、門脈及び循環血漿中で同程度であった。これらのことから、イブルチニブ経口投与時の代謝には消化管及び肝臓の両方が関与し、PCI-45227（M37）の生成には消化管での代謝が大きく関与する可能性が考えられる。

(2) 反復投与

【評価資料 4.2.3.2.3, 4.2.3.2.4, 4.2.3.5.2.2, 4.2.3.7.2.1, 参考資料 4.2.3.2.1, 4.2.3.5.2.1】

雌雄ラットを用いたイブルチニブの 4 及び 13 週間反復経口投与毒性試験（懸濁液として投与）において、イブルチニブ及び PCI-45227（M37）（13 週間試験のみ測定）の曝露量は、おおむね用量の増加とともに増加し、また、初回投与時に比べ反復投与時の方がやや高値であった

【2.6.5.4A (4.2.3.2.3, 4.2.3.2.4) 参照】。30 mg/kg 以上の用量では、イブルチニブの曝露量は雌性の方が雄性に比べ高い傾向を示した [$C_{\max}$: 最大 3 倍, AUC_{24} : 最大 8 倍]。反復投与時の AUC_{24} の PCI-45227 (M37) / 未変化体比は 0.24~0.75 であり、100 mg/kg 以上の用量では雄性の方が雌性より 2~3 倍高値であった【4.2.3.2.4 参照】。

妊娠ラットにおけるイブルチニブの曝露量は非妊娠雌性ラットと同様であり、PCI-45227 (M37) の曝露量はイブルチニブと同程度であった【2.6.5.7A (4.2.3.5.2.1, 4.2.3.5.2.2) 参照】。雌性ラットに 33 日間反復経口投与した免疫毒性試験においても、イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) の曝露量はほぼ同様であった【2.6.5.4A (4.2.3.7.2.1) 参照】。

2.6.4.3.2.3 ウサギ

妊娠 New Zealand White ウサギにイブルチニブを反復投与し、血漿中イブルチニブ又は PCI-45227 (M37) の薬物動態を検討した。

(1) 反復投与

【参考資料 4.2.3.5.2.3】

妊娠ウサギにイブルチニブを懸濁液として反復経口投与したとき、イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) の曝露量には、顕著な個体間変動がみられたものの、おおむね用量の増加とともに増加した【2.6.5.7B (4.2.3.5.2.3) 参照】。初回投与時に比べ反復投与時のイブルチニブの曝露量は増加したが、高用量群 (100 mg/kg) で約 4 倍増加した以外、累積は概して軽度であった。PCI-45227 (M37) の曝露量はイブルチニブの曝露量に比べ大きく、反復投与時の PCI-45227 (M37) / 未変化体比は $C_{\max}$ で 4 以下、 AUC_{24} で 7 以下であった【4.2.3.5.2.3 参照】。

2.6.4.3.2.4 イヌ

雌雄ビーグル犬にイブルチニブを単回又は反復投与し、イブルチニブ又は PCI-45227 (M37) の薬物動態を検討した。また、 ^{14}C -イブルチニブを単回経口投与して、血漿中放射能の薬物動態を検討した。

(1) 単回投与

【評価資料 4.2.2.2.11, 4.2.2.2.12, 4.2.3.2.6, 4.2.2.4.11】

1) 経口投与

雌雄イヌにイブルチニブを 10~200 mg/kg の用量で溶液、水性懸濁液又は粉末充填カプセル製剤として単回経口投与したとき、吸収は概して速やかで $t_{\max}$ は給餌条件によらず 0.50~4.0 時間であり、最終相の $t_{1/2}$ は 1.58~6.38 時間であった (表 2.6.4-3)。また、曝露量に顕著な性差は認められなかった【2.6.5.3D (4.2.2.2.11, 4.2.2.2.12) 参照】。

雌雄イヌにイブルチニブを 10 mg/kg の用量で水性懸濁液又は粉末充填カプセル製剤として単回経口投与したとき、曝露量に一貫した食餌の影響は認められず、F は低値 (絶食下投与 : 6.9~10.5%, 食後投与 : 3.8~14.4%) であった【2.6.5.3D (4.2.2.2.11) 参照】。また、微粉化イブルチニブ充填カプセル製剤を単回経口投与したときの曝露量は、非微粉化イブルチニブ充填カプセル製剤を単回経口投与したときと比べて約 2 倍高値であった【2.6.5.3D (4.2.2.2.12) 参照】。粉末充填カプセル製剤を投与したときのイブルチニブの曝露量の個体間変動はイブルチニブの粒子サ

イズに関係なく大きく、CV%は $C_{\max}$ で44～153%、 AUC_{∞} で26～155%であった。絶食下で、イブルチニブを11又は100 mg/kgの用量で溶液として単回経口投与したときの AUC_{∞} は、懸濁液又はカプセル製剤として投与したときに比べて約2～8倍高値であった【2.6.5.3D (4.2.2.2.11, 4.2.2.2.12, 4.2.3.2.6) 参照】。さらに、イブルチニブを200 mg/kgの用量でSLS含有懸濁液として単回経口投与したときの曝露量($C_{\max}$ 及び AUC_{∞})は、SLS非含有懸濁液として単回経口投与したときに比べて4～10倍高値であった【2.6.5.3D (4.2.3.2.6) 参照】。

一方、雌雄イヌにイブルチニブを10 mg/kgの用量で粉末充填カプセル製剤として単回経口投与したとき、PCI-45227 (M37) の $t_{\max}$ は1.00～1.75時間であり、最終相の $t_{1/2}$ は2.05～3.84時間であった【2.6.5.3D (4.2.2.2.11) 参照】。 $C_{\max}$ 及び AUC_{∞} のPCI-45227 (M37) /未変化体比は、それぞれ0.49～0.84及び0.48～0.94であった【4.2.2.2.11 参照】。

雄性イヌに ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を30 mg/kgの用量で溶液として単回経口投与したとき、血漿中放射能濃度は投与1時間後に $C_{\max}$ である5740 ng eq./mLを示した【2.6.5.6C (4.2.2.4.11) 参照】。放射能濃度は投与7時間後まで速やかに減少したが、それ以降の減少は緩徐であり、投与48時間後の血漿中放射能濃度は678 ng eq./mLであった。

2) 静脈内投与

雌雄イヌにイブルチニブを4 mg/kgの用量で単回静脈内投与したとき、 α 相の $t_{1/2}$ は1.04～1.16時間、 β 相の $t_{1/2}$ は14.7～15.3時間であり(表2.6.4-4)、 α 相が総曝露量の大部分を占めた

【2.6.5.3D (4.2.2.2.11) 参照】。 V_c は3.30～3.88 L/kg、 $V_{d_{ss}}$ は4.53～5.76 L/kg、CLは1.92～2.43 L/h/kgであった。イブルチニブを静脈内投与したとき、 AUC_{∞} のPCI-45227 (M37) /未変化体比は0.04～0.11であり、経口投与時に比べ顕著に低かった【4.2.2.2.11 参照】。このことから、経口投与時には初回通過効果で多くのPCI-45227 (M37) が生成することが示唆された。

(2) 反復投与

【評価資料 4.2.3.2.6, 4.2.3.2.8, 4.2.3.2.9】

雌雄イヌを用いたイブルチニブの4及び13週間反復経口投与毒性試験(懸濁液として投与)において、イブルチニブ及びPCI-45227 (M37) (13週間試験のみ測定)の曝露量には顕著な個体間変動が認められたものの一貫した性差は認められず、おおむね用量の増加とともに増加した【2.6.5.4B (4.2.3.2.8, 4.2.3.2.9) 参照】。また、初回投与時に比べ反復投与時の方がやや高値であった。反復投与時の0時間から最終定量可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積(AUC_{last})のPCI-45227 (M37) /未変化体比は0.14～1.00であり、雌雄同程度であった【4.2.3.2.9 参照】。

2.6.4.3.2.5 ヒト

【評価資料 4.2.2.4.12】

健康男性被験者(6例)に ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を140 mgの用量で溶液として単回経口投与したヒトマスバランス試験【2.7.2.2.1.1 (1)参照】において、血漿中放射能濃度は、投与1時間後に $C_{\max}$ である549 ng eq./mLに達した。その後、速やかな初期相消失及び緩徐な最

終相消失を示し、投与 48 時間後の血漿中放射能濃度は 60 ng eq./mL であった【2.6.5.6C (4.2.2.4.12) 参照】。

表 2.6.4-3 実験動物にイブルチニブを単回経口投与したときの薬物動態パラメータ

Species	Study Reference	Feeding Condition	Gender	Dose (mg/kg)	Formulation /Dosage Form	Ibrutinib Powder Form	N	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	AUC _∞ (ng·h/mL)	t _{1/2} ^(a) (h)	F ^(b) (%)
Mouse	【4.2.2.2.4】	Non-fasted	F	3.31	A ^(c) /Suspension	Non-micronized	3/time point	44.5	0.083	41.5	1.71	7.8 ⁽ⁱ⁾
			F	14.2	A ^(c) /Suspension	Non-micronized	3/time point	474	0.333	573	3.10	25.2 ⁽ⁱ⁾
Mouse ^(k)	【4.2.1.2.7】	Non-fasted	M	12.5	A ^(c) /Suspension	Non-micronized	3/time point	280	0.083	360	ND	18.0 ⁽ⁱ⁾
Rat	【4.2.2.2.6】	Fasted	M	10	B ^(d) /Suspension	Non-micronized	3	489±462	0.333±0.000	795±568	4.65±2.57	22.8
			M	30	B ^(d) /Suspension	Non-micronized	3	429±258	0.333±0.000	1190±690	1.53±0.34	11.4
Rat	【4.2.2.2.7】	Fasted/Non-fasted ^(m)	F	10	B ^(d) /Suspension	Non-micronized	3	363±90	0.389±0.529	808±221	1.20±0.15	18.0
			F	30	B ^(d) /Suspension	Non-micronized	3	1020±450	1.0±0.0	3330±1060	0.980±0.22	24.7
Rat	【4.2.2.2.8】	Fasted	M	100	B ^(d) /Suspension	Non-micronized	4	601±417	2.5±1.0	3870±2600	3.08±0.82	8.5 ⁽ⁱ⁾
		Non-fasted	M	100	B ^(d) /Suspension	Non-micronized	4	672±147	1.5±1.0	5570±910	2.85±0.63	12.2 ⁽ⁱ⁾
Dog	【4.2.3.2.6】	Fasted	M	11 ^(l)	C ^(e) /Solution	NA	1	577	1.00	864	2.82	ND
			F	11 ^(l)	C ^(e) /Solution	NA	1	352	1.00	797	2.87	ND
			M	100	C ^(e) /Solution	NA	1	7620	1.00	27400	2.36	ND
			F	100	C ^(e) /Solution	NA	1	8290	1.00	40700	2.60	ND
			M	100	B ^(d) /Suspension	Non-micronized	1	788	2.00	3630	2.47	ND
			F	100	B ^(d) /Suspension	Non-micronized	1	1100	1.00	5050	1.58	ND
			M	200	A ^(c) /Suspension	Non-micronized	1	81.7	1.00	664	3.02	ND
			F	200	A ^(c) /Suspension	Non-micronized	1	160	2.00	670	2.63	ND
			M	200	B ^(d) /Suspension	Non-micronized	1	834	4.00	5620	2.32	ND
			F	200	B ^(d) /Suspension	Non-micronized	1	880	1.00	2810	1.73	ND
Dog	【4.2.2.2.12】	Fasted	M	10	D ^(f) /Capsule	Micronized	4	94±87	1.88±1.55	289±229	ND	ND
			M	10	E ^(g) /Capsule	Non-micronized	4	56±45	1.13±0.63	175±77	ND	ND
			M	10	F ^(h) /Suspension	Micronized	2	114	0.50	399	ND	ND
Dog	【4.2.2.2.11】	Fasted	M	10	D ^(f) /Capsule	Micronized	4	137±144	1.25±0.50	363±310	6.38±4.13	6.9±6.2
			F	10	D ^(f) /Capsule	Micronized	4	126±55	1.00±0.0	427±111	4.35±0.48	10.5±3.7
		Non-fasted	M	10	D ^(f) /Capsule	Micronized	4	248±380	1.63±0.75	721±1117	3.63±1.76	14.4±22.8
			F	10	D ^(f) /Capsule	Micronized	4	55±52	1.13±0.63	156±87	3.27±3.21	3.8±2.3

Mouse: estimated from mean plasma concentration; Rat: mean±standard deviation; Dog: individual value, mean±standard deviation or mean

(a): Terminal half-life.

(b): Bioavailability (F) = dose-normalized AUC following oral administration divided by dose-normalized AUC following IV administration x 100.

(c): Formulation A was 1% methylcellulose / 0.4% Cremophor EL in water.

(d): Formulation B was 1% methylcellulose / 0.4% Cremophor EL / 0.1% SLS in water.

(e): Formulation C was 20% HP-β-CD in water.

(f): Prototype clinical formulation D was microcrystalline cellulose (■% - ■%), croscarmellose sodium (■%) and SLS (■% - ■%).

(g): Formulation E was similar to formulation D except using non-micronized ibrutinib.

(h): Formulation F was 0.5% methylcellulose, 0.4% Cremophor EL, 0.1% SLS and water.

(i): Based on dose-normalized AUC data calculated for IV dosed in female mice 【4.2.2.2.5】.

(j): Based on dose-normalized AUC data calculated for IV dosed in rats 【4.2.2.2.9】.

(k): Study was conducted in a male DBA/10IaHsd mouse established type II collagen arthritis model.

(l): Nominal dose was 10 mg/kg.

(m): Two out of three rats were fasted prior to dosing orally at 10 mg/kg. All the rats administered test formulation orally at 30 mg/kg were not fasted prior to dosing.

F = female; M = male; N = number of animals; NA = not applicable; ND = not determined

表 2.6.4-4 実験動物にイブルチニブを単回静脈内投与したときの薬物動態パラメータ

Species	Study Reference	Gender	Dose (mg/kg)	N	C _{max} (ng/mL)	AUC _∞ (ng·h/mL)	V _c (L/kg)	V _{ss} (L/kg)	t _{1/2} (h)	CL (L/h/kg)
Mouse	【4.2.2.2.5】	F	30	2/time point	16000	4810	1.88	1.92	0.710 ^(a)	6.24
Rat	【4.2.2.2.9】	M	30	3	64500±30400	13700±2200	0.531±0.215	1.98±0.22	0.513±0.060 ^(a)	2.23±0.39
Rat	【4.2.2.2.6】	M	4	3	3280±160	1390±210	1.01±0.02	2.68±2.56	0.231±0.031 ^(b)	2.92±0.47
Rat	【4.2.2.2.7】	F	4	3	3030±250	1920±530	1.46±0.07	1.89±0.17	0.437±0.12 ^(b)	2.44±0.807
Dog	【4.2.2.2.11】	M	4	4	1220±140	2120±330	3.30±0.39	4.53±0.52	1.16±0.12 ^(b)	1.92±0.26
		F	4	4	1120±400	1690±330	3.88±1.23	5.76±2.21	1.04±0.21 ^(b)	2.43±0.48

Mouse: estimated from mean plasma concentration; Rat and dog: mean±standard deviation
(a): Beta-phase half-life, predominant elimination component.
(b): Alpha-phase half-life, predominant elimination component.
F = female; M = male; N = number of animals

イブルチニブ

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 組織内濃度 (QWBA)

【評価資料 4.2.2.3.1, 4.2.2.3.2】

雄性有色ラットを用いた QWBA 試験において、 ^{14}C -イブランチニブの組織分布を検討した。最初の試験では、雄性 Long Evans ラットにラセミ混合物の ^{14}C -イブランチニブを 10 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与し【2.6.5.5A (4.2.2.3.1) 参照】、次の試験では雄性 Lister Hooded ラットに *R*-エナンチオマーの ^{14}C -イブランチニブを 10 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与した

【2.6.5.5B (4.2.2.3.2) 参照】。両試験において組織分布パターンは類似しており、申請する化合物は *R*-エナンチオマーであることから、以下には、雄性 Lister Hooded ラットに *R*-エナンチオマーの ^{14}C -イブランチニブを投与した試験の結果を記載する。この試験では、投与 1, 4, 24, 72, 168 及び 336 時間後の組織内放射能濃度を測定した。

^{14}C -イブランチニブ由来放射能（すなわちイブランチニブ又はその代謝物）は経口投与後に速やかに吸収され、広範な組織に分布し（図 2.6.4-2）、血漿を含むほとんどの組織において組織内放射能濃度の C_{max} は投与 1 時間後に得られた。放射能濃度は主に腎臓、肝臓、消化管及び膀胱壁などの排泄器官、並びに副腎で高かったが、眼及び一部の中樞神経系組織（脳及び脊髄）での放射能濃度は低かった。大部分の組織では放射能濃度が血漿に比べて低く、各測定時点における放射能の分布パターンはおおむね同様であった。

組織内放射能濃度は、投与 72 時間後においてほぼすべての組織で測定可能であったが（図 2.6.4-3）、投与 168 時間後までには大部分の組織で定量下限（0.033 $\mu\text{g eq./g}$ ）未満となった。投与 168 時間後においても定量可能な放射能が認められた組織は、排泄器官（腎臓及び肝臓）、副腎、膵臓、脾臓及び有色皮膚等であり、これらの組織内での放射能濃度の減少は、血漿に比べ緩徐であったが、その組織内放射能濃度はすべて、定量下限をわずかに上回る程度であった。有色及び白色皮膚で放射能濃度に顕著な違いは認められず、その他の有色組織（髄膜、ブドウ膜及び眼）においても顕著に高い放射能濃度は認められなかった。また、いずれの組織においても、長期間の放射能の残留は認められなかった。

血液及び血漿中放射能は緩徐に消失し、投与 168 時間後においても低濃度の放射能が認められた。血液/血漿中放射能濃度比は、投与 1, 4 及び 24 時間後では 1.0 未満であったが、投与 168 時間後には 4.6 に増加した。

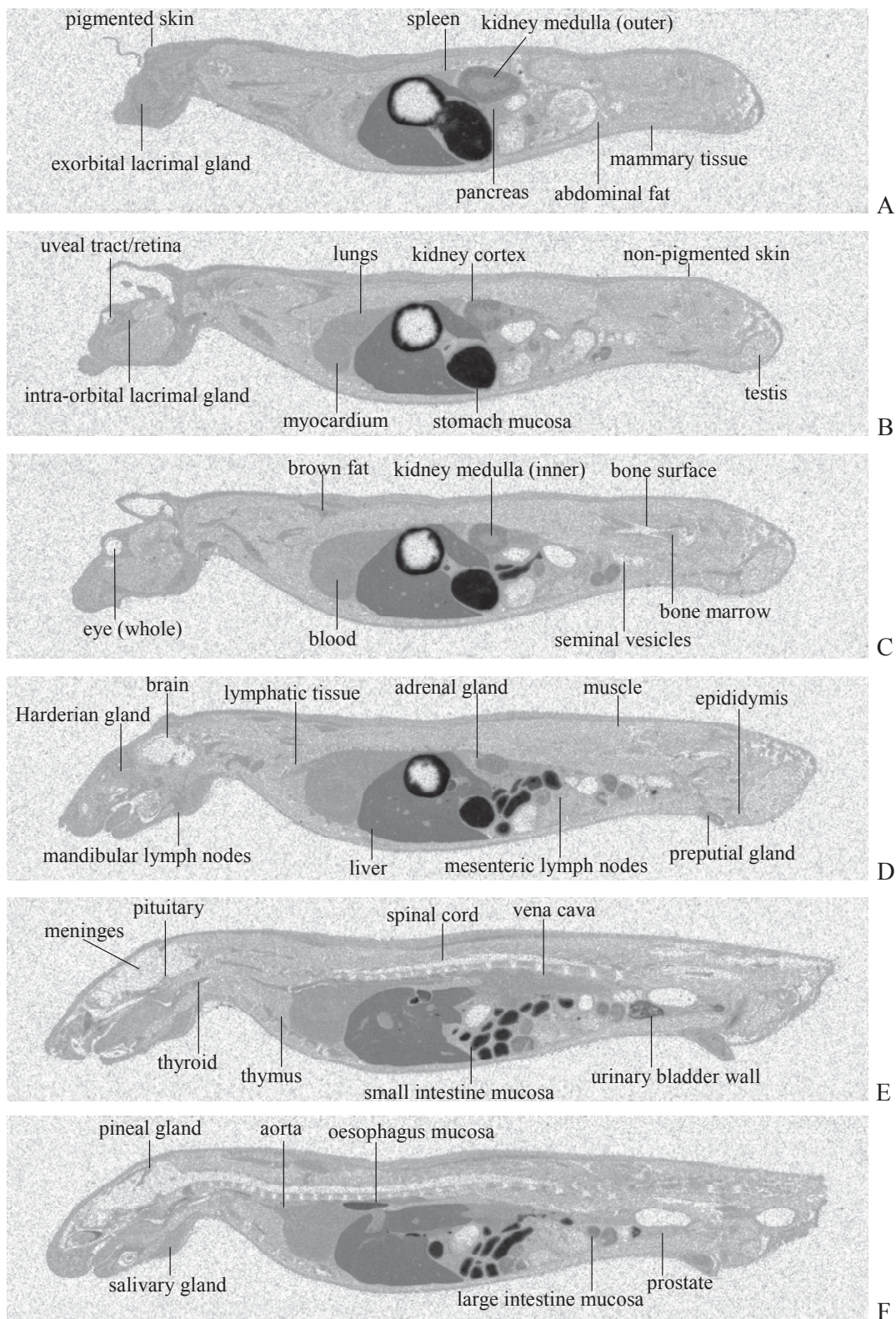


図 2.6.4-2 雄性有色ラットに ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの投与 1 時間後における放射能の組織分布

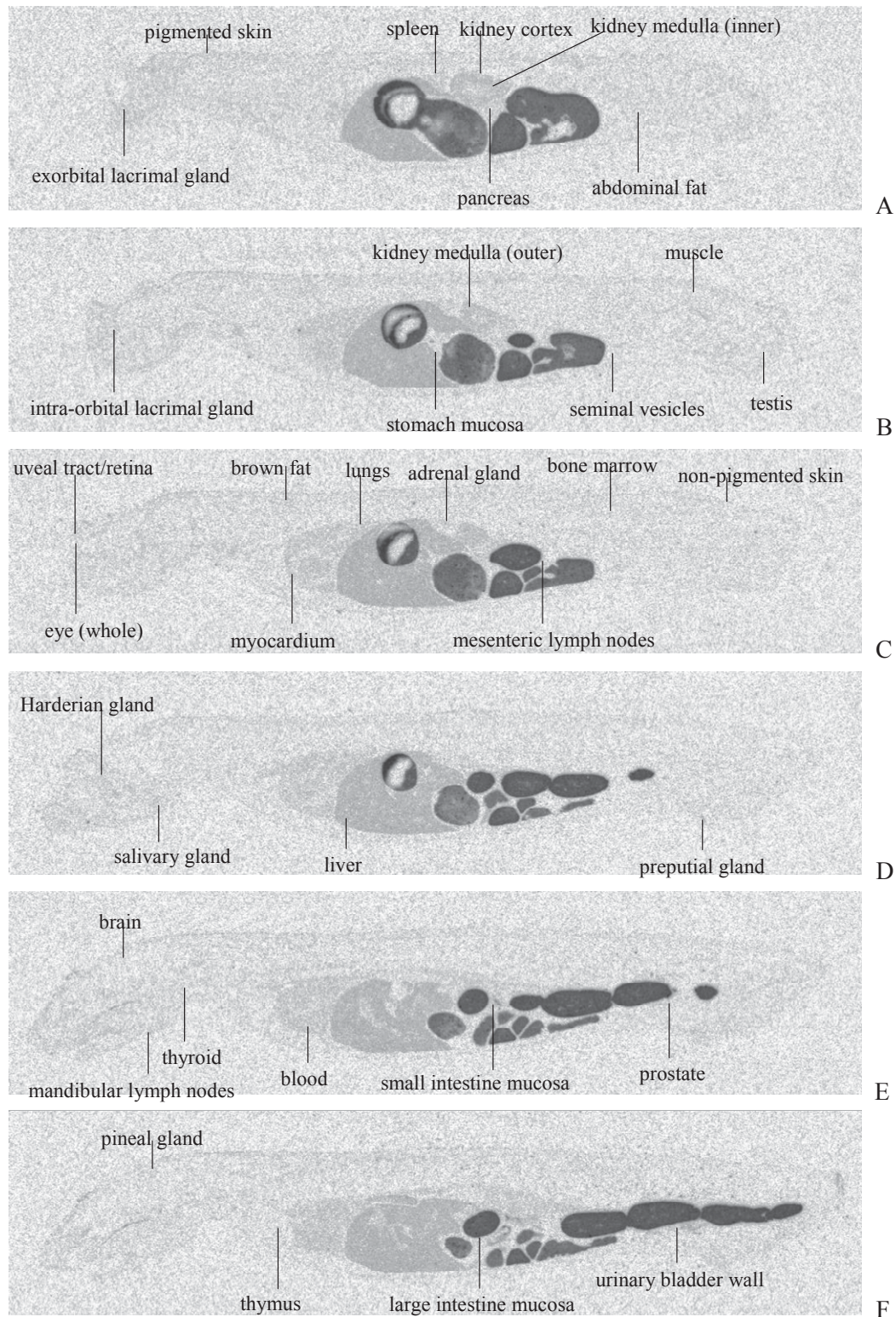


図 2.6.4-3 雄性有色ラットに ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を 10 mg/kg の用量で単回経口投与したときの投与 72 時間後における放射能の組織分布

2.6.4.4.2 たん白結合及び血球移行

2.6.4.4.2.1 血漿中における安定性

【評価資料 4.2.2.3.3, 4.2.2.3.4】

ラット、イヌ及びヒトの血漿に 1 µmol/L のイブルチニブを添加し、37°C で 2 時間インキュベーションして血漿中での安定性を評価した。

最初の試験では、インキュベーション後のイブルチニブの回収率は、ラット、イヌ及びヒトでそれぞれ 63, 50 及び 41% であった【2.6.5.8 (4.2.2.3.3) 参照】。

その後、別試験においてヒト血漿中でのイブルチニブの安定性を同じ条件を用いて再検討した。その結果、イブルチニブは血漿中で安定であり、インキュベーション後のイブルチニブの回収率は 93% 以上であった【2.6.5.8 (4.2.2.3.4) 参照】。

なお、最初の試験のヒト血漿においてイブルチニブの回収率が低かった理由は不明である。

2.6.4.4.2.2 たん白結合

イブルチニブ及びそのヒト血漿中主要代謝物の *in vitro* 血漿たん白結合を平衡透析法により評価した。

(1) イブルチニブ

【評価資料 4.2.2.3.5, 4.2.2.3.6, 4.2.2.3.7, 参考資料 5.3.2.1.1, 5.3.2.1.2, 5.3.2.1.3】

マウス、ラット、イヌ及びヒトの血漿に 88.1 及び 881 ng/mL のイブルチニブを添加したとき、イブルチニブの血漿たん白結合率は、各動物種で 96.2~99.5%，ヒトでは 97.5% であった【2.6.5.6A (4.2.2.3.5, 4.2.2.3.6) 参照】。

別試験において、Swiss CD1 及び nonTg rasH2 マウス血漿における非結合型分率は、イブルチニブ濃度が 500 ng/mL のときそれぞれ 0.6 及び 0.3%，1500 ng/mL のときそれぞれ 0.7 及び 0.4% であった【2.6.5.6B (4.2.2.3.7) 参照】。ラット血漿での非結合型分率は、イブルチニブ濃度が 500 ng/mL のとき 0.7%，1500 ng/mL のとき 1.2% であった。また、イヌ血漿において非結合型分率は、イブルチニブ濃度が 100 及び 500 ng/mL のいずれでも 2.6% であり、ヒト血漿において非結合型分率は平均 2.7%（イブルチニブ濃度が 50, 100, 150, 500 及び 1000 ng/mL のとき、それぞれ 2.6, 2.7, 2.6, 2.7 及び 2.8%）であった。以上のように、マウス、ラット、イヌ及びヒトの血漿に対するイブルチニブのたん白結合率はいずれも 97.2~99.7% と高かった。たん白結合率の濃度依存性は、マウス及びラットではわずかであり、イヌ及びヒトでは認められなかった。

さらに、2 つの臨床試験（PCI-32765CLL1002 及び PCI-32765CLL1004 試験）の健康男性被験者から投与前に採取した血漿を用いた検討においても、イブルチニブ濃度が 100 ng/mL のときの非結合型分率はそれぞれ 2.0 及び 2.3%（たん白結合率は 97.7~98.0%）であり、イブルチニブの血漿たん白結合率は高かった【2.6.5.6A (5.3.2.1.1, 5.3.2.1.2) 参照】。また、PCI-32765CLL1006 試験の肝機能正常被験者並びに軽度、中等度及び重度肝機能障害被験者から投与前に採取した血漿を用いた検討において、イブルチニブ濃度が 100 ng/mL のときの非結合型分率はそれぞれ 3.3% 並びに 3.0, 3.8 及び 4.8% であり、肝機能正常被験者と比較して、重度肝機能障害被験者におけるイブルチニブのたん白結合率の低下はわずかであった【2.6.5.6A (5.3.2.1.3) 参照】。

イブランチニブの結合する血漿たん白種について、単離した HSA 及び AGP 溶液に ^{14}C -イブランチニブ (R-エナンチオマー) を添加して検討した【2.6.5.6B (4.2.2.3.7) 参照】。 ^{14}C -イブランチニブ濃度が 150 ng/mL のときの非結合型分率は、4.3% HSA 溶液中では 3.6%, 4.3% HSA + 0.07% AGP 溶液中では 3.4% であった。一方、0.05, 0.10 及び 0.20% AGP 溶液中の非結合型分率は、それぞれ 75.7, 41.9 及び 24.1% であった。このことからイブランチニブは血漿中で主に HSA と結合し、AGP とも結合することが示された。

(2) 代謝物

【評価資料 4.2.2.3.8, 4.2.2.3.9】

マウス、ラット、イヌ及びヒトの血漿に 100~500 ng/mL のヒト血漿中主要代謝物 [M23, M25, M34 及び PCI-45227 (M37)] を添加し、たん白結合率を検討した【2.6.5.6A (4.2.2.3.8, 4.2.2.3.9) 参照】。ヒト血漿に 475 又は 500 ng/mL の PCI-45227 (M37) を添加したとき、非結合型分率は 9.0% (たん白結合率は 91.0%) であった。また、ヒト血漿に 500 ng/mL の M23, M25 及び M34 を添加したときの非結合型分率は、それぞれ 7.7, 25.5 及び 22.9% (たん白結合率はそれぞれ 92.3, 74.5 及び 77.1%) であった。M25 及び M34 はアクリロイル基を有することから、血漿たん白質と共有結合する可能性が考えられるが、これらの代謝物の非結合型分率は、アクリロイル基を有さない代謝物 [PCI-45227 (M37) 及び M23] の約 3 倍高かった。

概して、血漿中での各代謝物の非結合型分率は、ヒトとイヌで同程度であり、マウスよりやや高かった【2.6.5.6A (4.2.2.3.9) 参照】。また、M23, M34 及び PCI-45227 (M37) のたん白結合率の濃度依存性はわずかであった。いずれの代謝物も血漿中で主に HSA と結合し、AGP とも結合することが示された。

2.6.4.4.2.4 項に示すとおり、イブランチニブ及び各代謝物の血漿たん白結合のほとんどは可逆的であると考えられる。

2.6.4.4.2.3 血球移行

(1) *In vitro*

【評価資料 4.2.2.3.7】

イブランチニブの血球移行について、マウス、ラット、イヌ及びヒトの血液にイブランチニブを添加して検討した【2.6.5.6B (4.2.2.3.7) 参照】。

血液/血漿中放射能濃度比は、マウスにおいてイブランチニブ濃度が 500 ng/mL のとき 0.63, 1500 ng/mL のとき 0.56, ラットにおいてイブランチニブ濃度が 500 ng/mL のとき 0.60, 1500 ng/mL のとき 0.89 であり、イヌにおいてイブランチニブ濃度が 100 ng/mL のとき 0.65, 500 ng/mL のとき 0.54 であった。またヒトでは、イブランチニブ濃度が 100, 150, 500 及び 1000 ng/mL のとき、それぞれ 0.82, 0.80, 0.75 及び 0.74 であった。

以上のように、いずれの動物種においてもイブランチニブの大部分は血漿に分布した。ラット及びイヌの血液では明確な濃度依存性が認められたが、マウス及びヒトの血液での濃度依存性は軽微であった。

(2) *In vivo*

1) ラット

【評価資料 4.2.2.3.1, 4.2.2.4.8】

雄性の Sprague-Dawley 又は Long Evans ラットに ^{14}C -イブランチニブ（ラセミ混合物）を 10 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与したときの血液を採取（投与 1, 4, 8, 24, 48, 72, 168 又は 504 時間後）し、血液/血漿中放射能濃度比を測定した【2.6.5.6C（4.2.2.3.1）参照】。

その結果、ラットの系統によらず、投与後の時間経過に伴う血液/血漿中放射能濃度比の上昇が認められ、Sprague-Dawley ラットにおいて、血液/血漿中放射能濃度比は投与 24 時間後まで 1.0 未満であり、投与 48～72 時間後は 1.63～1.78 であった。また、血球画分（主に赤血球）の放射能の割合は、25.1（投与 1 時間後）～72.4%（投与 48 時間後）であった。同様に、Long Evans ラットにおいて、血液/血漿中放射能濃度比は投与 4 時間後まで 1.0 未満であり、投与 24～72 時間後は 1.20～1.94、投与 168 時間後は 9.43 であった。血球画分の放射能の割合は、15.9（投与 1 時間後）～100%（投与 504 時間後）であった。

同様の結果は、雌雄 Sprague-Dawley ラットに ^{14}C -イブランチニブ（*R*-エナンチオマー）を 10 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与したときの血液（投与 1, 4, 7, 24 及び 48 時間後採取）でも認められ、血液/血漿中放射能濃度比は投与 1 時間後から 48 時間後までに、雄性では 0.76 から 1.44 に、雌性では 0.74 から 1.00 に上昇した【2.6.5.6C（4.2.2.4.8）参照】。

なお、ラットでの ^{14}C -イブランチニブ投与後の血液/血漿中放射能濃度比の経時的上昇は、QWBA 試験（2.6.4.4.1）でも認められた。

2) イヌ

【評価資料 4.2.2.4.11】

雄性ビーグル犬に ^{14}C -イブランチニブ（*R*-エナンチオマー）を 30 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与したとき、血液/血漿中放射能濃度比は、投与 1～48 時間後まで 0.66～0.71 の範囲であり、比較的一定であった【2.6.5.6C（4.2.2.4.11）参照】。

3) ヒト

【評価資料 4.2.2.4.12】

健康男性被験者に ^{14}C -イブランチニブ（*R*-エナンチオマー）を 140 mg の用量で溶液として単回経口投与したとき、投与 4 時間後までの血液/血漿中放射能濃度比は 0.68～0.78 であった

【2.6.5.6C（4.2.2.4.12）参照】。これ以降の採血時点では評価できなかったことから、時間依存性は不明確であった。

2.6.4.4.2.4 共有結合

(1) *In vitro*

【評価資料 4.2.2.3.10, 4.2.2.3.11, 4.2.2.3.12, 4.2.2.3.13, 4.2.2.3.14, 4.2.2.3.15, 4.2.2.3.16, 4.2.2.3.17, 4.2.2.3.18】

^{14}C -イブランチニブをラット及びヒト由来たん白質とともにインキュベーションし、共有結合形成について評価した。ラセミ混合物及び *R*-エナンチオマーの ^{14}C -イブランチニブの *in vitro* 共有結合試験結果を、それぞれ表 2.6.4-5 及び表 2.6.4-6 に示す。

^{14}C -イブランチニブ（ラセミ混合物又は *R*-エナンチオマー）はヒト BTK に強力かつ不可逆的に結合し、オフターゲットたん白質との共有結合はわずかであった【2.6.5.8 (4.2.2.3.10, 4.2.2.3.16) 参照】。

1 $\mu\text{mol/L}$ (0.44 $\mu\text{g/mL}$) の ^{14}C -イブランチニブ（ラセミ混合物）をヒト BTK と 1 時間インキュベーションしたとき、共有結合量は 9604 pmol/mg protein であった（表 2.6.4-5）【2.6.5.8 (4.2.2.3.10) 参照】。一方、ヒトの肝 S9, 血漿及びアルブミンに対する共有結合量はそれぞれ 210, 39 及び 2 pmol/mg protein であり、BTK に対するオフターゲットたん白質の結合比は、ヒトの肝 S9, 血漿たん白質及びアルブミンでそれぞれ 1/46, 1/246 及び 1/4802 であった。ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリリン酸（還元型：NADPH）非存在下で ^{14}C -イブランチニブ（ラセミ混合物）をヒト肝 S9 とインキュベーションし、電気泳動でたん白質を分離し、イムノブロッティング（抗 CYP3A4 抗体を一次抗体として使用）を行ったところ、ヒト肝 S9 においてイブランチニブは主に CYP と結合することが示唆された。インキュベーション時間を 1 時間から 4 時間に延長したとき、結合反応はインキュベーション時間に比例せず、ヒトの BTK 及び肝 S9 との共有結合の増加はわずか（それぞれ 17 及び 6%）であった。

次に、2 $\mu\text{mol/L}$ (0.88 $\mu\text{g/mL}$) の ^{14}C -イブランチニブ（*R*-エナンチオマー）をヒト BTK と 1 時間インキュベーションしたとき、共有結合量は 18376 pmol/mg protein であった（表 2.6.4-6）

【2.6.5.8 (4.2.2.3.16) 参照】。ヒト BTK に対するオフターゲットたん白質の結合比は、ヒトの血漿たん白質及びアルブミンでそれぞれ 1/2042 及び 1/9188 であった。ヒトヘモグロビンに対する共有結合はほとんど認められなかったが、ラットヘモグロビンに対する共有結合量は、1 及び 4 時間インキュベーション時でそれぞれ 114 及び 95 pmol/mg protein であった。ヒトでは BTK に対する共有結合はインキュベーション時間によらず同程度であったが、オフターゲットたん白質に対する共有結合は、4 時間インキュベーションしたときの方が 1 時間インキュベーションしたときに比べて多かった。

NADPH 存在下又は非存在下で、2 $\mu\text{mol/L}$ の ^{14}C -イブランチニブ（*R*-エナンチオマー）をラット及びヒトの肝 S9 と 1 時間インキュベーションし、電気泳動で分離したたん白質をメンブレンに転写して放射能を測定したとき、ラット及びヒトの両方で NADPH 添加の有無にかかわらず分子量約 50 kDa のバンドが認められ、CYP に対する結合が示唆された【2.6.5.8 (4.2.2.3.17) 参照】。NADPH 非存在下において、この 50 kDa のたん白質に対する ^{14}C -イブランチニブの結合はラット

(69 pmol/mg protein) に比べヒト (100 pmol/mg protein) の方が 45%多く、NADPH 添加による共有結合量の増加は、ラットの方がヒトに比べて大きかった（表 2.6.4-6）。

^{14}C -イブランチニブ（ラセミ混合物）のヒト肝ミクロソーム及びヒト CYP に対する共有結合を評価したとき、 ^{14}C -イブランチニブは、NADPH 存在下及び非存在下のいずれにおいてもヒト肝ミク

ロソームと共有結合し、結合量の差はおおむね2倍未満であった（表 2.6.4-5）【2.6.5.8

（4.2.2.3.12, 4.2.2.3.13, 4.2.2.3.15）参照】。このことから、ヒト肝ミクロソームたん白質との共有結合形成に代謝活性化は関与するものの、必ずしも必要ではないことが示唆された。また、ヒト CYP（CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4）のインキュベーション試料を電気泳動し、放射能を測定したところ、CYP3A4の方がCYP1A2, CYP2C19及びCYP2D6に比べて共有結合量が多いことが示された【2.6.5.8（4.2.2.3.11）参照】。さらに、 ^{14}C -イブランチニブ（ラセミ混合物）濃度が $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ ($4.4\text{ }\mu\text{g/mL}$) のとき、CYP2D6 活性が低～高度のヒト肝ミクロソームとの共有結合量は $258\sim 548\text{ pmol/mg protein}$ 【2.6.5.8（4.2.2.3.15）参照】であり、CYP2E1との共有結合量は $198\text{ pmol/mg protein}$ 【2.6.5.8（4.2.2.3.13）参照】であった。

NADPH 存在下又は非存在下で、 ^{14}C -イブランチニブ（ラセミ混合物）のラットヘモグロビン、ラット及びヒトの肝ミクロソーム、ヒト肝 S9、並びにヒト CYP2D6 及び CYP3A4 との共有結合形成を評価したとき、ラット肝ミクロソーム及びヒト CYP3A4 に対する共有結合量は、NADPH 存在下（それぞれ 279 及び $272\text{ pmol/mg protein}$ ）の方が非存在下（それぞれ 160 及び $122\text{ pmol/mg protein}$ ）に比べて多かった（表 2.6.4-5）【2.6.5.8（4.2.2.3.12）参照】。NADPH 非存在下での肝ミクロソームに対する共有結合量は、ヒト（ $316\text{ pmol/mg protein}$ ）の方がラット（ $160\text{ pmol/mg protein}$ ）に比べて多かった。NADPH 非存在下で、イブランチニブのラットヘモグロビンに対する共有結合（ $194\text{ pmol/mg protein}$ ）が認められた。

2 及び $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ (0.88 及び $4.4\text{ }\mu\text{g/mL}$) の ^{14}C -イブランチニブ（*R*-エナンチオマー）を NADPH 存在下及び非存在下でラット及びヒト肝ミクロソームとインキュベーションしたとき、NADPH 存在下での共有結合量は非存在下に比べて約 2～4 倍であった（表 2.6.4-6）【2.6.5.8（4.2.2.3.18）参照】。

^{14}C -イブランチニブ（ラセミ混合物）のラット及びヒトのヘモグロビン及び血漿に対する共有結合形成を評価したとき、1 時間インキュベーション後のヘモグロビンに対する共有結合量は、ラット（ $613\text{ pmol/mg protein}$ ）の方がヒト（ $70\text{ pmol/mg protein}$ ）に比べて多かった（表 2.6.4-5）【2.6.5.8（4.2.2.3.13, 4.2.2.3.14）参照】。血漿に対する共有結合量は、1 時間インキュベーション後ではヒト（ $128\text{ pmol/mg protein}$ ）の方がラット（ $68\text{ pmol/mg protein}$ ）に比べて多かったが、4 時間インキュベーション後では、ラット（ $679\text{ pmol/mg protein}$ ）の方がヒト（ $408\text{ pmol/mg protein}$ ）に比べて多かった。

表 2.6.4-5 ^{14}C -イブランチニブ（ラセミ混合物）の種々のたん白質に対する共有結合

Proteins	Species	Ibuprofen Concentration (μM)	Incubation Time (h)	Covalent binding (pmol/mg protein)	Study Reference
BTK protein (50 $\mu\text{g/mL}$)	Human	1	1	9604	【4.2.2.3.10】
		2	1	18330	
		2	4	21490	
Liver S9, - NADPH (2 mg/mL)	Human	1	1	210	
		2	1	510	
		2	4	540	
Plasma	Human	1	1	39	
Albumin (4 mg/mL)	Human	1	1	2	
Liver S9, + NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	218	【4.2.2.3.12】
Liver S9, - NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	189	
Liver microsomes, + NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	328	
Liver microsomes, - NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	316	
CYP3A4, + NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	272	
CYP3A4, - NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	122	
CYP2D6, + NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	124	
CYP2D6, - NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	116	
Liver microsomes, + NADPH (1 mg/mL)	Rat	10	1	279	
Liver microsomes, - NADPH (1 mg/mL)	Rat	10	1	160	
Hemoglobin (blood isolated), - NADPH (1 mg/mL)	Rat	10	1	194	
CYP2E1 (1 mg/mL)	Human	10	1	198	【4.2.2.3.13】
Hemoglobin, purified (1 mg/mL)	Rat	10	1	613	
Hemoglobin, purified (1 mg/mL)	Human	10	1	70	
Liver microsomes, + NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	722	
Liver microsomes, - NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	376	
Plasma	Human	10	1	128	【4.2.2.3.14】
		10	4	408	
Plasma	Rat	10	1	68	
		10	4	679	【4.2.2.3.15】
CYP2D6, high metabolizer (1 mg/mL)	Human	10	1	548	
CYP2D6, medium metabolizer (1 mg/mL)	Human	10	1	274	
CYP2D6, low metabolizer (1 mg/mL)	Human	10	1	258	
Liver microsomes, + NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	275	
Kidney S9 (1 mg/mL)	Rat	10	1	81	

表 2.6.4-6 ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) の種々のたん白質に対する共有結合

Proteins	Species	Ibrutinib Concentration (μM)	Incubation Time (h)	Covalent binding (pmol/mg protein)	Study Reference
BTK protein (1 mg/mL)	Human	2	1	18376	【4.2.2.3.16】
		2	4	11345	
Plasma (4 to 6 mg/mL)	Human	2	1	9	
		2	4	275	
Hemoglobin (1 mg/mL)	Human	2	1	None	
		2	4	51	
Albumin (1 mg/mL)	Human	2	1	2	
		2	4	57	
Hemoglobin (1 mg/mL)	Rat	2	1	114	
		2	4	95	
Liver S9, + NADPH (1 mg/mL)	Human	2	1	107	【4.2.2.3.17】
Liver S9, - NADPH (1 mg/mL)	Human	2	1	100	
Liver S9, + NADPH (1 mg/mL)	Rat	2	1	106	
Liver S9, - NADPH (1 mg/mL)	Rat	2	1	69	
Liver microsomes, + NADPH (1 mg/mL)	Human	2	1	192	【4.2.2.3.18】
Liver microsomes, - NADPH (1 mg/mL)	Human	2	1	101	
Liver microsomes, + NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	1201	
Liver microsomes, - NADPH (1 mg/mL)	Human	10	1	466	
Liver microsomes, + NADPH (1 mg/mL)	Rat	2	1	186	
Liver microsomes, - NADPH (1 mg/mL)	Rat	2	1	50	
Liver microsomes, + NADPH (1 mg/mL)	Rat	10	1	1043	
Liver microsomes, - NADPH (1 mg/mL)	Rat	10	1	553	

(2) *In vivo*

ラット、イヌ及びヒトに ^{14}C -イブルチニブを投与した試験において、 ^{14}C -イブルチニブ投与後又は投与前（ラットのみ検討，*ex vivo* で ^{14}C -イブルチニブを添加）の試料を採取して共有結合形成を評価した。

1) ラット

【評価資料 4.2.2.4.8】

雌雄 Sprague-Dawley ラットに ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を 10 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与し、投与 1, 4, 7, 24 及び 48 時間後に採血して血漿たん白質又は血球画分に共有結合した放射能を測定した【2.6.5.8 (4.2.2.4.8) 参照】。

血漿において、共有結合放射能濃度は投与 4~48 時間後まで比較的一定であり、 C_{max} は投与 24 (雄性) 及び 4 時間後 (雌性) に認められた。血漿中総放射能 (共有結合放射能 + 非共有結合放射能) 濃度は投与 1 時間後に C_{max} を示し、以降投与 48 時間後までに 1/9~1/14 に減少した。投与 48 時間後において、血漿中総放射能のほとんどは共有結合放射能であった。 C_{max} を比較すると、血漿中の共有結合放射能は、総放射能の約 7 (雄性) 及び 10% (雌性) であった。

血球画分においても、共有結合放射能濃度は投与 1~48 時間後まで比較的一定であった。血球画分中総放射能は投与 1 時間後に C_{max} を示し、以降投与 48 時間後までに 1/4~1/5 に減少した。投与 48 時間後において、血球画分中総放射能のほとんどは共有結合放射能であった。 C_{max} を比較すると、血球画分中の共有結合放射能は、総放射能の約 24 (雄性) 及び 25% (雌性) であった。

一方、本試験の投与前に採取した血漿及び血液に $1\ \mu\text{g/mL}$ の ^{14}C -イブランチニブ (*R*-エナンチオマー) を *ex vivo* で添加し、0, 1, 4, 7, 24 及び 48 時間インキュベーション後の血漿たん白質又は血球画分との共有結合量も測定した。

血漿に ^{14}C -イブランチニブを添加してインキュベーションした試料では、共有結合は時間とともに徐々に増加した (1 時間 : 1%, 24 時間 : 18%, 48 時間 : 28%)。一方、血液に ^{14}C -イブランチニブを添加し、インキュベーション後に調製した血漿において、共有結合は 1% 未満 (1 時間) から 9% (24 時間) に増加した。また、対応する血球画分において、共有結合量は 4% (0 時間) から 33% (24 時間) に増加した。なお、血液に ^{14}C -イブランチニブを添加して 48 時間インキュベーションした試料は、溶血のため分析できなかった。

2) イヌ

【評価資料 4.2.2.4.11】

雄性ビーグル犬に ^{14}C -イブランチニブ (*R*-エナンチオマー) を $30\ \text{mg/kg}$ の用量で溶液として単回経口投与し、投与 1, 4, 7, 24 及び 48 時間後に採血して血漿たん白質又は血球画分に共有結合した放射能を測定した【2.6.5.8 (4.2.2.4.11) 参照】。

血漿において、共有結合放射能濃度の変化は投与 48 時間後まで比較的小さく、 C_{max} は投与 24 時間後に認められた。一方、血漿中総放射能は投与 1 時間後に C_{max} を示し、投与 48 時間後までに 1/8 に減少した。また、血球画分においても同様の結果が認められた。 C_{max} を比較すると、血漿及び血球画分中の共有結合放射能は、総放射能のそれぞれ約 8 及び 18% であった。

3) ヒト

【評価資料 4.2.2.4.12】

健康男性被験者に ^{14}C -イブランチニブ (*R*-エナンチオマー) を $140\ \text{mg}$ の用量で溶液として単回経口投与したヒトマスバランス試験において、投与 1, 2, 4, 8, 24 及び 72 時間後に採血して血漿たん白質に共有結合した放射能を測定した【2.6.5.8 (4.2.2.4.12) 参照】。

血漿中の共有結合放射能及び総放射能の C_{max} は、それぞれ投与 8 及び 1 時間後に認められた。投与 24 時間後において、血漿中総放射能は C_{max} の 1/6 に減少したが、共有結合放射能の減少はわずかであった。 C_{max} を比較すると、血漿中の共有結合放射能は、総放射能の約 12% であった。

2.6.4.4.3 胎盤通過性

妊娠動物を用いた組織分布試験は実施しなかったが、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験【2.6.6.2 参照】において、母動物毒性に由来しない胎児への影響が認められ、イブランチニブ又はその代謝物の胎盤通過が示唆された。

2.6.4.5 代謝

In vitro 代謝試験では、実験動物種及びヒト由来試料（肝細胞及び肝細胞分画）、並びにヒト CYP 発現系を用いた検討を行った。

In vivo 代謝試験では、Sprague-Dawley ラット、ビーグル犬及び健康男性被験者に ^{14}C -イブルチニブ（ラセミ混合物又は *R*-エナンチオマー）を単回投与したときの代謝物プロファイルを検討した。また、ヒト血漿中主要代謝物を同定しその存在量を推定するために、健康男性被験者（PCI-32765CLL1002 試験）又は血液がん患者（PCYC-1111-CA 試験）に非標識のイブルチニブを単回又は反復経口投与したときの血漿試料を分析した。なお、循環血液中代謝物については、たん白質に共有結合した放射能は超高速液体クロマトグラフィー（UPLC）試料調製時のたん白質沈殿処理で除去されることから、たん白質に共有結合していない代謝物のみが検討可能であった。

さらに、ヒトを対象としたイブルチニブ経口投与時の絶対的バイオアベイラビリティ試験を実施するにあたり、安定同位体標識イブルチニブ（ $[\text{D}_5]$ -イブルチニブ）が利用可能であるかを評価するために、イブルチニブの薬物動態に及ぼす同位体効果の影響について *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。

2.6.4.5.1 *In vitro* 試験

2.6.4.5.1.1 非標識体を用いた検討

【評価資料 4.2.2.4.1】

Sprague Dawley ラット、ビーグル犬、カニクイザル及びヒトの肝ミクロソームを用いて、NADPH 存在下でイブルチニブの第 I 相代謝を評価した。イブルチニブの代謝はいずれの種においても高度で、固有クリアランス（ CL_{int} ）はサル（ $629 \mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$ ）、ラット

（ $596 \mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$ ）、ヒト（ $549 \mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$ ）及びイヌ（ $107 \mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$ ）の順であった【2.6.5.10（4.2.2.4.1）参照】。

2.6.4.5.1.2 標識体を用いた検討

【評価資料 4.2.2.3.11, 4.2.2.4.2, 4.2.2.4.3】

予備的な検討において、 ^{14}C -イブルチニブ（ラセミ混合物）を用いて、ヒト CYP 発現系（CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4）及びヒト肝ミクロソームにおけるイブルチニブの代謝を評価した【2.6.5.10（4.2.2.3.11）参照】。その結果、ヒトの CYP2D6 及び CYP3A4 発現系でイブルチニブの代謝が認められた。ヒトの CYP 発現系及び肝ミクロソームにおいて認められた代謝物は、以下に示す ^{14}C -イブルチニブ（*R*-エナンチオマー）を用いた本試験でも認められた。

雄性 Sprague-Dawley ラット、雌性 New Zealand White ウサギ、雄性ビーグル犬及びヒト（男女プール）の肝ミクロソーム及び肝細胞懸濁液に、 $3 \mu\text{mol}/\text{L}$ （ $1.32 \mu\text{g}/\text{mL}$ ）の ^{14}C -イブルチニブ（*R*-エナンチオマー）を添加してインキュベーション（肝ミクロソーム：10 分間、肝細胞懸濁液：2, 5, 10, 15, 20 及び 60 分間）し、*in vitro* での代謝を検討した【2.6.5.10（4.2.2.4.2）参照】。

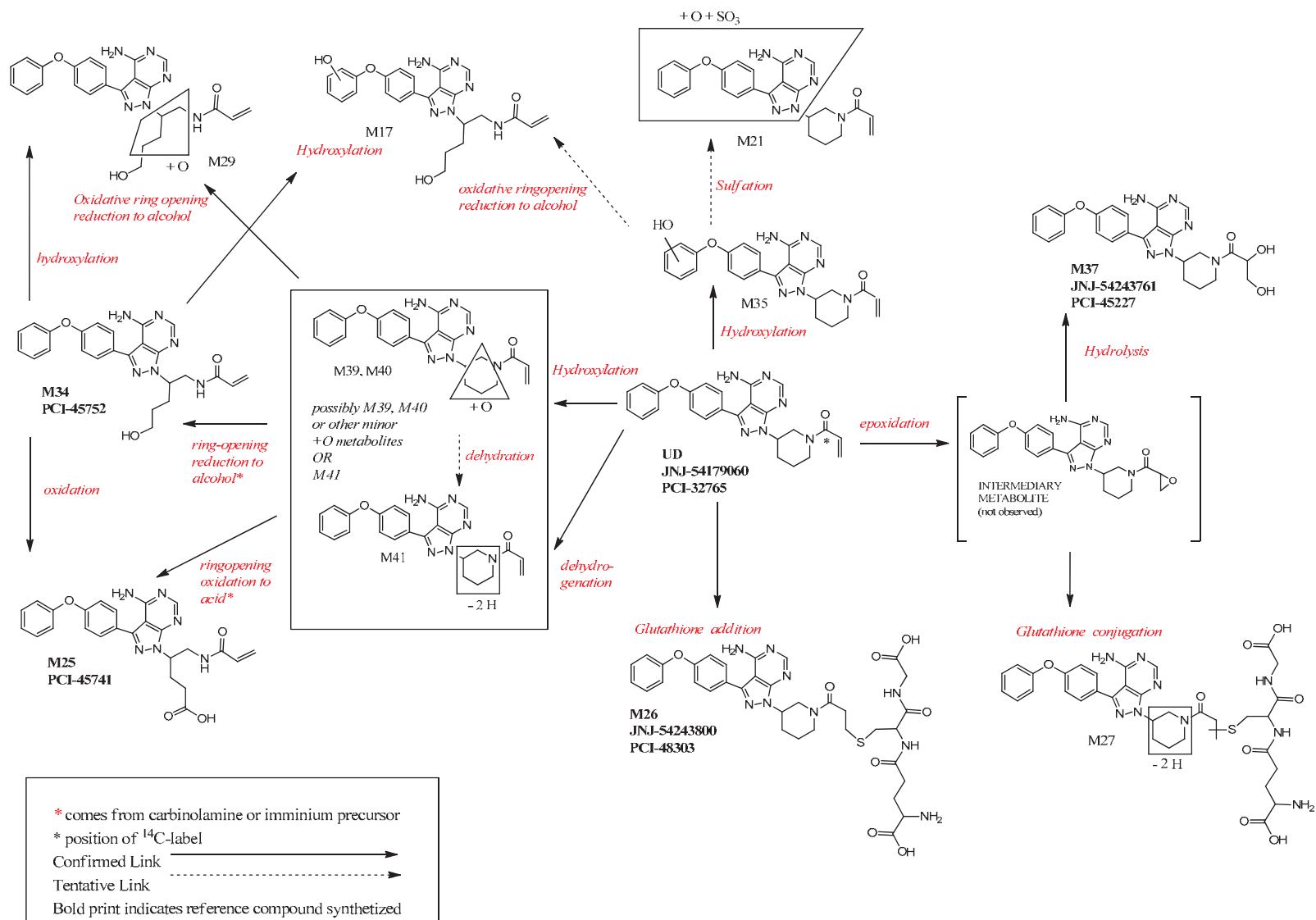
ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの肝ミクロソームでは、10 分間のインキュベーションでそれぞれ 90, 21, 51 及び 66%が代謝された。ラット及びウサギの肝細胞では、60 分間のインキュベーションでそれぞれ 87 及び 98%が代謝されたが、イヌ及びヒトの肝細胞において代謝はやや遅く、60 分間のインキュベーションでそれぞれ 72 及び 70%が代謝された。これらの結果から得られた CL_{int} は、ラット及びウサギの肝細胞（それぞれ 407 及び 391 $\mu\text{L}/\text{min}/10^6$ 細胞）の方がヒト及びイヌの肝細胞（それぞれ 173 及び 128 $\mu\text{L}/\text{min}/10^6$ 細胞）よりも高値であった。

ラット、ウサギ、イヌ又はヒトの肝ミクロソームにおける主要代謝物は、PCI-45227 (M37), M38, M39 及び M40（いずれもピペリジン環の一酸化体），並びに M41（ピペリジン環の二脱水素体）及び M25（ピペリジン環の酸化的開環に続くカルボン酸への酸化体）であった。一方、肝細胞ではこれらの代謝物以外に、M34（ピペリジン環の酸化的開環に続く第一級アルコールへの還元体），M35（フェニル基の水酸化体），M21（M35 の硫酸抱合体），M26（グルタチオン抱合体）及び M27（エポキシ化体のグルタチオン抱合体）が認められた。

肝細胞では M34 が特異的に認められ、肝ミクロソームに比べて多くの M25 生成が認められたことから、これらの代謝物生成反応にサイトゾールの酵素が関与している可能性が示唆された。また、これらの代謝物はヒトマスバランス試験（2.6.4.5.2.3）での糞中に認められており、本 *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験（PCI-32765CLL1002 試験【2.7.2.2.1.4 (1)参照】）においてケトコナゾールによるイブルチニブ代謝の障害が認められたことから、これらの代謝物の前駆体は CYP3A4/5 を介した酸化反応により生成し、肝ミクロソームではピペリジン環の一酸化体又は二脱水素体として認められたと考えられる。

ミクロソーム及び肝細胞における代謝物プロファイルは、定量的には動物種間で差が認められたものの、定性的には非常に類似していた。ヒト *in vitro* 代謝物はいずれも他の動物種の試料中にも認められ、ヒト特異的な代謝物はなかった。また、ヒト肝細胞で認められた代謝物は、 ^{14}C -イブルチニブを 140 mg の用量で単回経口投与したときの、ヒト血漿中代謝物（2.6.4.5.2.3）とよく一致していた。

In vitro 試験における ^{14}C -イブルチニブの推定代謝経路を図 2.6.4-4 及び【2.6.5.11D】に示す。

図 2.6.4-4 *In vitro* 試験【4.2.2.4.2 参照】における ^{14}C -イブラルチニブの推定代謝経路

一方、イブランチニブの代謝に及ぼす同位体効果の影響について検討するために、イブランチニブ及び[D₅]-イブランチニブをラット及びヒト肝細胞に添加して、代謝物プロファイルを比較した。その結果、イブランチニブ及び[D₅]-イブランチニブの間に代謝物生成量の差が認められ、同位体効果が影響を及ぼす可能性が示唆された【2.6.5.10 (4.2.2.4.3) 参照】。なお、*in vivo* 試験の結果については 2.6.4.5.2.1 に示す。

2.6.4.5.1.3 代謝酵素

【評価資料 4.2.2.4.4, 4.2.2.4.5, 4.2.2.4.6, 4.2.2.4.7】

ヒト CYP 発現系を用いた試験【2.6.5.10 (4.2.2.4.4) 参照】，並びにヒト肝ミクロソーム及び CYP 特異的阻害剤を用いた試験【2.6.5.10 (4.2.2.4.5) 参照】において、イブランチニブの代謝に関与する CYP 分子種を同定した。その結果、イブランチニブの代謝には主に CYP3A4/5 が関与し、CYP1A, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 及び CYP2D6 はほとんど関与しないことが示唆された。また、CYP3A4 選択的 mechanism-based inhibitor である CYP3A4 inhibitor を用いた検討及び CYP3A5 活性の異なるヒト肝ミクロソームを用いた検討から、イブランチニブの代謝における CYP3A5 の関与の程度は小さい（20%未満）ことが推察された【2.6.5.10 (4.2.2.4.6) 参照】。

ヒトの CYP2D6, CYP3A4 及び CYP3A5 発現系を用いて PCI-45227 (M37) 生成反応の最大速度 ($V_{\max}$) 及びミカエリス定数 (K_m) を測定した結果、 CL_{int} ($V_{\max}/K_m$) は CYP2D6 に比べて CYP3A4 及び CYP3A5 の方が高値であった【2.6.5.10 (4.2.2.4.7) 参照】。

ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、弱い～中等度の CYP3A4 阻害剤（フルオキセチン、ノルフルオキセチン及びフルボキサミン）が、CYP3A によるイブランチニブ代謝に及ぼす影響を評価した（表 2.6.4-7）。その結果、フルオキセチン、ノルフルオキセチン及びフルボキサミンの IC_{50} はそれぞれ 78, 21 及び 48 $\mu\text{mol/L}$ であり、イブランチニブ代謝の阻害の程度は弱いことが示された。イブランチニブ及びミダゾラムの代謝に対する各阻害剤の IC_{25} は同程度であることから、生体中濃度程度の低濃度において、各阻害剤によるイブランチニブ代謝の阻害は、ミダゾラム代謝の阻害と同程度であると考えられる【2.6.5.10 (4.2.2.4.6) 参照】。なお、臨床でフルオキセチン及びミダゾラムを併用投与したとき、ミダゾラムの AUC に顕著な薬物相互作用は認められておらず²⁾，また上記の *in vitro* 阻害試験結果を用いた PBPK によるイブランチニブ（560 mg 投与）及びフルボキサミン（100 mg を 1 日 2 回投与）併用投与時のシミュレーション【5.3.5.4.1 参照】では、イブランチニブの曝露量の増加は 2 倍未満であった。

表 2.6.4-7 イブルチニブ及びプローブ基質の代謝に及ぼす CYP3A4 阻害剤の影響

Substrate		Inhibitor		
		Fluoxetine	Norfluoxetine	Fluvoxamine
Ibrutinib (UD)	IC ₂₅ (μM)	42	11	24
	IC ₅₀ (μM)	78	21	48
	IC ₇₅ (μM)	145	40	99
	% Inhibition at 100 μM	57±1.4	97±3.3	75±8.9
Midazolam (formation of 1'-OH midazolam)	IC ₂₅ (μM)	36	9.5	31
	IC ₅₀ (μM)	91	24	74
	IC ₇₅ (μM)	232	62	177
	% Inhibition at 100 μM	58±5.2	87±1.4	64±2.4
Alprazolam (formation of 4'-OH alprazolam)	IC ₂₅ (μM)	17	9.5	8.4
	IC ₅₀ (μM)	42	20	33
	IC ₇₅ (μM)	101	43	129
	% Inhibition at 100 μM	70±3.8	89±0.26	74±1.1

IC₂₅ = 25% inhibitory concentration
 IC₅₀ = half maximal inhibitory concentration
 IC₇₅ = 75% inhibitory concentration
 UD = unchanged drug

2.6.4.5.2 *In vivo* 試験

2.6.4.5.2.1 ラット

【評価資料 4.2.2.3.1, 4.2.2.4.8, 4.2.2.4.9, 4.2.2.4.10】

無処置の雌雄ラット及び胆管カニュレーションした雄性ラットに ¹⁴C-イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を 10 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与したときの代謝について検討した

【2.6.5.9A (4.2.2.4.8, 4.2.2.4.9) 参照】。また開発早期に実施した、無処置の雄性ラットに ¹⁴C-イブルチニブ (ラセミ混合物) を 10 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与又は 2 mg/kg の用量で単回静脈内投与した試験【2.6.5.9A (4.2.2.3.1) 参照】についても記載する。

無処置ラットに ¹⁴C-イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を単回経口投与したとき、イブルチニブは著しい代謝を受けた。イブルチニブの主要な代謝経路は、(1) 末端フェニル基の水酸化 (M35)、(2) ピペリジン環の酸化的開環及びそれに続く第一級アルコールへの還元 (M34) 又はカルボン酸への酸化 (M25)、(3) アクリロイル基のエチレンのエポキシ化及びそれに続く加水分解によるジヒドロジオール体 [PCI-45227 (M37)] 生成であり、その他の代謝物のほとんどはこれらの主要経路の組合せ又は更に下流の二次的な代謝により生成した。

雌雄ともに、投与 1 時間後の血漿では未変化体が主な構成成分であったが、それ以降では代謝物が大部分を占めた。血漿中主要代謝物は M5 (二酸素付加体のグルクロン酸及びシステイン抱合体)、M15 (二酸素付加体のグルクロン酸抱合体) 及び PCI-45227 (M37) であった。

尿中では、雌雄ともに未変化体は認められなかった。尿中排泄された放射能は投与量の 2%未満と少なく、代謝物は定量できなかった。

胆管カニュレーションした雄性ラットにおいて、胆汁中に排泄された放射能は投与量の 47%であった。胆汁中に未変化体は認められず、代謝物は主に第 I 相代謝物のグルクロン酸及び硫酸抱合体であった。胆汁中の主要代謝物は M21 であった (投与放射能の約 8%)。

無処置ラットにおいて、放射能は主に糞中に排泄され、糞中代謝物プロファイルは概して雌雄で同様であった。糞中代謝物の一部は胆管カニュレーションした雄性の胆汁中にも認められた。糞中代謝物は主に第 I 相代謝物であり、未変化体は投与放射能の約 2%であった。糞中の主要代謝物は共溶出する M35 及び M34 であり、合わせて投与放射能の 14 (雄性) 及び 16% (雌性) で

あった。また、M17 (M34 のフェニル基の水酸化体、M16 及び M18 と共溶出) も主要な糞中代謝物であり、投与放射能の 12 (雄性) 及び 8% (雌性) であった。

無処置ラット及び胆管カニュレーションしたラットにおいて、糞中代謝物のプロファイルは定性的に類似していたことから、これらの代謝物が消化管内に分泌されたことが示唆された。また、無処置ラットでは、糞中代謝物が主に第 I 相代謝物であったことから、胆汁中に排泄された抱合体代謝物が腸内細菌叢により脱抱合された可能性が示された。さらに、無処置ラット及び胆管カニュレーションしたラットともに、糞中の未変化体はわずかであり、多量の酸化代謝物が認められた。これらのことから、(1) 経口投与後のイブルチニブのほぼ完全な吸収、(2) 著しい代謝 (消化管及び肝臓)、(3) 代謝物の消化管内への分泌及び胆汁中排泄、(4) 抱合体の腸内細菌叢による脱抱合、が示唆された。

ラセミ混合物を投与した開発早期の試験では、 ^{14}C -イブルチニブ (ラセミ混合物) に ^{12}C 体 (*R*-エナンチオマーのみ) を添加し、雄性ラットに単回経口又は静脈内投与したときの代謝物中の ^{14}C 標識体 (*R*-エナンチオマー+S-エナンチオマー) 及び ^{12}C 体 (*R*-エナンチオマーのみ) の比率を検討した。その結果、両エナンチオマーの代謝には若干の差異が認められたものの、ほとんどの代謝経路は類似していることが示唆された。

$^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$ 同位体比データに基づくと、メルカプツール酸抱合体生成に至る代謝経路には、*S*-エナンチオマーが優先的に関与することが示された。なお、*R*-エナンチオマーのイブルチニブを投与したとき、グルタチオン抱合及びそれに続くメルカプツール酸抱合体生成に至る二次的な代謝物の生成はわずかであった。

ラット *in vivo* 代謝試験の結果から推定された代謝経路を [図 2.6.4-5](#) 及び [図 2.6.4-6](#)、並びに **【2.6.5.11A】** に示す。

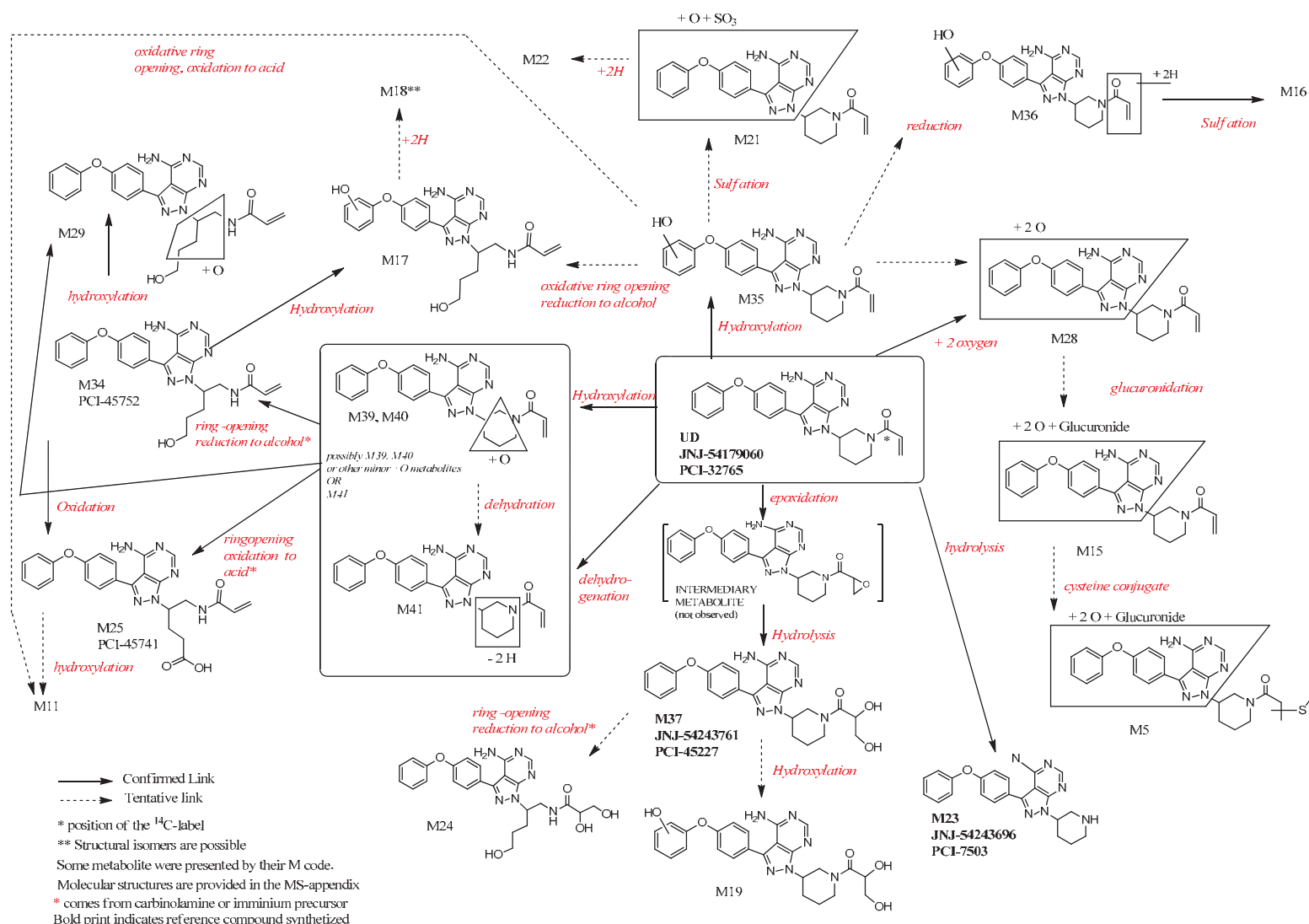
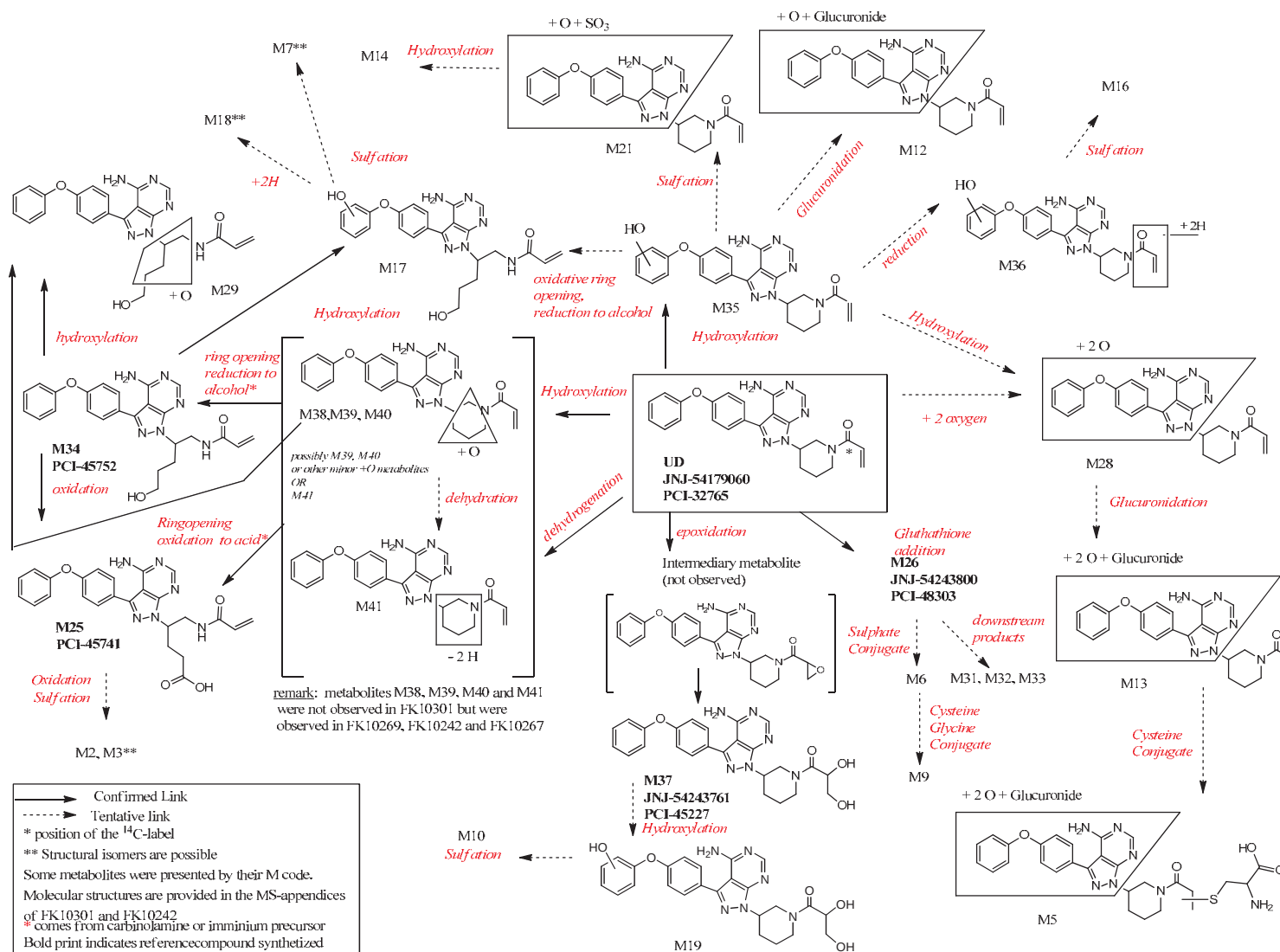


図 2.6.4-5 ラットマスバランス試験【4.2.2.4.8 参照】の試料（血漿，尿及び糞）から推定された ¹⁴C-イブプロフェンの代謝経路

図 2.6.4-6 ラット排泄試験【4.2.2.4.9 参照】の試料（胆汁，尿及び糞）から推定された ¹⁴C-イブラルチニブの代謝経路

イブルチニブの血漿中濃度推移及び代謝プロファイルに及ぼす同位体効果の影響について検討するために、雄性ラットにイブルチニブ及び[D₅]-イブルチニブをそれぞれ 2.5 mg/kg の用量で混合して単回静脈内投与した【2.6.5.9A (4.2.2.4.10) 参照】。その結果、イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) の血漿中濃度推移には顕著な同位体効果は認められなかったものの、M35 及び M21 の生成に同位体効果が影響を及ぼす可能性が示唆された。*In vitro* 試験の結果 (2.6.4.5.1.2) も踏まえると、ヒトバイオアベイラビリティ試験に[D₅]-イブルチニブを利用することは適切ではないと考えられる。

2.6.4.5.2.2 イヌ

【評価資料 4.2.2.4.11】

雄性ビーグル犬に ¹⁴C-イブルチニブ (R-エナンチオマー) を 30 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与したときの代謝について検討した【2.6.5.9B (4.2.2.4.11) 参照】。

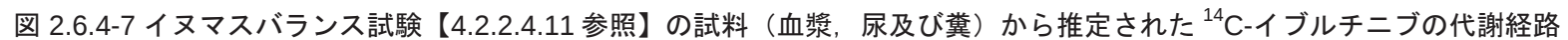
ラットと同様、イヌにおいてもイブルチニブは著しい代謝を受け、イブルチニブの主要な代謝経路は、(1) 末端フェニル基の水酸化 (M35)、(2) ピペリジン環の酸化的開環及びそれに続く第一級アルコールへの還元 (M34) 又はカルボン酸への酸化 (M25)、(3) アクリロイル基のエチレンのエポキシ化及びそれに続く加水分解によるジヒドロジオール体 [PCI-45227 (M37)] 生成又はグルタチオン抱合であり、その他の代謝物のほとんどはこれらの主要経路の組合せ又は更に下流の二次的な代謝により生成した。

血漿では未変化体が主な構成成分であり、投与 24 時間後までの総放射能曝露量の 13.9%であった。血漿中主要代謝物は PCI-45227 (M37)、M34、M35、M21 及び M31 (アクリロイル基のエチレンのグルタチオン抱合体由来代謝物) であった。

尿中では、未変化体は認められないか、ごくわずか (投与放射能の 0.11%) であった。尿中排泄された代謝物はいずれも投与量の 1%未満であった。

糞中では、未変化体は投与放射能の 2.66%であった。糞中主要代謝物は M35、M17 及び M21 であり、M35 (他の非主要代謝物と共溶出) は投与放射能の 16.7%、M17 は投与放射能の 8.16%、M21 (他の代謝物と共溶出するが M21 が最も多いと考えられる) は投与放射能の 6.49%であった。

イヌ *in vivo* 代謝試験 (マスバランス試験) の結果から推定された代謝経路を図 2.6.4-7 及び【2.6.5.11B】に示す。



2.6.4.5.2.3 ヒト

(1) ヒトマスバランス試験

【評価資料 4.2.2.4.12】

健康男性被験者に ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を 140 mg の用量で溶液として単回経口投与した (PCI-32765CLL1004 試験【2.7.2.2.1.1 (1)参照】) ときの代謝について検討した【2.6.5.9C (4.2.2.4.12) 参照】。

ラット及びイヌと同様、ヒトにおいてもイブルチニブは著しい代謝を受け、イブルチニブの主要な代謝経路は、(1) 末端フェニル基の水酸化 (M35)、(2) ピペリジン環の酸化的開環及びそれに続く第一級アルコールへの還元 (M34) 又はカルボン酸への酸化 (M25)、(3) アクリロイル基のエチレンのエポキシ化及びそれに続く加水分解によるジヒドロジオール体 [PCI-45227 (M37)] 生成であり、その他の代謝物のほとんどはこれらの主要経路の組合せ又は更に下流の二次的な代謝により生成した。なお、ヒトでは代謝物の多くがアクリロイル基の変化を伴わなかった。

血液及び血漿中の主要成分は M21, M25, M34, PCI-45227 (M37) 及び未変化体であった。ヒト血漿中主要代謝物は、PCI-45227 (M37) を除きラットとは異なったが、すべてイヌ血漿中にも認められたものであった。

血漿中放射能の分析結果に基づく、ヒト代謝物は、PCI-45227 (M37) が投与 4 時間後まで定量可能であった以外、投与 2 時間後までしか認められなかった。投与 1～2 時間後において、イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) は血漿中総抽出可能放射能 (共有結合していない放射能) の 7～10% であった。同じ時点において、M25 及び M34 はいずれも血漿中総抽出可能放射能の 10～14%、M21 は 20～25% であった。イブルチニブ及びその代謝物の合計濃度と比較すると、イブルチニブ、M21, M25, M34 及び PCI-45227 (M37) の相対存在量は、それぞれ 11～13, 35～38, 18～23, 16 及び 14～15% であると考えられる。

尿中に未変化体は認められなかった。尿中代謝物の大部分はピペリジン環開環の代謝経路で生成したものであり、合計して投与放射能の約 5% であった。

糞中では未変化体はわずかであり、投与放射能の 0.77% であった。糞中の主要代謝物 (それぞれ投与放射能の 2～9%) は、M11 (M25 のフェニル基の水酸化体)、M17, M20 (M25 の脂肪族炭素の水酸化体)、M24 (M34 及び M37 経由の両経路の組合せ)、M25, M29 (M34 の脂肪族炭素の水酸化体)、M34, M36 (M35 のアクリロイル基のジヒドロ化体) 及び PCI-45227 (M37) であった。

ヒトの尿及び糞中に認められた主要代謝物の量を図 2.6.4-8 に示す。

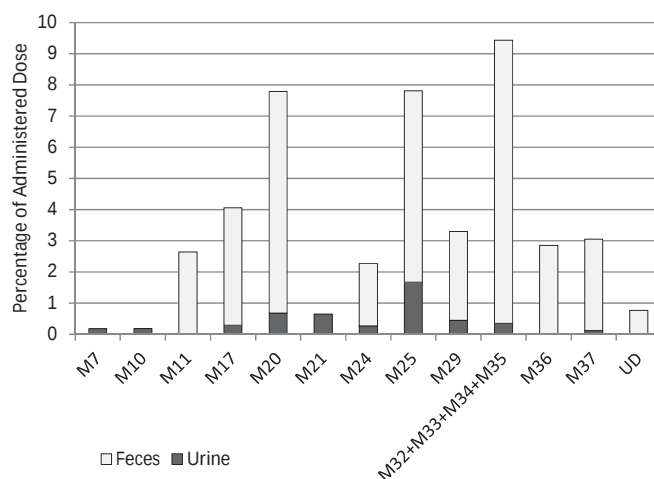


図 2.6.4-8 健康男性被験者に ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を 140 mg の用量で単回経口投与したときの尿及び糞中に認められた主要代謝物

UD = unchanged drug

なお、血漿からは、M23（脱アクリロイル基体）及びその下流代謝物〔M1（M23 の一酸素付加体のグルクロン酸抱合体）、M4（M23 の一酸素付加体の硫酸抱合体）及び M30（M23 の一酸素付加二脱水素体）〕などの ^{14}C 標識アクリロイル基を持たない微量代謝物も質量分析法を用いた検討により検出された。

ヒト *in vivo* 代謝試験（マスバランス試験）の結果から推定された代謝経路を図 2.6.4-9 及び【2.6.5.11C】に示す。

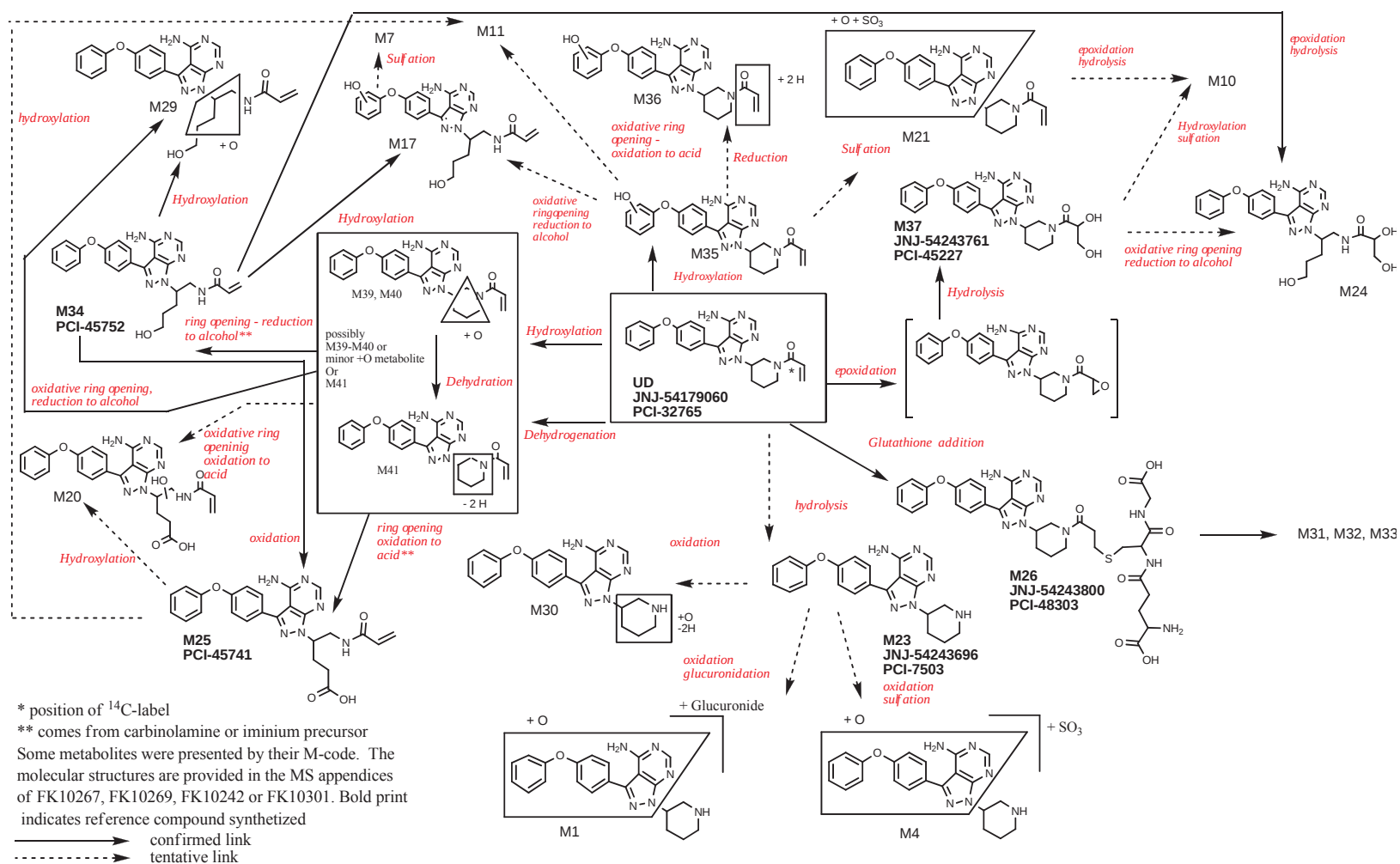


図 2.6.4-9 ヒトマスバランス試験【4.2.2.4.12 参照】の試料（血液，血漿，尿及び糞）から推定された ^{14}C -イブラルチニブの代謝経路

(2) ヒト血漿中主要代謝物の同定

【評価資料 4.2.2.4.13】

ヒト血漿中主要代謝物を同定しその存在量を推定するために、イブルチニブを健康男性被験者（PCI-32765CLL1002 試験）に 70 mg の用量で溶液として単回経口投与したとき、又は血液がん患者（PCYC-1111-CA 試験）に 420 mg/日の用量でカプセル製剤として反復経口投与したときの血漿試料を分析した。分析時にはほとんどの代謝物の標品が入手できなかったことから、あらかじめ ^{14}C -イブルチニブをヒト肝細胞とインキュベーションして各代謝物濃度を UPLC-放射能検出法で定量した *in vitro* 試料をヒト血漿試料と混合し、高分解能質量分析法で各代謝物の $^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$ 同位体比を測定することにより、血漿中代謝物の存在量を推定した。なお、この方法で推定したイブルチニブ及び PCI-45227（M37）の濃度は、バリデートされた分析法で測定した濃度と同程度であった。M23 については ^{14}C 標識部位を有さないことから、代謝物標品を用いた分析を行った。

その結果、ヒト血漿中総薬物関連物質の AUC の 10%を超える、又は反復投与により 10%程度となる主要代謝物として、M21, M23, M25, M34 及び PCI-45227（M37）が示唆された（表 2.6.4-8）【2.6.5.9C（4.2.2.4.13）参照】。M23 は単回及び 8 日目投与後の血漿のいずれでも総薬物関連物質の AUC の 10%を超えなかったが、投与 8 日目以降も累積が認められた（表 2.6.4-9）。

これらの試験（PCI-32765CLL1002 試験及び PCYC-1111-CA 試験）で単回及び 8 日目投与後に認められた血漿中主要代謝物はヒトマスバランス試験（PCI-32765CLL1004 試験）の血漿及び血液で認められた代謝物と同様であり、すべてラット又はイヌの血漿でも認められた。

表 2.6.4-8 ヒトにイブルチニブを 420 mg/日の用量で反復経口投与したとき（PCYC-1111-CA 試験）の
投与 1 及び 8 日目における代謝物の推定 AUC 及び総薬物関連物質に対する割合

Metabolite Identifier	Day 1 (AUC ₂₄ Hamilton pool)						Day 8 (AUC ₂₄ Hamilton pool)						AUC ₂₄ Accumulation Factor
	Pooled Plasma Conc (ng/mL)	AUC (ng·h/mL)	% TDRM	BA (ng/mL)	AUC (ng·h/mL)	% TDRM(*)	Pooled Plasma Conc (ng/mL)	AUC (ng·h/mL)	% TDRM	BA (ng/mL)	AUC (ng·h/mL)	% TDRM(*)	
M1 (\$)	0.89	21.4	0.59	N/A	21.4	0.54	8.08	194	2.84	N/A	194	2.64	9.1
M4 (\$)	1.53	36.7	1.01	N/A	36.7	0.93	3.43	82.3	1.20	N/A	82.3	1.12	2.2
M7 (\$\$)	1.40	33.6	0.92	N/A	33.6	0.85	2.43	58.3	0.85	N/A	58.3	0.79	1.7
M10 (\$\$)	0.93	22.3	0.61	N/A	22.3	0.56	1.19	28.6	0.42	N/A	28.6	0.39	1.3
M12 (\$\$)	0.34	8.16	0.22	N/A	8.16	0.21	0.53	12.7	0.19	N/A	12.7	0.17	1.6
M17	3.20	76.8	2.10	N/A	76.8	1.94	6.60	158	2.32	N/A	158	2.16	2.1
M21	32.6	782	21.4	N/A	782	19.8	73.6	1766	25.8	N/A	1766	24.0	2.3
M23(**)	1.46	35.0	0.96	N/A	35.0	0.89	9.28	223	3.26	N/A	223	3.03	6.4
M25	33.7	809	22.2	N/A	809	20.4	34.5	828	12.1	N/A	828	11.3	1.0
M30 (\$)	4.24	102	2.79	N/A	102	2.57	11.7	281	4.11	N/A	281	3.82	2.8
M31 (\$\$)	0.41	9.84	0.27	N/A	9.84	0.25	0.53	12.7	0.19	N/A	13	0.17	1.3
M34	33.8	811	22.2	N/A	811	20.5	71.3	1711	25.0	N/A	1711	23.3	2.1
M35	3.40	81.6	2.24	N/A	81.6	2.06	4.40	106	1.54	N/A	106	1.44	1.3
M37	19.0	456	12.5	26.2 (#)	629	15.9	29.3	703	10.3	43.1 (#)	1034	14.1	1.6
M39	-	-	-	-	-	-	1.80	43.2	0.63	N/A	43	0.59	-
M40	-	-	-	-	-	-	0.60	14.4	0.21	N/A	14	0.20	-
UD	14.6	350	9.60	20.2 (#)	485	12.2	25.1	602	8.81	32.5 (#)	780	10.6	1.6
M41	0.60	14.4	0.39	N/A	14.4	0.36	0.60	14.4	0.21	N/A	14	0.20	1.0
TDRM		3650	100	-	3958	100	TDRM		6839	100	-	7348	100

BA=bioanalytical method; N/A= not applicable; TDRM= total drug related material

(\$)	Determination of abundance of metabolites using relative UV/MS response factor versus M23 coupled to estimated abundance of M23 obtained with a calibration curve
(\$\$)	Conjugated metabolites – no MS response factor could be calculated, assumption was made that the phase II metabolites have a similar response to as their respective phase I metabolites
(#)	Determination using a validated bioanalytical method for PCI-45227 (M37) and unchanged drug
(**)	Estimated abundance obtained using a calibration curve (authentic standard of M23)
(*)	Determination of abundance of metabolites using a combination of the C ¹² /C ¹⁴ approach and bioanalytical results and comparison to TDRM data
	AUC ₂₄ > 10 % total drug related material

表 2.6.4-9 イブルチニブを 420 mg/日の用量で反復経口投与したときの 2 例の被験者（被験者 ID：221-002 及び 221-005）における
血漿中代謝物の推定濃度及び AUC（PCYC-1111-CA 試験）

221-002 (Day 1)					221-005 (Day 1)				
	Metabolite Identifier					Metabolite Identifier			
Time	M1 (ng/mL)	M4 (ng/mL)	M30 (ng/mL)	M23 (ng/mL)	Time	M1 (ng/mL)	M4 (ng/mL)	M30 (ng/mL)	M23 (ng/mL)
Day 1, 0 h	DL	DL	NF	NF	Day 1, 0 h	DL	DL	NF	NF*
Day 1, 1 h	0.12	0.93	1.64	0.15	Day 1, 1 h	0.02	DL	NF	0.10
Day 1, 2 h	0.20	1.51	2.56	0.28	Day 1, 2 h	0.27	1.00	2.37	0.40
Day 1, 4 h	0.52	5.15	7.18	1.83	Day 1, 4 h	0.85	2.89	6.09	2.19
Day 1, 7 h	0.26	2.21	5.02	1.37	Day 1, 7 h	0.80	2.07	6.54	3.59
Day 1, 24 h	0.27	1.15	7.54	3.07	Day 1, 24 h	1.73	0.64	4.76	5.50
AUC ₂₄ (ng·h/mL)	6.60	47.9	138	45.0	AUC ₂₄ (ng·h/mL)	25.3	34.8	125	88.8

221-002 (Day 8)					221-005 (Day 8)				
	Metabolite Identifier					Metabolite Identifier			
Time	M1 (ng/mL)	M4 (ng/mL)	M30 (ng/mL)	M23 (ng/mL)	Time	M1 (ng/mL)	M4 (ng/mL)	M30 (ng/mL)	M23 (ng/mL)
Day 8, 0 h	0.81	1.48	8.47	12.5	Day 8, 0 h	6.46	1.56	7.49	24.0
Day 8, 1 h	0.94	1.71	9.89	13.6	Day 8, 1 h	6.62	2.20	8.03	21.9
Day 8, 2 h	1.41	3.13	13.0	17.3	Day 8, 2 h	6.55	3.83	9.01	19.0
Day 8, 4 h	1.70	4.39	14.2	18.5	Day 8, 4 h	6.79	3.84	10.2	23.8
Day 8, 7 h	1.35	3.18	12.3	16.4	Day 8, 7 h	6.47	2.70	12.0	27.0
AUC ₂₄ (ng·h/mL)	27.7	61.7	260	356	AUC ₂₄ (ng·h/mL)	153	57.8	230	584

221-002 (Days 15 and 22)					221-005 (Days 15 and 22)				
	Metabolite Identifier					Metabolite Identifier			
Time	M1 (ng/mL)	M4 (ng/mL)	M30 (ng/mL)	M23 (ng/mL)	Time	M1 (ng/mL)	M4 (ng/mL)	M30 (ng/mL)	M23 (ng/mL)
Day 15 0 h	1.51	1.46	10.3	22.0	Day 15 0 h	8.34	1.63	11.1	33.0
Day 15 2 h	1.66	1.53	9.82	22.0	Day 15 2 h	7.74	2.63	12.2	28.4
Day 22 0 h	1.18	1.26	9.98	22.4	Day 22 0 h	9.66	2.10	12.4	33.7
Day 22 2 h	1.46	3.24	12.4	24.1	Day 22 2 h	9.47	2.65	13.0	29.4
C _{av} (ng/mL)	1.45	1.87	10.6	22.6	C _{av} (ng/mL)	8.80	2.25	12.2	31.1

DL = mass spectrometry detection limit; NF=not found

*Carry-over between injections was observed. The compound was set to not found.

C_{av} = average concentration of Day 15 and Day 22

2.6.4.5.3 推定代謝経路

推定代謝経路は 2.6.4.5.1 項 (*in vitro*) 及び 2.6.4.5.2 項 (*in vivo*) に示す。

2.6.4.5.4 体循環前代謝（消化管／肝初回通過効果）

ラットの *in vivo* 代謝データ【2.6.4.5.2.1 参照】，マウス及びラットにイブランチニブを腹腔内又は経口投与したときのバイオアベイラビリティ【マウス：2.6.4.3.2.1，ラット：2.6.4.3.2.2 参照】，並びにラット及びイヌにイブランチニブを単回静脈内投与したときの PCI-45227 (M37) /未変化体比が経口投与時に比べて低値であったこと【ラット：2.6.4.3.2.2，イヌ：2.6.4.3.2.4 参照】から，イブランチニブは顕著な初回通過効果を受けることが示唆された。

マウス及びラットにイブランチニブを腹腔内投与したときの F は，100%より低値ではあるものの経口投与したときに比べて高値であった。また，雌雄ラットにイブランチニブを単回経口投与したときの循環血漿中及び門脈血漿中イブランチニブの曝露量を比較すると【2.6.4.3.2.2 参照】，循環血漿中イブランチニブの AUC_{∞} は，門脈血漿中イブランチニブの AUC_{∞} より 60%程度低値であった。さらに，静脈内投与時の循環血漿中イブランチニブの AUC_{∞} （用量で標準化）と比較して，経口投与時の門脈血漿中イブランチニブの AUC_{∞} は約 1/2 であった。これらのことから，経口投与時には肝臓及び消化管の両者が初回通過効果に関与することが示唆された。

一方，イブランチニブ経口投与時の PCI-45227 (M37) の曝露量は，門脈及び循環血漿中で同程度であったことから，ラットにイブランチニブを経口投与したときの PCI-45227 (M37) の生成には，消化管での代謝が大きく関与する可能性が考えられる。

2.6.4.5.5 酵素誘導及び阻害

2.6.4.5.5.1 酵素誘導

【評価資料 4.2.2.4.14】

3 例のドナーから採取したヒト肝細胞に，名目濃度 10 $\mu\text{mol/L}$ までのイブランチニブ及び PCI-45227 (M37) を添加し，*in vitro* での肝 CYP 誘導能を検討した【2.6.5.12A (4.2.2.4.14) 参照】。陽性対照としては，オメプラゾール (CYP1A2)，フェノバルビタール (CYP2B6) 及びリファンピシン (CYP3A4/5) を用いた。

その結果，陽性対照で適切な酵素誘導が認められる条件下において，イブランチニブでは CYP1A2 の mRNA の濃度非依存的な増加（平均で 2 倍超，ただし陽性対照の作用の 20%未満）が認められたものの，CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 増加は認められず（平均で 2 倍未満かつ陽性対照の作用の 20%未満），また CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4/5 のいずれの活性も亢進しなかった（平均で 2 倍未満かつ陽性対照の作用の 20%未満）。

一方，PCI-45227 (M37) では CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 増加（平均で 2 倍超，いずれの増加も一貫した濃度依存性は認められず，3 例中 1 例が高値を示したことに起因した可能性が考えられる）が認められたものの，CYP1A2 の mRNA 増加は認められず（平均で 2 倍未満かつ陽性対照の作用の 20%未満），また CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4/5 のいずれの活性も亢進しなかった（平均で 2 倍未満かつ陽性対照の作用の 20%未満）。

臨床薬物相互作用試験【2.7.2.2.1.4 参照】においてイブルチニブの曝露量は、ケトコナゾール併用投与による CYP3A 阻害、並びにリファンピシンの前投与及び併用投与による CYP3A 誘導により顕著な影響を受けた。また、イブルチニブはグレープフルーツジュースによる消化管 CYP3A 活性阻害の影響を受けた。さらに、イブルチニブはヒトでは主に CYP3A により代謝され、CYP1A, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 及び CYP2D6 はほとんど代謝に関与しない【2.6.4.5.1.3 参照】。このことから、イブルチニブが消化管及び肝臓の CYP3A を誘導すると仮定すると、反復投与時のイブルチニブの血漿中濃度は、単回投与時の薬物動態からの予測よりも低くなると考えられる。しかし、ヒトにイブルチニブを反復投与したときの曝露量は単回投与時の曝露量から予測可能であった【2.7.2.2.1.5 参照】ことから、イブルチニブの臨床使用時に CYP3A 活性は顕著に変動しないことが示唆された。

2.6.4.5.5.2 酵素阻害

【評価資料 4.2.2.4.15, 4.2.2.4.16, 4.2.2.4.17, 4.2.2.4.18, 4.2.2.4.19】

ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験において、イブルチニブ及びヒト主要代謝物 [M23, M25, M34 及び PCI-45227 (M37)] が各 CYP 分子種 [CYP1A2, CYP2A6 (M23, M25 及び M34 のみ), CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 及び CYP3A4/5] を阻害するかを検討した。プローブ基質の濃度はヒト肝ミクロソームにおける K_m 付近の濃度とし、イブルチニブ (0.01~100 $\mu\text{mol/L}$)、M23 (0.1~100 $\mu\text{mol/L}$)、M25 (0.1~100 $\mu\text{mol/L}$)、M34 (0.1~100 $\mu\text{mol/L}$) 又は M37 (0.03~100 $\mu\text{mol/L}$) を添加して CYP 阻害能を測定した。また、イブルチニブ (0.03~100 $\mu\text{mol/L}$) による CYP3A の時間依存的な阻害についても、NADPH 存在下又は非存在下で検討した。M21 については代謝物標品が入手できなかったことから試験を実施しなかった。

なお、*in vitro* 試験結果から臨床使用時の阻害の可能性を評価するためのヒト血漿中イブルチニブ及び代謝物濃度としては以下の濃度を用いた。

- ・ イブルチニブ [0.300 $\mu\text{mol/L}$ (0.132 $\mu\text{g/mL}$)] : イブルチニブを 420 mg/日の用量で反復経口投与したとき (PCYC-1102-CA 試験) の定常状態における平均 $C_{\max}$
- ・ M23 [0.139 $\mu\text{mol/L}$ (0.0537 $\mu\text{g/mL}$)] : イブルチニブを 420 mg/日の用量で反復経口投与したとき (PCYC-1111-CA 試験) の、2 例の被験者の投与 15 及び 22 日目における平均血漿中濃度 (表 2.6.4-9 参照) を、不確定要素を考慮して 2 倍した推定値
- ・ M25 [0.319 $\mu\text{mol/L}$ (0.151 $\mu\text{g/mL}$)] : イブルチニブを 420 mg/日の用量で反復経口投与したとき (PCYC-1102-CA 試験) の定常状態におけるイブルチニブの平均 $C_{\max}$ に、イブルチニブを 420 mg/日の用量で反復経口投与したとき (PCYC-1111-CA 試験) の曝露量 (AUC_{24}) の M25/未変化体比 (表 2.6.4-8 参照: バリデートされた分析法で測定したイブルチニブの曝露量を使用) を乗じた推定値
- ・ M34 [0.659 $\mu\text{mol/L}$ (0.302 $\mu\text{g/mL}$)] : イブルチニブを 420 mg/日の用量で反復経口投与したとき (PCYC-1102-CA 試験) の定常状態におけるイブルチニブの平均 $C_{\max}$ に、イブルチニブを 420 mg/日の用量で反復経口投与したとき (PCYC-1111-CA 試験) の曝露量

(AUC₂₄) の M34/未変化体比 (表 2.6.4-8 参照：バリデートされた分析法で測定したイブルチニブの曝露量を使用) を乗じた推定値

- ・ PCI-45227 (M37) [0.257 µmol/L (0.122 µg/mL)] : イブルチニブを 420 mg/日の用量で反復経口投与したとき (PCYC-1102-CA 試験) の定常状態における平均 C_{max}

(1) イブルチニブ

イブルチニブは CYP1A2 及び CYP2E1 を阻害しなかった (表 2.6.4-10) 【2.6.5.12B (4.2.2.4.15) 参照】。また, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4/5 に対する弱い阻害が認められたものの, その IC₅₀ は 10~25 µmol/L であった。さらに, CYP3A に対する時間依存的阻害は認められなかった。

イブルチニブの IC₅₀ 又は阻害定数 (K_i) 値は, ミクロソームたん白質濃度を 0.2 mg/mL とし, 15 分間インキュベーションして算出したが, インキュベーション中にイブルチニブが代謝された可能性が考えられる。そのため, 別試験で実施されたヒト肝ミクロソーム (たん白質濃度: 0.1 及び 0.5 mg/mL) におけるイブルチニブの代謝安定性の検討結果 【4.2.2.4.2, 4.2.2.4.5 参照】に基づき, 本試験でのイブルチニブ濃度の低下を推定した。たん白質濃度を 0.1 及び 0.5 mg/mL としたとき, 15 分間インキュベーション後のイブルチニブの残存率はそれぞれ 17 及び 1.5% と算出された。これらの結果に基づき, 0.2 mg/mL のたん白質濃度で 15 分間インキュベーションした場合, イブルチニブ濃度は試験開始時の 1/12 (残存率は約 8.5%) まで低下すると推定された 【5.3.5.4.2 参照】。

以上のことから, イブルチニブの [I]_i/K_i 値の評価には, *in vitro* 試験における名目イブルチニブ濃度から算出した K_i 値, 及び worst case として, 15 分間のインキュベーション中のイブルチニブの速やかな代謝を考慮した 1/12 倍低値の K_i 値の両者を用いた。

表 2.6.4-10 イブルチニブによる CYP 分子種阻害能

CYP enzyme	Substrate	Substrate Conc (μM)	Based on nominal ibrutinib levels incubated					Based on 1/12 of nominal ibrutinib levels incubated (worst case) ^b				
			IC ₅₀ (μM)	K _i ^a (μM)	[I]/K _i	AUCR ^c	Prediction	IC ₅₀ (μM)	K _i ^a (μM)	[I]/K _i	AUCR ^c	Prediction
1A2	Ethoxyresorufin	1	>100	>50	<0.006	--	remote	>8.3	>4.2	<0.07	--	remote
2B6	Bupropion	100	9.6	4.8	0.06	--	remote	0.80	0.40	0.75	1.09	remote
2C8	Paclitaxel	10	24	12	0.02	--	remote	2.0	1.0	0.30	1.06	remote
2C9	Diclofenac	10	12	6	0.05	--	remote	1.0	0.50	0.60	1.04	remote
2C19	Omeprazole	0.5	13	6.5	0.05	--	remote	1.10	0.54	0.55	1.09	remote
2D6	Dextromethorphan	5	25	12.5	0.02	--	remote	2.1	1.0	0.29	1.05	remote
2E1	Chlorzoxazone	100	NC	>50	<0.006	--	remote	NC	>4.2	<0.07	--	remote
3A4/5	Midazolam	5	24	12	[I] ₁ /K _i : 0.02 [I] ₂ /K _i : 29	1.47	weak inhibitor	2.0	1.05	[I] ₁ /K _i : 0.30 [I] ₂ /K _i : 343	1.93	weak inhibitor
3A4/5	Testosterone	50	20	10	[I] ₁ /K _i : 0.03 [I] ₂ /K _i : 34	1.51	weak inhibitor	1.7	0.83	[I] ₁ /K _i : 0.36 [I] ₂ /K _i : 412	1.96	weak inhibitor

[I] or [I]₁ = 0.300 μM (0.132 μg/mL)Source [I]₁: Mean steady-state maximum concentration of ibrutinib after oral administration at 420 mg/day in Clinical trial PCYC-1102-CA (n=47, Groups 1 and 4 pooled).[I]₂ = 343 μM (151.2 μg/mL)Source [I]₂: Solubility in FeSSSIF 【see 5.3.5.4.1】^a Assuming competitive inhibition.^b Worst case value taking into account a maximal (12-fold) decline in ibrutinib concentrations during 15-min incubation 【see 5.3.5.4.2】^c AUC ratio with and without inhibitor calculated according to the mechanistic static equation in the EMA 2012 DDI guideline and the FDA 2012 Draft DDI guidanceFeSSSIF = Fed State Simulated Intestinal Fluid, [I] = inhibitor concentration, IC₅₀ = half maximal inhibitory concentration, K_i = inhibition constant,

NC = not calculated due to no inhibition up to the highest (nominal) concentration of 100 μM tested.

名目 K_i 値を用いた場合、いずれの CYP 分子種においても $[I]_i/K_i$ 値は 0.1 を下回った（表 2.6.4-10）。一方、worst case として 1/12 倍低値の K_i 値を用いた場合、CYP1A2 及び CYP2E1 を除いて、 $[I]_i/K_i$ 値はいずれも 0.1 を上回った。そのため、EMA の薬物相互作用ガイドライン²及び FDA の薬物相互作用ガイダンス案³に示された静的薬物速度論モデル（可逆的阻害）の式を用いて薬物相互作用の可能性を更に検討したところ、いずれの K_i 値を用いても算出された AUCR 値（阻害剤非併用時の AUC に対する併用時の AUC の比）は CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 で 1.25 を下回り、これらの肝 CYP 分子種では臨床的に意味のある薬物相互作用は起こらないことが示唆された。一方、肝及び消化管での阻害を考慮した CYP3A4/5 の AUCR 値は約 1.5（名目 K_i 値を使用）又は約 2.0（worst case）であった。このことから動的な PBPK モデルを用いて、ミダゾラムを 1 mg の用量で経口投与したときの薬物動態に及ぼすイブルチニブ（560 mg 単回投与）による CYP3A 阻害の影響を検討したところ、名目 K_i 値を用いた場合、曝露量は 1.1 倍となることが予測され、1/12 倍低値の K_i 値（worst case）を用いた場合、CYP3A 阻害のほとんどは消化管で生じ、曝露量は 1.6 倍となることが予測された【5.3.5.4.2 参照】。このことから、イブルチニブの用量が本申請での推奨用量である 420 mg の場合、ミダゾラムの曝露量増加は 1.25 倍を上回るものの 1.6 倍を下回ることが予想される。また、ミクロソームとのインキュベーション中にイブルチニブ濃度は 1/12 まで徐々に低下することから、worst case での CYP3A 阻害能は過大評価であり、真の K_i 値はより高値であると考えられる。なお、用いた PBPK モデルはイブルチニブの消化管での移動及び消化管細胞内での濃度変化を考慮しているため、静的薬物速度論モデルよりも PBPK による予測の方が *in vivo* での条件をより適切に反映した推定が行われたものと考えられる。さらに、イブルチニブを 560 mg の用量で単回経口投与したときの消化管細胞内におけるイブルチニブ濃度推移のシミュレーションから、消化管細胞内の非結合型濃度は、投与 1.5～2 時間後、回腸上部まで worst case の CYP3A 阻害の K_i 値を上回る可能性があるものの、名目 K_i 値程度の濃度となるのは投与 0.5 時間後の十二指腸に至るまでのみであることが推定された【5.3.5.4.2 参照】。イブルチニブの用量が 420 mg の場合、消化管細胞内の非結合型濃度が高濃度を示すのは、560 mg 投与時より短時間であると予想される。

以上のことから、イブルチニブは CYP3A の弱い阻害剤であると考えられる。

(2) M23

M23 は CYP1A2、CYP2A6、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2E1 活性を阻害せず、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP3A4（テストステロン及びニフェジピン代謝）活性を弱く阻害（ IC_{50} は 50 $\mu\text{mol/L}$ 以上）し、CYP2D6 活性を中等度に阻害（ IC_{50} は 2.8 $\mu\text{mol/L}$ ）したが（表 2.6.4-11）

【2.6.5.12C（4.2.2.4.16）参照】、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP3A4 の $[I]/K_i$ 値はいずれも 0.1 を下回った。なお、CYP2D6 については、worst case を考慮した評価として消化管代謝で生じるイブ

² Guideline on the Investigation of Drug Interactions. Final, European Medicines Agency Committee for Human Medicinal Products (CHMP), June 2012.

³ Guidance for Industry : Drug Interaction Studies – Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. Draft Guidance, Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), February 2012.

ルチニブの代謝物がすべて M23 であると仮定 [イブルチニブの、消化管細胞に吸収後門脈血に到達する割合 (F_g) = 0.47 【5.3.5.4.1 参照】] し、静的薬物速度論モデル (可逆的阻害) の式を用いて薬物相互作用の可能性を検討したところ、AUCR は 1.25 を下回った。

以上のことから、M23 の CYP 分子種阻害を介した臨床的に意味のある薬物相互作用は起こらないことが示唆された。

表 2.6.4-11 M23 による CYP 分子種阻害能

CYP Enzyme	Substrate	Substrate Conc (μ M)	IC ₅₀ (μ M)	K _i ^a (μ M)	[I]/K _i	AUCR ^b	Prediction
1A2	Phenacetin	80	NC	--	--	--	remote
2A6	Coumarin	2	>100	--	--	--	remote
2B6	Bupropion	25	51	25.5	0.005	--	remote
2C8	Amodiaquine	2	79	39.5	0.004	--	remote
2C9	Tolbutamide	100	>100	--	--	--	remote
2C9	Diclofenac	5	>100	--	--	--	remote
2C19	S-Mephenytoin	30	>100	--	--	--	remote
2D6	Dextromethorphan	3	2.8	1.4	0.099	1.12	remote
2E1	Chlorzoxazone	45	NC	--	--	--	remote
3A4	Testosterone	25	76	38	0.004	--	remote
3A4	Midazolam	2	NC	--	--	--	remote
3A4	Nifedipine	10	57	28.5	0.005	--	remote

[I] = 0.139 μ M (0.0537 μ g/mL)

Source: Average plasma concentration of M23 from 2 subjects at Days 15 and 22 after oral administration of 420 mg/day ibrutinib in Clinical trial PCYC-1111-CA multiplied by an uncertainty factor of 2.

^a Assuming competitive inhibition.

^b AUC ratio with and without inhibitor calculated according to the mechanistic static equation in the EMA 2012 DDI guideline and the FDA 2012 Draft DDI guidance.

[I] = inhibitor concentration, IC₅₀ = half maximal inhibitory concentration, K_i = inhibitory constant, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μ M tested

(3) M25

M25 は CYP2C8 活性を弱く阻害した (IC₅₀ は 78 μ mol/L) もの、その他の検討した分子種の活性を阻害しなかった (表 2.6.4 -12) 【2.6.5.12D (4.2.2.4.17) 参照】。また、CYP2C8 の [I]/K_i 値は、0.1 を下回った。

以上のことから、M25 の CYP 分子種阻害を介した臨床的に意味のある薬物相互作用は起こらないことが示唆された。

表 2.6.4 -12 M25 による CYP 分子種阻害能

CYP Enzyme	Substrate	Substrate Conc (μM)	IC ₅₀ (μM)	K _i ^a (μM)	[I]/K _i	Prediction
1A2	Phenacetin	80	NC	--	--	remote
2A6	Coumarin	2	NC	--	--	remote
2B6	Bupropion	25	NC	--	--	remote
2C8	Amodiaquine	2	78	39	0.01	remote
2C9	Tolbutamide	100	NC	--	--	remote
2C9	Diclofenac	5	NC	--	--	remote
2C19	S-Mephenytoin	30	NC	--	--	remote
2D6	Dextromethorphan	3	NC	--	--	remote
2E1	Chlorzoxazone	45	NC	--	--	remote
3A4	Testosterone	25	NC	--	--	remote
3A4	Midazolam	2	>100	--	--	remote
3A4	Nifedipine	10	>100	--	--	remote

[I] = 0.319 μM (0.151 μg/mL)

Source: Estimated from the relative abundance of M25 over ibrutinib on Day 8 after oral administration of 420 mg/day ibrutinib in Clinical trial PCYC-1111-CA and the mean steady-state maximum concentration of ibrutinib after oral administration at 420 mg/day in Clinical trial PCYC-1102-CA (n=47, Groups 1 and 4 pooled).

^a Assuming competitive inhibition.

[I] = inhibitor concentration, IC₅₀ = half maximal inhibitory concentration, K_i = inhibitory constant, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μM tested

(4) M34

M34 は CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP2E1 活性を阻害せず, CYP2C8, CYP2C9 及び CYP3A4 (ミダゾラム及びニフェジピン代謝) 活性を弱く阻害 (IC₅₀ は 20 μmol/L 以上) した (表 2.6.4-13) 【2.6.5.12E (4.2.2.4.18) 参照】。また, CYP3A4 (テストステロン代謝) 活性阻害の IC₅₀ は 7.6 μmol/L であった。しかし, CYP2C8, CYP2C9 及び CYP3A4 (ミダゾラム及びニフェジピン代謝) の [I]/K_i 値はいずれも 0.1 を下回った。なお, CYP3A4 (テストステロン代謝) については, worst case を考慮した評価として消化管代謝で生じるイブルチニブの代謝物がすべて M34 であると仮定 (イブルチニブの F_g = 0.47 【5.3.5.4.1 参照】) し, 静的薬物速度論モデル (可逆的阻害) の式を用いて薬物相互作用の可能性を検討したところ, AUCR は 1.25 を下回った。

以上のことから, M34 の CYP 分子種阻害を介した臨床的に意味のある薬物相互作用は起こらないことが示唆された。

表 2.6.4-13 M34 による CYP 分子種阻害能

CYP Enzyme	Substrate	Substrate Conc (μM)	IC ₅₀ (μM)	K _i ^a (μM)	[I]/K _i	AUCR ^b	Prediction
1A2	Phenacetin	80	NC	--	--	--	remote
2A6	Coumarin	2	NC	--	--	--	remote
2B6	Bupropion	25	NC	--	--	--	remote
2C8	Amodiaquine	2	35	17.5	0.04	--	remote
2C9	Tolbutamide	100	26	13	0.05	--	remote
2C9	Diclofenac	5	29	14.5	0.05	--	remote
2C19	S-Mephenytoin	30	>100	--	--	--	remote
2D6	Dextromethorphan	3	>100	--	--	--	remote
2E1	Chlorzoxazone	45	>100	--	--	--	remote
3A4	Testosterone	25	7.6	3.8	0.17	1.16	remote
3A4	Midazolam	2	76	38	0.02	--	remote
3A4	Nifedipine	10	22	11	0.06	--	remote

[I] = 0.659 μM (0.302 μg/mL)

Source: Estimated from the relative abundance of M34 over ibrutinib on Day 8 after oral administration of 420 mg/day ibrutinib in Clinical trial PCYC-1111-CA and the mean steady-state maximum concentration of ibrutinib after oral administration at 420 mg/day in Clinical trial PCYC-1102-CA (n=47, Groups 1 and 4 pooled).

^a Assuming competitive inhibition.^b AUC ratio with and without inhibitor calculated according to the mechanistic static equation in the EMA 2012 DDI guideline and the FDA 2012 Draft DDI guidance.[I] = inhibitor concentration, IC₅₀ = half maximal inhibitory concentration, K_i = inhibitory constant, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μM tested

(5) PCI-45227 (M37)

PCI-45227 (M37) は、CYP1A2、CYP2C19、CYP2E1 及び CYP3A4/5 を阻害せず、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2D6 を弱く阻害 (IC₅₀ は 15~80 μmol/L) した (表 2.6.4-14)

【2.6.5.12F (4.2.2.4.19) 参照】が、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2D6 の [I]/K_i 値はいずれも 0.1 を下回った。

以上のことから、PCI-45227 (M37) の CYP 分子種阻害を介した臨床的に意味のある薬物相互作用は起こらないことが示唆された。

表 2.6.4-14 PCI-45227 (M37) による CYP 分子種阻害能

CYP Enzyme	Substrate	Substrate Conc (μM)	IC ₅₀ (μM)	K _i ^a (μM)	[I]/K _i	Prediction
1A2	Phenacetin	10	NC	--	--	remote
2B6	Bupropion	100	17	8.5	0.03	remote
2C8	Paclitaxel	10	33	16.5	0.02	remote
2C9	Diclofenac	10	58	29	0.009	remote
2C19	Omeprazole	0.5	>100	--	--	remote
2D6	Dextromethorphan	5	76	38	0.007	remote
2E1	Chlorzoxazone	100	NC	--	--	remote
3A4/5	Midazolam	5	NC	--	--	remote
3A4/5	Testosterone	50	>100	--	--	remote

[I] = 0.257 μM (0.122 μg/mL)

Source: Mean steady-state maximum concentration of PCI-45227 (M37) after oral administration of ibrutinib at 420 mg/day in Clinical trial PCYC-1102-CA (n=47, Groups 1 and 4 pooled).

^a Assuming competitive inhibition.[I] = inhibitor concentration, IC₅₀ = half maximal inhibitory concentration, K_i = inhibitory constant, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μM tested

2.6.4.5.6 キラル変換

【評価資料 4.2.2.4.20】

R-エナンチオマーのイブルチニブを経口投与したラット、イヌ及びヒトの血漿試料を用いて S-エナンチオマーの曝露量を測定した【2.6.5.9D (4.2.2.4.20) 参照】。なお、ラット、イヌ及びヒ

トの試験で投与した *R*-エナンチオマーの原薬には、それぞれ 2.09、0.35 及び 0.2%の *S*-エナンチオマーがあらかじめ混在した。

イブルチニブのキラル中心の位置からは、*in vivo* 又は *ex vivo* での酵素的又は化学的なキラル変換は予測されないが、分析したラット、イヌ及びヒトの血漿試料中には少量の *S*-エナンチオマーが認められた。これは、原薬中に不純物として混在している少量の *S*-エナンチオマーが *R*-エナンチオマーとともに投与され、試料中で検出されたものと考えられる。

実際、いずれの試料においても各エナンチオマーの $C_{\max}$ 及び AUC の *S/R* 比は非常に低値であり、ラット血漿では 0.78～3.1%，イヌ血漿では 0.05～1.7%，ヒト血漿では 0.80～1.5%であった。 $C_{\max}$ 及び AUC の *S/R* 比は、原薬中に混在した *S*-エナンチオマーの割合と同程度からわずかに高い程度であった。

また、単回投与時と反復投与時の $C_{\max}$ 及び AUC を比較したとき、*S/R* 比に顕著な変化は認められず、一方のエナンチオマーが相対的に蓄積しやすいという可能性はないことが示された。

以上のとおり、 $C_{\max}$ 及び AUC の *S/R* 比は低値であり、原薬中の *S*-エナンチオマーの割合と同程度であったことから、実験動物及びヒトの *in vivo* で、エナンチオマー間のキラル変換はほとんど起こらないことが示唆された。

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 排泄経路及び排泄率

Sprague-Dawley ラット、ビーグル犬及び健康男性被験者に、 ^{14}C -イブランチニブ (*R*-エナンチオマー又はラセミ混合物) を単回投与したときの放射能の排泄について検討した。

2.6.4.6.1.1 ラット

【評価資料 4.2.2.3.1, 4.2.2.4.8, 4.2.2.4.9】

雄性ラットに ^{14}C -イブランチニブ (ラセミ混合物) を 2 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき、投与 24 時間後までに投与放射能の大部分 (80.1%) が尿及び糞中に排泄された【2.6.5.13A

(4.2.2.3.1) 参照】。また、投与 168 時間後までに投与放射能の 83.5% が糞中に、5.2% が尿中に排泄され、3.4% がカーカス中に残存した (放射能の総回収率は 92.2%)。投与 8 及び 24 時間後までプールした尿及び糞試料中放射能の、それぞれ 73 及び 82% がイブランチニブの代謝物として同定された。なお、糞中から未変化体は検出されなかった。

次に、雌雄ラットに ^{14}C -イブランチニブ (*R*-エナンチオマー) を 10 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与したとき、投与 24 時間後までに投与放射能の大部分 (雄性：83.6%，雌性：86.9%) が糞中に排泄された【2.6.5.13A (4.2.2.4.8) 参照】。また、投与 96 時間後までに投与放射能の 90.6% (雄性) 及び 89.1% (雌性) が糞中に、投与放射能の 1.54% (雄性) 及び 1.75% (雌性) が尿中に排泄され、投与放射能の 0.51% 未満 (雄性) 及び 0.31% (雌性) がカーカス中に残存した [放射能の総回収率は 92.3% (雄性) 及び 91.2% (雌性)]。放射能の排泄経路及び排泄率に性差は認められなかった。未変化体は糞中から投与放射能の約 2% のみが検出され、尿中からは検出されなかった。

胆管カニュレーションした雄性ラットに ^{14}C -イブランチニブ (*R*-エナンチオマー) を 10 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与したとき、投与 24 時間後までに投与放射能の大部分が糞 (48%) 及び胆汁中 (47%) に排泄され、尿中に排泄された放射能は投与量の 1.15% のみであった【2.6.5.14 (4.2.2.4.9) 参照】。胆汁中に未変化体は検出されなかった。

以上のとおり、 ^{14}C -イブランチニブ由来放射能は主に糞中に排泄され、胆汁中排泄は主要な排泄経路であることが確認された。

2.6.4.6.1.2 イヌ

【評価資料 4.2.2.4.11】

雄性イヌに ^{14}C -イブランチニブ (*R*-エナンチオマー) を 30 mg/kg の用量で溶液として単回経口投与したとき、投与 72 時間後までに投与放射能の 87.5% が糞中に排泄され、尿中への排泄は 3.26% であった【2.6.5.13B (4.2.2.4.11) 参照】。未変化体は糞中から投与放射能の 2.66% のみが検出され、尿中からはほとんど (0.11% 以下) 検出されなかった。

2.6.4.6.1.3 ヒト

【評価資料 4.2.2.4.12】

健康男性被験者に ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を 140 mg の用量で溶液として単回経口投与したとき (PCI-32765CLL1004 試験【2.7.2.2.1.1 (1)参照】), 投与 96 時間後までに投与放射能の 80.6% が糞中に排泄され, 尿中への排泄は 7.8% であった【2.6.5.13C (4.2.2.4.12) 参照】。未変化体は, 糞中から投与放射能の 0.77% のみが検出され, 尿中からは検出されなかった。

2.6.4.6.2 乳汁中排泄

イブルチニブの乳汁中排泄を評価する試験は実施していない。しかし, イブルチニブは広範な組織に分布し (2.6.4.4.1), また log P 値が 3.97 であることから, 乳汁中に排泄される可能性は否定できないと考えられる。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 ワルファリンのたん白結合に及ぼす影響

【評価資料 4.2.2.6.1】

ヒト血漿を用いて, 治療濃度のイブルチニブがワルファリンのたん白結合に及ぼす影響を検討した【2.6.5.15A (4.2.2.6.1) 参照】。

ヒト血漿中の ^{14}C -ワルファリンの非結合型分率は, イブルチニブを添加しない場合 0.0109 (すなわち 1.09% が非結合型) であった。一方, イブルチニブを 0.030, 0.10, 0.30 及び 1.0 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で添加したとき, ^{14}C -ワルファリンの非結合型分率は, それぞれ 0.0108, 0.0108, 0.0112 及び 0.0110 であり, イブルチニブはワルファリンの血漿たん白結合に影響を及ぼさないことが示された。

2.6.4.7.2 代謝を介した薬物相互作用

イブルチニブの代謝に関与するヒト CYP 分子種, 及びイブルチニブ代謝に及ぼす弱い CYP3A4 阻害剤の影響について検討した【2.6.4.5.1.3 参照】。

また, イブルチニブによるヒト CYP の誘導及び阻害, 並びにヒト主要代謝物 [M23, M25, M34 及び PCI-45227 (M37)] によるヒト CYP の阻害について検討した【2.6.4.5.5 参照】。

2.6.4.7.3 トランスポーターを介した薬物相互作用

In vitro 試験において, イブルチニブ及びそのヒト主要代謝物 [M23, M25, M34 及び PCI-45227 (M37)] がトランスポーターの基質となるか, 及びトランスポーターを阻害するかを検討した。M21 については代謝物標品が入手できなかったことから試験を実施しなかった。

2.6.4.7.3.1 イブルチニブ及びその主要代謝物を輸送するトランスポーター

(1) OATP1B1, OATP1B3 及び OATP2B1

【評価資料 4.2.2.6.2】

臨床試験において、OATP 阻害薬として知られているリファンピシンとの併用投与による薬物相互作用を検討するにあたり、イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) (0.2, 1 及び 5 $\mu\text{mol/L}$) が OATP1B1, OATP1B3 及び OATP2B1 の基質となるかについて、各トランスポーターを発現させた HEK293 細胞 (又は親細胞) を用いて検討した【2.6.5.15B (4.2.2.6.2) 参照】。

その結果、OATP 発現細胞及び親細胞でイブルチニブ及び PCI-45227 (M37) の細胞膜透過性は同様であり、リファンピシン添加による輸送阻害も認められなかった。これらのことから、イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) はいずれも OATP1B1, OATP1B3 及び OATP2B1 の基質ではないことが示された。

(2) P-gp

【評価資料 4.2.2.6.3, 4.2.2.6.4, 4.2.2.6.5】

Caco-2 細胞及び MDR1-MDCK 細胞単層膜を用いた検討において、イブルチニブは P-gp の基質ではないこと、及び PCI-45227 (M37) が P-gp の基質であることが示唆された【2.6.4.3.1 参照】。また、P-gp を発現させた LLC-PK1 細胞 (MDR1-LLC-PK1 細胞) 単層膜を用いた検討において、M23 (1.13 $\mu\text{mol/L}$) 及び M34 (1 $\mu\text{mol/L}$) の efflux ratio はそれぞれ 1.30 及び 18.1 であり、P-gp 阻害剤である GF120918 の存在下で減少したことから、M23 及び M34 は P-gp の基質であることが示唆された【2.6.5.15B (4.2.2.6.3, 4.2.2.6.5) 参照】。M25 (1 $\mu\text{mol/L}$) の efflux ratio は 1 未満 (0.83) であり、阻害剤の影響も受けなかったことから、M25 は P-gp の基質でないことが示された【2.6.5.15B (4.2.2.6.4) 参照】。

2.6.4.7.3.2 イブルチニブ及びその主要代謝物によるトランスポーター阻害

(1) OATP1B1 及び OATP1B3

【評価資料 4.2.2.6.6】

OATP1B1 又は OATP1B3 を発現させた HEK293 細胞を用い、イブルチニブ及びその主要代謝物が OATP1B1 及び OATP1B3 を介した ^3H -エストラジオール-17 β -グルクロン酸抱合体

(1 $\mu\text{mol/L}$) 輸送を阻害するかについて検討した【2.6.5.15C (4.2.2.6.6) 参照】。OATP1B1 の検討は 1%ウシ血清アルブミン (BSA) 存在下で、OATP1B3 の検討は BSA 非存在下で実施した。

イブルチニブ, M34 及び PCI-45227 (M37) は、それぞれ 26.4, 47.9 及び 36.6 $\mu\text{mol/L}$ の IC_{50} で OATP1B1 を介した ^3H -エストラジオール-17 β -グルクロン酸抱合体の輸送を阻害した。また、M23 及び M25 は検討した最高濃度 (100 $\mu\text{mol/L}$) で OATP1B1 を介した輸送のそれぞれ 26.5 及び 50.2%を阻害した。一方、イブルチニブ, M23, M25, M34 及び PCI-45227 (M37) は OATP1B3 を介した ^3H -エストラジオール-17 β -グルクロン酸抱合体輸送をほとんど阻害せず、検討した最高濃度 (10 $\mu\text{mol/L}$) で、OATP1B3 を介した輸送のそれぞれ 30.2, 10.6, 35.9, 35.7 及び 38.4%を阻害した。なお、シクロスポリン A (25 $\mu\text{mol/L}$) 及びリファンピシン (25 $\mu\text{mol/L}$) を OATP1B1 及

び OATP1B3 の陽性対照阻害剤として用いたところ、 ^3H -エストラジオール-17 β -グルクロン酸抱合体の輸送は 85.2~100%が阻害された。

(2) OCT2, OAT1 及び OAT3

【評価資料 4.2.2.6.7, 4.2.2.6.8】

OCT2 を発現させたチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞を用い、イブランチニブ及びその主要代謝物が OCT2 を介した ^{14}C -メトホルミン (10 $\mu\text{mol/L}$) 輸送を阻害するかについて、1%BSA 存在下で検討した【2.6.5.15C (4.2.2.6.7) 参照】。

イブランチニブ、M23、M34 及び PCI-45227 (M37) は、それぞれ 3.92, 0.95, 84.8 及び 12.6 $\mu\text{mol/L}$ の IC_{50} で OCT2 を介した ^{14}C -メトホルミンの輸送を阻害した。また、M25 は検討した最高濃度 (100 $\mu\text{mol/L}$) で OCT2 を介した輸送の約 7%を阻害した。なお、ベラパミル (93 $\mu\text{mol/L}$) 及びキニジン (300 $\mu\text{mol/L}$) を陽性対照阻害剤として用いたところ、 ^{14}C -メトホルミンの輸送はそれぞれ 98.8 及び 99.8%が阻害された。

OAT1 を発現させた CHO 細胞を用い、イブランチニブ及びその主要代謝物が OAT1 を介した ^{14}C -para-アミノ馬尿酸 (5 $\mu\text{mol/L}$) 輸送を阻害するかについて、1%BSA 存在下で検討した【2.6.5.15C (4.2.2.6.7) 参照】。

イブランチニブ、M23、M34 及び PCI-45227 (M37) は、検討した最高濃度 (100 $\mu\text{mol/L}$) まで OAT1 を介した ^{14}C -para-アミノ馬尿酸の輸送を阻害しなかった。また、M25 は検討した最高濃度 (100 $\mu\text{mol/L}$) で OAT1 を介した輸送の 15.7%を阻害した。なお、プロベネシド (300 $\mu\text{mol/L}$) を陽性対照阻害剤として用いたところ、 ^{14}C -para-アミノ馬尿酸の輸送は 86.0%が阻害された。

OAT3 を発現させた MDCK II 細胞を用い、イブランチニブ及びその主要代謝物が OAT3 を介した ^3H -エストロン-3-硫酸抱合体 (2 $\mu\text{mol/L}$) 輸送を阻害するかについて、1%BSA 存在下で検討した【2.6.5.15C (4.2.2.6.8) 参照】。

イブランチニブ及び M25 は、それぞれ 48.4 及び 56.4 $\mu\text{mol/L}$ の IC_{50} で OAT3 を介した ^3H -エストロン-3-硫酸抱合体の輸送を阻害した。また、M34 及び PCI-45227 (M37) は検討した最高濃度 (100 $\mu\text{mol/L}$) で OAT3 を介した輸送のそれぞれ 49.6 及び 47.6%を阻害した。M23 は検討した最高濃度 (100 $\mu\text{mol/L}$) まで OAT3 を介した輸送を阻害しなかった。なお、プロベネシド (1000 $\mu\text{mol/L}$) 及びフロセミド (1000 $\mu\text{mol/L}$) を陽性対照阻害剤として用いたところ、 ^3H -エストロン-3-硫酸抱合体の輸送は 95.8~100%が阻害された。

(3) P-gp 及び BCRP

【評価資料 4.2.2.2.1, 4.2.2.2.3, 4.2.2.6.3, 4.2.2.6.4, 4.2.2.6.5, 4.2.2.6.9, 4.2.2.6.10】

MDR1-MDCK 細胞単層膜を用い、イブランチニブが P-gp を介したロペラミド (5 $\mu\text{mol/L}$) 輸送を阻害するかについて初期検討及びフォローアップ試験を実施した。これらの検討はいずれも BSA 非存在下で実施した。

初期検討試験では、イブランチニブ非存在下でのロペラミドの efflux ratio (23.1) は、50 $\mu\text{mol/L}$ のイブランチニブ存在下では 0.411 に低下し、イブランチニブが P-gp を介したロペラミドの排出を阻害することが示された【2.6.5.3A (4.2.2.2.1) 参照】。なお、シクロスポリン A (10 $\mu\text{mol/L}$) 及び ケトコナゾール (50 $\mu\text{mol/L}$) を陽性対照阻害剤として用いたところ、ロペラミドの輸送はいず

れもほぼ完全に阻害された。また、フォローアップ試験において、イブランチニブによるロペラミド輸送阻害の IC_{50} は $4.88 \mu\text{mol/L}$ と算出された【2.6.5.15C (4.2.2.6.9) 参照】。なお、シクロスポリン A 及びケトコナゾールの IC_{50} はそれぞれ 0.783 及び $1.18 \mu\text{mol/L}$ であった。

同様に、MDR1-MDCK 細胞単層膜を用い、PCI-45227 (M37) が P-gp を介したロペラミド ($5 \mu\text{mol/L}$) 輸送を阻害するかについて検討した。その結果、ロペラミドの efflux ratio は $50 \mu\text{mol/L}$ の PCI-45227 (M37) 存在下で 52.0 、非存在下で 79.9 であり、顕著な差は認められず、PCI-45227 (M37) は P-gp を介した輸送を阻害しないことが示された【2.6.5.3A (4.2.2.2.3) 参照】。なお、シクロスポリン A ($10 \mu\text{mol/L}$) 及びケトコナゾール ($50 \mu\text{mol/L}$) を陽性対照阻害剤として用いたところ、ロペラミドの efflux ratio はそれぞれ 2.22 及び 1.86 であった。

その他のヒト主要代謝物 (M23, M25 及び M34) の P-gp 阻害能については、MDR1-LLC-PK1 細胞単層膜を用い、P-gp を介した ^3H -ジゴキシン ($0.03 \mu\text{mol/L}$) 輸送を阻害するかについて 1%BSA 存在下で検討した。

M23 (最高 $11.3 \mu\text{mol/L}$)、M25 (最高 $100 \mu\text{mol/L}$) 及び M34 (最高 $100 \mu\text{mol/L}$) を添加しても ^3H -ジゴキシンの efflux ratio に顕著な変化は認められず、M23, M25 及び M34 は P-gp を介した ^3H -ジゴキシンの輸送を阻害しないことが示された【2.6.5.15C (4.2.2.6.3, 4.2.2.6.4, 4.2.2.6.5) 参照】。なお、GF120918 ($5 \mu\text{mol/L}$) を陽性対照阻害剤として用いたところ、 ^3H -ジゴキシンの efflux ratio は 89%以上低下した。

BCRP を発現させた反転膜小胞を用い、イブランチニブ及びその主要代謝物が BCRP を介した ^3H -エストロン-3-硫酸抱合体 ($1 \mu\text{mol/L}$) 輸送を阻害するかについて、1%BSA 存在下で検討した。

イブランチニブ、M23, M34 及び PCI-45227 (M37) は、それぞれ 0.99 、 40.6 、 74.4 及び $90.1 \mu\text{mol/L}$ の IC_{50} で BCRP を介した ^3H -エストロン-3-硫酸抱合体の輸送を阻害した。また、M25 は検討した最高濃度 ($100 \mu\text{mol/L}$) で BCRP を介した輸送の 42.4% を阻害した【2.6.5.15C (4.2.2.6.10) 参照】。なお、Ko143 ($1 \mu\text{mol/L}$) を陽性対照阻害剤として用いたところ、 ^3H -エストロン-3-硫酸抱合体の輸送は 89%以上 (平均 96%) が阻害された。

(4) トランスポーター阻害能の評価

In vitro 試験結果から臨床使用時の阻害の可能性を評価するためのヒト血漿中イブランチニブ及び代謝物濃度として、CYP 阻害【2.6.4.5.5.2 参照】と同じ値を用いた。なお、腎トランスポーター (OAT1, OAT3 及び OCT2) については、1%BSA 存在下で阻害の検討を行っており、EMA の薬物相互作用ガイドライン及び FDA の薬物相互作用ガイダンス案で示された血漿中非結合型濃度による評価ではなく、総濃度を用いた評価を行った。また、必要に応じて血漿たん白結合率【2.6.4.4.2.2 参照】を考慮した。

1) イブランチニブ

イブランチニブの血漿中濃度に基づくと、OATP, OAT, OCT 及び P-gp の $[I]/IC_{50}$ 又は $[I]_i/IC_{50}$ 値は 0.1 を下回ったことから、生体内でこれらのトランスポーターを介して臨床的に意味のある薬物相互作用は起こらないことが示唆された (表 2.6.4 -15)。一方、BCRP の $[I]_i/IC_{50}$ 値は 0.303 であったことから、BCRP を介した薬物相互作用が生じる可能性は否定できなかった。しかし、BCRP の IC_{50} は 1%BSA 存在下での検討から得られており、イブランチニブの血漿中及び 1%BSA

添加試料中での非結合型分率で補正した $[I]_{1,u}/IC_{50,u}$ 値は 0.1 を下回った（1%BSA 添加試料中でのたん白結合率は、4.3% HSA 溶液中での非結合型分率【2.6.4.4.2.2 参照】に基づき、たん白質濃度が 1/4 であることを考慮して推定した）。

イブランチニブの P-gp 阻害を検討した試験【4.2.2.6.9 ■-005-MDCK-XTI 参照】ではイブランチニブの回収率は測定しておらず、インキュベーション中のイブランチニブの代謝を考慮した IC_{50} 値は算出できなかった。しかし、この試験はイブランチニブを MDR1-MDCK 細胞単層膜とインキュベーションした膜透過試験【4.2.2.2.1 ■-151-MDCK-XTI 参照】と同様の条件で検討したことから、膜透過試験でのイブランチニブの回収率（約 74～87%）が P-gp 阻害試験にも適用できると考えられる。名目イブランチニブ濃度を用いて算出されたイブランチニブによる P-gp 阻害の IC_{50} は 4.88 $\mu\text{mol/L}$ であり、worst case として 74～87%の回収率を用いると IC_{50} は約 3.6～4.2 $\mu\text{mol/L}$ と計算される。なお、実際にはインキュベーション中にイブランチニブは徐々に減少しており、P-gp 阻害の真の IC_{50} は worst case より高値であると考えられる。

以上のことから、臨床使用時にイブランチニブの全身曝露による OATP, OAT, OCT, P-gp 及び BCRP 阻害を介した薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4 -15 イブランチニブによるトランスポーター阻害能

Transporter	Substrate	Substrate Conc (μM)	IC_{50} (μM)	$[I]/IC_{50}$	Prediction
OATP1B1	Estradiol-17 β -glucuronide	1	26.4	0.011	remote
OATP1B3	Estradiol-17 β -glucuronide	1	>7.84	<0.038	remote
OCT2	Metformin	10	3.92	0.076	remote
OAT1	Para-aminohippurate	5	NC	--	remote
OAT3	Estrone-3-sulfate	2	48.4	0.006	remote
P-gp/MDR1	Loperamide	5	4.88	$[I]_1/IC_{50}$: 0.061	remote
				$[I]_2/IC_{50}$: 70	possible
BCRP	estrone-3-sulfate	1	0.99	$[I]_1/IC_{50}$: 0.303	possible
				$[I]_{1,u}/IC_{50,u}$: 0.063	remote
				$[I]_2/IC_{50}$: 347	possible

$[I]$ or $[I]_1 = 0.300 \mu\text{M}$ (0.132 $\mu\text{g/mL}$)

Source $[I]_1$: Mean steady-state maximum concentration of ibritinib after oral administration at 420 mg/day in Clinical trial PCYC-1102-CA (n=47, Groups 1 and 4 pooled).

$[I]_{1,u} = [I]_1$ multiplied by free fraction in plasma (f_u 2.7%, see 2.6.4.4.2.2)

$[I]_2 = 343 \mu\text{M}$ (151.2 $\mu\text{g/mL}$)

Source $[I]_2$: Solubility in FeSSIF 【see 5.3.5.4.1】

$IC_{50,u} = IC_{50}$ multiplied by estimated free fraction in incubation medium ($f_{u,est}$) calculated from observed free fraction ($f_{u,obs}$) of 3.6% in a solution of 4.3% HSA (see 2.6.4.4.2.2) and assuming a 4-fold lower protein level in incubation medium, using the formula

$f_{u,est} = 4 * f_{u,obs} / (1 + 3 * f_{u,obs})$

$[I]$ = inhibitor concentration, IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μM tested

一方、消化管でのイブランチニブ濃度に基づくと、P-gp 及び BCRP 阻害の $[I]_2/IC_{50}$ 値はいずれも 10 を上回り、経口投与後に高いイブランチニブ濃度が予想される消化管上部では、P-gp 及び BCRP が阻害される可能性が示唆された。なお、イブランチニブを 560 mg の用量で単回経口投与したときの消化管細胞内におけるイブランチニブ濃度推移のシミュレーションから、消化管細胞内の非結合型濃度は、投与 1 時間後、十二指腸及び空腸上部に至るまでのみ P-gp の IC_{50} を上回り、投与 1.5 時間後、十二指腸から回腸上部に至るまでのみ、BCRP の IC_{50} を上回ることが推定された

【5.3.5.4.2 参照】。イブランチニブの用量が 420 mg の場合、消化管細胞内の非結合型濃度が高濃度を示すのは、これらより短時間であることが予測される。

2) M23

M23 の血漿中濃度に基づく、OCT2 以外のトランスポーターの $[I]/IC_{50}$ 値は、すべて 0.1 を下回った（表 2.6.4-16）。また、OCT2 の IC_{50} は 1%BSA 存在下での検討から得られていることから、M23 の血漿中及び 1%BSA 添加試料中での濃度を非結合型分率で補正したところ、 $[I]_u/IC_{50,u}$ 値は 0.1 を下回った（1%BSA 添加試料中でのたん白結合率は、4.3%HSA 溶液中での非結合型分率【2.6.4.4.2.2 参照】に基づき、たん白質濃度が 1/4 であることを考慮して推定した）。

以上のことから、臨床使用時に M23 による OATP、OAT、OCT、P-gp 及び BCRP 阻害を介した薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-16 M23 によるトランスポーター阻害能

Transporter	Substrate	Substrate Conc (μM)	IC ₅₀ (μM)	[I]/IC ₅₀	Prediction
OATP1B1	Estradiol-17β-glucuronide	1	>100	--	remote
OATP1B3	Estradiol-17β-glucuronide	1	>4.71	<0.030	remote
OCT2	Metformin	10	0.95	0.146 ($[I]_u/IC_{50,u} = 0.037$)	possible remote
OAT1	Para-aminohippurate	5	NC	--	remote
OAT3	Estrone-3-sulfate	2	NC	--	remote
P-gp/MDR1	Digoxin	0.03	NC	--	remote
BCRP	Estrone-3-sulfate	1	40.6	0.003	remote

[I] = 0.139 μM (0.0537 μg/mL)

Source: Average plasma concentration of M23 from 2 subjects at Days 15 and 22 after oral administration of 420 mg/day ibrutinib in Clinical trial PCYC-1111-CA multiplied by an uncertainty factor of 2.

$[I]_u$ = [I] multiplied by free fraction in plasma (f_u 7.7%, see Section 2.6.4.4.2.2)

$IC_{50,u}$ = IC_{50} multiplied by estimated free fraction in incubation medium ($f_{u,est}$) calculated from observed free fraction ($f_{u,obs}$) of 9.9% in a solution of 4.3% HSA (see 4.2.2.3.9) and assuming a 4-fold lower protein level in incubation medium, using the formula

$f_{u,est} = 4 * f_{u,obs} / (1 + 3 * f_{u,obs})$

[I] = inhibitor concentration, IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μM tested

3) M25, M34 及び PCI-45227 (M37)

M25, M34 及び PCI-45227 (M37) に関しては、いずれのトランスポーターについても血漿中濃度に基づく $[I]/IC_{50}$ 値は 0.1 を下回った（表 2.6.4-17, 表 2.6.4-18, 表 2.6.4-19）。このことから、臨床使用時に M25, M34 及び PCI-45227 (M37) による OATP、OAT、OCT、P-gp 及び BCRP 阻害を介した薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-17 M25 によるトランスポーター阻害能

Transporter	Substrate	Substrate Conc (μM)	IC ₅₀ (μM)	[I]/IC ₅₀	Prediction
OATP1B1	Estradiol-17β-glucuronide	1	>100	--	remote
OATP1B3	Estradiol-17β-glucuronide	1	>9.22	<0.035	remote
OCT2	Metformin	10	>100	--	remote
OAT1	Para-aminohippurate	5	>100	--	remote
OAT3	Estrone-3-sulfate	2	56.4	0.006	remote
P-gp/MDR1	Digoxin	0.03	NC	--	remote
BCRP	Estrone-3-sulfate	1	>100	<0.003	remote

[I] = 0.319 μM (0.151 μg/mL)

Source: Estimated from the relative abundance of M25 over ibrutinib on Day 8 after oral administration of 420 mg/day ibrutinib in Clinical trial PCYC-1111-CA and the mean steady-state maximum concentration of ibrutinib after oral administration at 420 mg/day in Clinical trial PCYC-1102-CA (n=47, Groups 1 and 4 pooled).

[I] = inhibitor concentration, IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μM tested

表 2.6.4-18 M34 によるトランスポーター阻害能

Transporter	Substrate	Substrate Conc (μM)	IC ₅₀ (μM)	[I]/IC ₅₀	Prediction
OATP1B1	Estradiol-17β-glucuronide	1	47.9	0.014	remote
OATP1B3	Estradiol-17β-glucuronide	1	>9.04	<0.073	remote
OCT2	Metformin	10	84.8	0.008	remote
OAT1	Para-aminohippurate	5	NC	--	remote
OAT3	Estrone-3-sulfate	2	>100	--	remote
P-gp/MDR1	Digoxin	0.03	NC	--	remote
BCRP	Estrone-3-sulfate	1	74.4	0.009	remote

[I] = 0.659 μM (0.302 μg/mL)

Source: Estimated from the relative abundance of M34 over ibrutinib on Day 8 after oral administration of 420 mg/day ibrutinib in Clinical trial PCYC-1111-CA and the mean steady-state maximum concentration of ibrutinib after oral administration at 420 mg/day in Clinical trial PCYC-1102-CA (n=47, Groups 1 and 4 pooled).

[I] = inhibitor concentration, IC₅₀ = half-maximal inhibitory concentration, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μM tested

表 2.6.4-19 PCI-45227 (M37) によるトランスポーター阻害能

Transporter	Substrate	Substrate Conc (μM)	IC ₅₀ (μM)	[I]/IC ₅₀	Prediction
OATP1B1	Estradiol-17β-glucuronide	1	36.6	0.007	remote
OATP1B3	Estradiol-17β-glucuronide	1	>9.25	<0.028	remote
OCT2	Metformin	10	12.6	0.020	remote
OAT1	Para-aminohippurate	5	NC	--	remote
OAT3	Estrone-3-sulfate	2	>100	--	remote
P-gp/MDR1	Loperamide	5	NC	--	remote
BCRP	Estrone-3-sulfate	1	90.1	0.003	remote

[I] = 0.257 μM (0.122 μg/mL)

Source: Mean steady-state maximum concentration of PCI-45227 (M37) after oral administration of ibrutinib at 420 mg/day in Clinical trial PCYC-1102-CA (n=47, Groups 1 and 4 pooled).

[I] = inhibitor concentration, IC₅₀ = half-maximal inhibitory concentration, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μM tested (OAT1) or due to inhibition <50% at the single concentration of 50 μM tested (P-gp/MDR1)

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

【評価資料 4.2.2.7.1, 4.2.2.7.2】

ヒトマスバランス試験を実施するにあたり、¹⁴C-イブランチニブ (*R*-エナンチオマー) の原薬及び製剤について分析試験を行った。原薬については、放射化学的純度、光学的純度及びクロマトグラフィーによる純度、並びに放射能濃度及び比放射能を測定した。また、製剤については、放射化学的純度、光学的純度及びクロマトグラフィーによる純度、並びに放射能濃度、pH 及び総濃度を測定し、確認試験及び外観検査を行った後、試験に供給した。

2.6.4.9 考察及び結論

2.6.4.9.1 吸収

Caco-2 細胞及び MDR1-MDCK 細胞単層膜を用いた *in vitro* 試験において、イブランチニブの細胞膜透過性は吸収及び排出の双方向に高く、また P-gp の基質ではないことが示された。実際、ラット、イヌ及びヒトに ¹⁴C-イブランチニブを溶液として単回経口投与したマスバランス試験において、未変化体の糞中排泄はわずかであり、投与放射能のほとんどは酸化代謝物として排泄された。腸内細菌叢による代謝は主に還元反応であることが知られている³⁾ が、糞中に還元された代謝物

はほとんど認められなかったことから、経口投与されたイブルチニブは腸内細菌叢による代謝をほとんど受けず、ほぼ完全に吸収された後、消化管及び肝臓による代謝を受けることが示唆された。

マウス、ラット及びイヌにイブルチニブを単回経口投与したときの吸収は速やかで、製剤及び給餌条件によらず $t_{\max}$ は、げっ歯類で 0.08～2.5 時間、イヌで 0.50～4.0 時間であった。ラット及びイヌにイブルチニブを水性懸濁液又は粉末充填カプセル製剤として単回経口投与したとき、全身曝露量の個体間変動は大きく、 F は 3.8～24.7% であった。イヌに溶液として単回経口投与したときの曝露量は、懸濁液又はカプセル製剤として投与したときに比べて高値であった。

ラットにイブルチニブを単回静脈内投与したときの AUC_{∞} の PCI-45227 (M37) / 未変化体比は、経口投与時に比べ極めて低く、PCI-45227 (M37) の多くが初回通過効果により生成したことが示唆された。一方、ラットにイブルチニブを単回経口投与したとき、循環血漿中イブルチニブの AUC_{∞} は門脈血漿中イブルチニブの AUC_{∞} より約 60% 低値であった。また、静脈内投与時の循環血漿中イブルチニブの AUC_{∞} と比較して、経口投与時の門脈血漿中イブルチニブの AUC_{∞} (用量で標準化) は約 1/2 であった。これらのことから、ラットのイブルチニブ代謝には消化管及び肝臓の両方が関与していることが示唆された。さらに、経口投与時の門脈血漿中 PCI-45227

(M37) の曝露量は、循環血漿中 PCI-45227 (M37) の曝露量と同程度であったことから、PCI-45227 (M37) の生成には、消化管での代謝が大きく関与する可能性が考えられる。以上の点から、イブルチニブ経口投与時に認められた低い F は、不完全な溶解（懸濁液及びカプセル製剤投与の場合）並びに消化管及び肝臓における高度な初回通過効果に起因すると考えられる。

ラット又はイヌを用いた 4 及び 13 週間反復経口投与毒性試験において、イブルチニブ及び PCI-45227 (M37) (13 週間投与試験でのみ測定) の曝露量は、おおむねイブルチニブ用量の増加とともに増加したが、顕著な個体間変動が認められた。また、反復経口投与時のイブルチニブの曝露量は、単回投与時に比べてわずかに増加した。ラットに 30 mg/kg 以上の用量を経口投与したとき、イブルチニブの曝露量は雌性の方が雄性より高値であった ($C_{\max}$: 最大 3 倍、 AUC_{24} : 最大 8 倍) が、イヌでは経口投与時の曝露量に顕著な性差は認められなかった。ラット及びイヌにおいて、定常状態の AUC の PCI-45227 (M37) / 未変化体比は 0.14～1.00 であり、ラットでは 100 mg/kg 以上の用量で雄性の方が雌性より 2～3 倍高値であったが、イヌでは雌雄で同様であった。このようにラットで認められた性差は、雄性の方が雌性に比べて CYP3A2 活性が高いこと⁴⁾、⁵⁾ と関連している可能性が考えられる。

妊娠ラットにおけるイブルチニブの曝露量は、非妊娠雌性ラットと同様であった。

2.6.4.9.2 分布

雄性 Long Evans ラットに ^{14}C -イブルチニブ (ラセミ混合物) を単回経口投与した QWBA 試験、及び雄性 Lister Hooded ラットに ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を単回経口投与した QWBA 試験では類似した結果が得られた。最高組織内放射能濃度は、ほとんどの組織 (血漿を含む) において投与 1 時間後に認められ、大部分の組織では放射能濃度が血漿に比べて低かった。放射能濃度は主に腎臓、肝臓、消化管及び膀胱壁などの排泄器官、並びに副腎で高かったが、眼及び一部の中樞神経系組織 (脳及び脊髄) では低かった。血液、排泄器官 (腎臓及び肝臓)、副腎、膵臓、脾臓及び有色皮膚における放射能の消失は、血漿中に比べ緩徐であった。

各動物種（マウス、ラット及びイヌ）及びヒトの血漿において、イブルチニブの *in vitro* 血漿たん白結合率はいずれも高値であり、ヒト血漿におけるたん白結合率は 97.3% であった。また、肝機能正常被験者と比較して、重度肝機能障害被験者におけるイブルチニブの血漿たん白結合率の低下はわずかであった。M23, M25, M34 及び PCI-45227 (M37) の *in vitro* ヒト血漿たん白結合率はそれぞれ 92.3, 74.5, 77.1 及び 91.0% であった。

¹⁴C-イブルチニブ（ラセミ混合物又は R-エナンチオマー）を投与した *in vivo* 試験において、ラットでは血液/血漿中放射能濃度比が経時的に増加し、血球において放射能が長期間認められた。これは、イブルチニブがラットのヘモグロビンに不可逆的に結合することと一致した。また、ラット及びイヌにおいて、血漿及び血球画分中の総放射能（共有結合放射能＋非共有結合放射能）の消失は、共有結合放射能の消失に比べて速やかであった。ヒトでも同様の結果が認められ、血漿中総放射能の消失は、共有結合放射能の消失に比べて速やかであった。これは、非共有結合放射能の代謝及び排泄によるクリアランスに比べて、共有結合したたん白質のターンオーバーが遅いためと考えられる。

¹⁴C-イブルチニブはヒト BTK に対して、強力かつ不可逆的に結合した。オフターゲットのたん白質（ヒト CYP, HSA, ラット及びヒトのヘモグロビン、血漿及び肝ミクロソームたん白質、並びにヒト肝 S9）に対する共有結合の程度は十分に小さく、標的たん白質である BTK に対する選択性が示された。ヒト肝 S9 において、イブルチニブは主に CYP と結合することが示唆された。また、各 CYP 分子種に対するイブルチニブの共有結合量は、CYP3A4 の方が CYP1A2, CYP2C19 及び CYP2D6 に比べて多いことが示された。なお、この CYP3A4 との共有結合形成は、時間依存的な CYP3A 阻害を伴うものではなかった【2.6.4.5.5.2 参照】。

2.6.4.9.3 代謝

In vitro 及び *in vivo* 試験ともに、ラット、イヌ及びヒトにおけるイブルチニブの代謝は顕著であった。肝ミクロソームでの CL_{int} 及び *in vivo* での CL は、いずれもラットの方がイヌに比べて高かった。¹⁴C-イブルチニブの *in vitro* 代謝は、すべての種で定性的に類似しており、ヒト代謝物はすべて他の動物種の試料でも認められた。ラット、イヌ及びヒトの *in vivo* 試験において、イブルチニブの主要な代謝経路は（1）末端フェニル基の水酸化（M35）、（2）ピペリジン環の酸化的開環及びそれに続く第一級アルコールへの還元（M34）又はカルボン酸への酸化（M25）、（3）アクリロイル基のエチレンのエポキシ化及びそれに続く加水分解によるジヒドロジオール体 [PCI-45227 (M37)] の生成又はグルタチオン抱合（イヌのみ）であった。また、その他の代謝物のほとんどはこれらの主要経路の組合せ又は更に下流の二次的な代謝により生成した。ラット、イヌ及びヒトの *in vitro* 及び *in vivo* 代謝試験において代謝反応は類似していることから、ラット及びイヌは毒性評価に適切な動物種であると考えられる。

ヒト血漿中総薬物関連物質の AUC の 10% を超える、又は反復投与により 10% 程度となる主要代謝物として、M21, M23, M25, M34 及び PCI-45227 (M37) が示唆された。M23 は単回及び 8 日目投与後の血漿のいずれでも総薬物関連物質の AUC の 10% を超えなかったが、投与 8 日目以降も累積が認められた。これらの血漿中主要代謝物は、すべてラット又はイヌの血漿でも認められた。

動物及びヒトの *in vivo* で、エナンチオマー間のキラル変換はほとんど起こらないことが示唆された。

2.6.4.9.4 排泄

ラットに ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を単回経口投与したとき、投与 96 時間後までに放射能は主に糞中 (約 90%) に排泄され、尿中への排泄はわずか (2%未満) であった。放射能の排泄経路及び排泄率に顕著な性差は認められなかった。また、 ^{14}C -イブルチニブ (ラセミ混合物) を単回静脈内投与したとき、投与 168 時間後までに投与放射能の 83.5%が糞中に排泄されたこと、及び胆管カニュレーションしたラットに ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を単回経口投与したとき、投与 24 時間後までに胆汁中に投与放射能の 47%が排泄されたことから、胆汁中排泄が ^{14}C -イブルチニブ由来放射能の主要な排泄経路であることが示された。

無処置ラットにおいて、未変化体は糞中から投与放射能の約 2%のみが検出され、尿中には認められなかった。胆汁中にも未変化体は認められず、代謝物は主に第 I 相代謝物のグルクロン酸及び硫酸抱合体であった。一方、無処置ラットの糞中代謝物は主に第 I 相代謝物であり、胆汁中に排泄された抱合体は腸内細菌叢による脱抱合を受けることが示された。胆管カニュレーションしたラットの糞中には多量の酸化代謝物が認められ、代謝物の消化管内への分泌が示唆された。

イヌに ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を単回経口投与したとき、投与 72 時間後までに放射能は主に糞中 (約 90%) に排泄され、尿中への排泄はわずか (約 3%) であった。未変化体は糞中から投与放射能の 2.66%のみが検出され、尿中からはほとんど (0.11%以下) 検出されなかった。

健康被験者でも同様の結果が認められ、 ^{14}C -イブルチニブ (*R*-エナンチオマー) を単回経口投与したとき、投与 96 時間後までに放射能は主に糞中 (80.6%) に排泄され、尿中への排泄は少なかった (7.8%) 【2.7.2.2.1.1 (1)参照】。未変化体は、糞中から投与放射能の 0.77%のみが検出され、尿中からは検出されなかった。

2.6.4.9.5 薬物動態学的薬物相互作用の可能性

In vitro において、イブルチニブはワルファリンの血漿たん白結合に影響を及ぼさなかった。

ヒト CYP 発現系及びヒト肝ミクロソームを用いた検討結果、並びに臨床試験においてイブルチニブの代謝はケトコナゾールにより阻害された【2.7.2.2.1.4 (1)参照】。また、イブルチニブは主に CYP3A4 によって代謝され、CYP3A5 の関与の程度は小さいことが示唆された。このことから、CYP3A4 の阻害剤又は誘導剤との併用投与は、イブルチニブの薬物動態に影響を及ぼす可能性が考えられる。

イブルチニブは CYP3A4/5 及び CYP2B6 を誘導せず、10 $\mu\text{mol/L}$ までの名目濃度で濃度非依存的に CYP1A2 の mRNA を誘導したものの、活性には顕著な影響を及ぼさなかった。一方、PCI-45227 (M37) は CYP1A2 を誘導せず、10 $\mu\text{mol/L}$ までの名目濃度で濃度非依存的に CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA を誘導したものの、活性には顕著な影響を及ぼさなかった。また、臨床試験において、イブルチニブ反復投与時の曝露量は単回投与時の曝露量から予測可能であることから

【2.7.2.2.1.5 参照】，イブランチニブの臨床使用時に CYP3A 活性は顕著に変動しないことが示唆された。

臨床使用時の血漿中 C_{max} を考慮すると，イブランチニブ及びその主要代謝物による生体内での CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 及び CYP3A4/5 の阻害を介した臨床的に意味のある薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。イブランチニブ経口投与後の消化管上部では一時的にイブランチニブ濃度が高くなることが考えられるが，PBPK モデルを用いて，ミダゾラムを 1 mg の用量で経口投与したときの薬物動態に及ぼすイブランチニブによる CYP3A 阻害の影響を検討したところ，ミダゾラムの曝露量増加は 2 倍未満であると予測された。

イブランチニブ及び PCI-45227 (M37) は，*in vitro* において OATP1B1, OATP1B3 及び OATP2B1 の基質ではなかった。また，イブランチニブ及び M25 は P-gp の基質ではなかったが，M23, M34 及び PCI-45227 (M37) は P-gp の基質であった。

臨床使用時の血漿中 C_{max} を考慮すると，イブランチニブ及びその主要代謝物による生体内での OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, P-gp 及び BCRP 阻害を介した臨床的に意味のある薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。また，PBPK による予測から，経口投与後の消化管細胞内の非結合型イブランチニブ濃度が P-gp 又は BCRP の IC_{50} 値を上回るのは，投与後 1.5 時間の回腸上部に至るまでのみであることが示唆され，イブランチニブによる消化管での P-gp 及び BCRP 阻害の影響は顕著ではないと考えられる。

2.6.4.10 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.4.11 参考文献

- 1) Pan Z, Scheerens H, Li SJ, Schultz BE, Sprengeler PA, Burrill LC, et al. Discovery of selective irreversible inhibitors for Bruton's tyrosine kinase. *ChemMedChem*. 2007;2(1):58-61.
- 2) Lam YW, Alfaro CL, Ereshefsky L, Miller M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions of oral midazolam with ketoconazole, fluoxetine, fluvoxamine, and nefazodone. *J Clin Pharmacol*. 2003;43(11):1274-82.
- 3) Rowland IR. Interactions of the gut microflora and the host in toxicology. *Toxicol Pathol*. 1988;16(2):147-53.
- 4) Shimada M, Murayama N, Yamazoe Y, Hashimoto H, Ishikawa H, Kato R. Age- and sex-related alterations of microsomal drug- and testosterone-oxidizing cytochrome P450 in Sprague-Dawley strain-derived dwarf rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995;275(2):972-7.
- 5) Johnson TN, Tanner MS, Tucker GT. A comparison of the ontogeny of enterocytic and hepatic cytochromes P450 3A in the rat. *Biochem Pharmacol*. 2000;60(11):1601-10.

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

Test Article: Ibrutinib

Type of Study	Test System	Route	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Absorption						
Cell monolayer permeability – P-gp transporter substrate and inhibition analysis	Caco-2 and MDCK cells	In vitro	N	■■■■■, UK	■■-151-MDCK-X-TI	4.2.2.2.1
Transepithelial transport of [¹⁴ C]-ibrutinib	Caco-2 cells	In vitro	N	Janssen, Belgium	■■-181-V-X-TS (FK10429)	4.2.2.2.2
Cell monolayer permeability – P-gp substrate analysis with PCI-45227 (M37) ^a	Caco-2 and MDCK cells	In vitro	N	■■■■■, UK	■■-017-V-X-ADMET	4.2.2.2.3
Pharmacokinetics, single dose	Mouse (F)	PO	N	Pharmacyclics, US	■■-139-M-PO-PKI	4.2.2.2.4
一 Pharmacokinetics, single dose	Mouse (F)	IV, IP, SC	N	Pharmacyclics, US	■■-090-M-IV/IP/SC-PKI	4.2.2.2.5
Pharmacokinetics, single dose ^c	Mouse (M)	PO	N	■■■■■, US	■■-065-M-PO-EFI	4.2.1.2.7
Pharmacokinetics and oral bioavailability, single dose	Rat (M)	PO, IV	N	Pharmacyclics, US	■■-093-R-PO/IV-PKI	4.2.2.2.6
Pharmacokinetics and oral bioavailability, single dose	Rat (F)	PO, IV	N	Pharmacyclics, US	■■-011-R-PO/IV-PKI	4.2.2.2.7
Pharmacokinetics in fed vs. fasted state, single dose	Rat (M)	PO	N	Pharmacyclics, US	■■-148-R-PO-PKI	4.2.2.2.8
Pharmacokinetics, single dose	Rat (M)	IV, IP, SC	N	Pharmacyclics, US	■■-082-R-IV/IP/SC-PKI	4.2.2.2.9
Pharmacokinetics of PCI-45227 (M37) ^a , single dose	Rat (M)	IV	N	Pharmacyclics, US	■■-032-R-IV-PKI	4.2.2.2.10
Pharmacokinetics and oral bioavailability in fed vs. fasted state, single dose	Dog (M, F)	PO, IV	N	■■■■■, US	■■-020-D-PO/IV-PK	4.2.2.2.11
Pharmacokinetics and oral bioavailability, single dose	Dog (M)	PO (suspension, capsule)	N	Pharmacyclics, US	■■-019-D-PO-PKE	4.2.2.2.12

(Continued)

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Ibrutinib						
Type of Study	Test System	Route	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Toxicokinetics, 2 weeks repeat dose	Rat (M, F)	PO	N	Pharmacyclics, US	-146-R-PO-TXI	4.2.3.2.1
Toxicokinetics, 4 weeks repeat dose	Rat (M, F)	PO	Y	[REDACTED], US	-017-R-PO-TX	4.2.3.2.3
Toxicokinetics, 13 weeks repeat dose	Rat (M, F)	PO	Y	[REDACTED], US	-068-R-PO-TX	4.2.3.2.4
Toxicokinetics, 28 and 33 day immunotoxicology	Rat (F)	PO	Y	[REDACTED], Canada	-017-R-PO-IMTX (TOX10535)	4.2.3.7.2.1
Toxicokinetics, embryo/fetal development dose range-finding	Rat (pregnant F)	PO	N	[REDACTED], US	-063-R-PO-TTE	4.2.3.5.2.1
Toxicokinetics, embryo/fetal development	Rat (pregnant F)	PO	Y	[REDACTED], US	-132-R-PO-TT	4.2.3.5.2.2
Toxicokinetics, embryo/fetal development dose range-finding	Rabbit (pregnant F)	PO	N	[REDACTED], US	-064-B-PO-TTE	4.2.3.5.2.3
Toxicokinetics, 2 weeks repeat dose	Dog (M, F)	SDE: PO, SC RD: PO	Y	[REDACTED], US	-015-D-SC/PO-TXE	4.2.3.2.6
Toxicokinetics, 4 weeks repeat dose	Dog (M, F)	PO	Y	[REDACTED], US	-018-D-PO-TX	4.2.3.2.8
Toxicokinetics, 13 weeks repeat dose	Dog (M, F)	PO	Y	[REDACTED], US	-069-D-PO-TX	4.2.3.2.9
Distribution						
Tissue and blood distribution, metabolism and excretion	Rat (M)	PO, IV	Y	[REDACTED], US	-039-R-PO-ADME	4.2.2.3.1
Tissue distribution (whole body autoradiography)	Rat (M)	PO	N	[REDACTED], UK	-134-R-PO-WBA (FK10245)	4.2.2.3.2

(Continued)

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Ibrutinib						
Type of Study	Test System	Route	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Stability	Rat, dog, human plasma	In vitro	N	■■■■■, UK	■■-019-V-X-SB	4.2.2.3.3
Stability	Human plasma	In vitro	N	■■■■■, UK	■■-028-Hu-X-SB	4.2.2.3.4
Plasma protein binding	Mouse, rat, dog plasma	In vitro	N	■■■■■, UK	■■-032-V-X-PB	4.2.2.3.5
Plasma protein binding	Human plasma	In vitro	N	■■■■■, UK	■■-088-Hu-X-PB	4.2.2.3.6
Blood distribution and plasma protein binding	Mouse, Rat, dog, human plasma	In vitro	N	Janssen, Belgium	■■-083-Hu-X-PB (FK10375)	4.2.2.3.7
Plasma protein binding	Human plasma	In vitro	N	Janssen, Belgium	■■-079-Hu-PO-PB (FK10373)	5.3.2.1.1
Plasma protein binding	Human plasma	In vitro	N	Janssen, Belgium	■■-190-Hu-PO-PB (FK10430)	5.3.2.1.2
Plasma protein binding, subjects with varying degrees of hepatic impairment	Human plasma	In vitro	N	Janssen, Belgium	■■-105-Hu-X-PB (FK10372)	5.3.2.1.3
Plasma protein binding of PCI-45227(M37) ^a	Human plasma	In vitro	N	■■■■■, UK	■■-044-Hu-X-PB	4.2.2.3.8
Plasma protein binding of M23, M25, M34 and PCI-45227 (M37) ^a	Mouse, rat, dog, human plasma	In vitro	N	Janssen, Belgium	■■-184-V-X-PB (FK10606)	4.2.2.3.9
Blood distribution, covalent binding, metabolism and excretion	Rat (M, F)	PO	N	Janssen, Belgium	■■-022-R-PO-AME (FK10242)	4.2.2.4.8
Blood distribution, covalent binding, metabolism and excretion	Dog (M)	PO	N	Janssen, Belgium	■■-189-D-PO-AME (FK10389)	4.2.2.4.11
Total radioactivity levels and metabolite identification from human mass balance study CLL1004	Human	PO	N	Janssen, Belgium	■■-188-Hu-PO-MT (FK10267)	4.2.2.4.12

(Continued)

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Ibrutinib						
Type of Study	Test System	Route	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Covalent binding	Human albumin, plasma, and liver S9	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-095-Hu-X-PB	4.2.2.3.10
Covalent binding and metabolism	Human recombinant CYP and liver microsomes	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-153-Hu-X-MTI	4.2.2.3.11
Covalent binding	Human recombinant CYP3A4 and CYP2D6, liver S9, liver microsomes; Rat: liver microsomes and hemoglobin	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-157-Hu-X-MTI	4.2.2.3.12
Covalent binding	Human recombinant CYP 2E1; Rat, human hemoglobin	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-085-Hu-X-MTI	4.2.2.3.13
Covalent binding	Rat, human plasma	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-090-Hu-X-MTI	4.2.2.3.14
Covalent binding	Rat kidney S9; Human CYP2D6-containing liver microsomes	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-093-Hu-X-MTI	4.2.2.3.15
Covalent binding	Human albumin, plasma, human and rat hemoglobin, and purified BTK	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-087-V-X-PA	4.2.2.3.16
(Continued)						

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Ibrutinib						
Type of Study	Test System	Route	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Covalent binding	Rat and human liver S9 proteins	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-059-V-X-PA	4.2.2.3.17
Covalent binding and metabolic turnover	Rat and human liver microsomes	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-086-V-X-PA	4.2.2.3.18
Metabolism						
Stability	Rat, dog, monkey, human liver microsomes	In vitro	N	■, UK	■-123-V-X-MT	4.2.2.4.1
Covalent binding and metabolism	Human recombinant CYP and liver microsomes	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-153-Hu-X-MTI	4.2.2.3.11
In vitro metabolism	Various species	In vitro	N	Janssen, Belgium	■-080-V-X-MT (FK10269)	4.2.2.4.2
In vitro metabolism of [D ₅]-ibrutinib	Rat and human hepatocytes	In vitro	N	Janssen, Belgium	■-105-V-X-MT (FK10351)	4.2.2.4.3
CYP identification	Human recombinant CYPs	In vitro	N	■, UK	■-013-Hu-X-MT	4.2.2.4.4
Microsomal metabolic stability in the presence of CYP specific inhibitors	Human liver microsomes	In vitro	N	■, UK	■-014-Hu-X-MT	4.2.2.4.5
Inhibition of metabolism by fluoxetine, norfluoxetine and fluvoxamine; Relative contribution of CYP3A5 to ibrutinib metabolism	Human liver microsomes	In vitro	N	Janssen, Belgium	■-168-Hu-X-CYP (FK10615)	4.2.2.4.6
(Continued)						

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Ibrutinib						
Type of Study	Test System	Route	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
CYP enzyme kinetics	Human recombinant supersomes expressing CYP2D6 and CYP3A4/5	In vitro	N	Pharmacyclics, US	■-041-Hu-X-MTI	4.2.2.4.7
CYP inhibition	Human liver microsomes	In vitro	N	■, US	■-029-Hu-X-CYP	4.2.2.4.15
CYP inhibition by M23	Human liver microsomes	In vitro	N	Janssen, US	■-026-Hu-X-CYP (FK10650)	4.2.2.4.16
CYP inhibition by M25	Human liver microsomes	In vitro	N	Janssen, US	■-161-Hu-X-CYP (FK10597)	4.2.2.4.17
CYP inhibition by M34	Human liver microsomes	In vitro	N	Janssen, US	■-162-Hu-X-CYP (FK10598)	4.2.2.4.18
CYP inhibition by PCI-45227 (M37) ^a	Human liver microsomes	In vitro	N	■, US	■-016-Hu-X-CYP	4.2.2.4.19
CYP induction	Human hepatocytes	In vitro	N	■, US	■-075-Hu-X-INDC	4.2.2.4.14
Tissue and blood distribution, metabolism and excretion	Rat (M)	PO, IV	Y	■, US	■-039-R-PO-ADME	4.2.2.3.1
Blood distribution, covalent binding, metabolism and excretion	Rat (M, F)	PO	N	Janssen, Belgium	■-022-R-PO-AME (FK10242)	4.2.2.4.8
Metabolism and biliary excretion	Rat (M)	PO	N	Janssen, Belgium	■-081-R-PO-EXC (FK10301)	4.2.2.4.9
Pharmacokinetics and metabolism of [D ₅]-ibrutinib	Rat (M)	IV	N	Janssen, Belgium	■-158-R-IV-PK (FK10394)	4.2.2.4.10

(Continued)

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Ibrutinib						
Type of Study	Test System	Route	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Blood distribution, covalent binding, metabolism and excretion	Dog (M)	PO	N	Janssen, Belgium	■-189-D-PO-AME (FK10389)	4.2.2.4.11
Total radioactivity levels and metabolite identification from human mass balance study CLL1004	Human	PO	N	Janssen, Belgium	■-188-Hu-PO-MT (FK10267)	4.2.2.4.12
Identification and estimation of the abundance of the metabolites in human plasma after single and multiple oral administration (Clinical trial PCI-32765CLL1002 and PCYC-1111-CA)	Human	PO	N	Janssen, Belgium	■-129-Hu-PO-MT (FK10347)	4.2.2.4.13
Assessment S-enantiomer exposure	Rat, dog, human plasma	PO	N	Janssen, Belgium	■-159-V-PO-MT (FK10390)	4.2.2.4.20
Excretion						
Tissue and blood distribution, metabolism and excretion	Rat (M)	PO, IV	Y	■, US	■-039-R-PO-ADME	4.2.2.3.1
Blood distribution, covalent binding, metabolism and excretion	Rat (M, F)	PO	N	Janssen, Belgium	■-022-R-PO-AME (FK10242)	4.2.2.4.8
Blood distribution, covalent binding, metabolism and excretion	Dog (M)	PO	N	Janssen, Belgium	■-189-D-PO-AME (FK10389)	4.2.2.4.11
Total radioactivity levels and metabolite identification from human mass balance study CLL1004	Human	PO	N	Janssen, Belgium	■-188-Hu-PO-MT (FK10267)	4.2.2.4.12
Metabolism and biliary excretion	Rat (M)	PO	N	Janssen, Belgium	■-081-R-PO-EXC (FK10301)	4.2.2.4.9
Pharmacokinetic Drug Interactions						
Protein interaction with warfarin	Human plasma	In vitro	N	Janssen, Belgium	■-144-Hu-X-PKX (FK10377)	4.2.2.6.1
(Continued)						

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Ibrutinib						
Type of Study	Test System	Route	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Transport of ibrutinib and PCI-45227 (M37) ^a	HEK293 (OATP) cell lines	In vitro	N	Janssen, Belgium	█-103-V-X-TS (FK10340)	4.2.2.6.2
P-gp/MDR1: Substrate and inhibition potential of M23	LLC-PK1 cells	In vitro	N	Janssen, Belgium	█-191-V-X-TS (FK10643)	4.2.2.6.3
P-gp/MDR1: Substrate and inhibition potential of M25	LLC-PK1 cells	In vitro	N	Janssen, Belgium	█-157-V-X-TS (FK10576)	4.2.2.6.4
P-gp/MDR1: Substrate and inhibition potential of M34	LLC-PK1 cells	In vitro	N	Janssen, Belgium	█-158-V-X-TS (FK10577)	4.2.2.6.5
OATP1B1 – OATP1B3: Inhibition potential of ibrutinib and major metabolites	HEK293 cells	In vitro	N	Janssen, Belgium	█-028-V-X-TS (FK10654)	4.2.2.6.6
OAT1 – OCT2: Inhibition potential of ibrutinib and major metabolites	CHO cells	In vitro	N	Janssen, Belgium	█-025-V-X-TS (FK10656)	4.2.2.6.7
OAT3: Inhibition potential of ibrutinib and major metabolites	MDCK II cells	In vitro	N	Janssen, Belgium	█-027-V-X-TS (FK10655)	4.2.2.6.8
P-gp IC ₅₀ analysis in the presence of loperamide	MDCK cells	In vitro	N	█, UK	█-005-MDCK-X-TI	4.2.2.6.9
BCRP: Inhibition potential of ibrutinib and major metabolites	Inside-out vesicles	In vitro	N	Janssen, Belgium	█-180-V-X-TS (FK10657)	4.2.2.6.10
Other						
Purification and analysis of [¹⁴ C]-ibrutinib ^b	NA	NA	Y	Janssen, Belgium	█-191-Z-Z-PK-OTH (FK10287)	4.2.2.7.1
Preparation of dosing formulations of [¹⁴ C]-ibrutinib ^b	NA	NA	Y	Janssen, Belgium	█-192-Z-Z-PK-OTH (FK10274)	4.2.2.7.2

^a PCI-45227 is the dihydrodiol metabolite of ibrutinib (M37).^b No tabulation.^c Study was conducted in a male DBA/10IaHsd mouse established type II collagen arthritis model.

BCRP = breast cancer resistance protein; CHO = Chinese Hamster Ovary; CYP = cytochrome P450; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HEK = human embryonic kidney; IC₅₀ = half-maximal inhibitory concentration; IV = intravenous; IP = intraperitoneal; M = male; MDCK = Madin-Darby canine kidney; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein; PO = oral; RD = repeat dose; S9 = post-mitochondrial fraction of tissue homogenate; SC = subcutaneous; SDE = single-dose escalation

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

Test Article: Ibrutinib

Information concerning these studies can be found in Mod 2.6.4.2.

2.6.5.3 A 薬物動態試験：In vitro における吸収

Test Article: Ibrutinib

Type of Study: Permeability of ibrutinib in Caco-2 and MDR1-MDCK cell lines

Study No.: ■-151-MDCK-X-TI

Location in CTD: 4.2.2.2.1

Method:

Caco-2 and MDR1-MDCK cells were used to investigate the bidirectional permeability of ibrutinib in the absence and presence of the P-gp inhibitors verapamil and cyclosporine A. Ibrutinib was evaluated as a P-gp inhibitor in MDR1-MDCK cells using loperamide as the P-gp substrate. Cells were incubated with test compounds (2 hours for Caco-2 cells, 1 hour for MDR1-MDCK cells) and transport was measured in basolateral to apical and apical to basolateral directions. The amount of compound permeated into receiver compartments was measured by LC-MS/MS.

Tabulated Results

Caco-2 Cells									
P_{app} (x 10 ⁻⁶ cm.s ⁻¹) ^a	Verapamil (μM)	Ibrutinib (10 μM)		Atenolol (10 μM)		Propranolol (10 μM)		Talinolol (10 μM)	
		A→B	B→A	A→B	B→A	A→B	B→A	A→B	B→A
		0	57.9	7.55	0.370	0.771	50.1	24.0	0.315
	100	46.1	4.33	0.916	0.481	50.3	27.5	1.94	3.18
Efflux Ratio (B→A/A→B)	0	0.13		2.08		0.479		81.9	
	100	0.094		0.525		0.547		1.64	
	MDR1-MDCK Cells								
P_{app} (x 10 ⁻⁶ cm.s ⁻¹) ^a	Cyclosporine A (μM)	Ibrutinib (10 μM)		Prazosin (10 μM)		Propranolol (10 μM)			
		A→B	B→A	A→B	B→A	A→B	B→A	A→B	B→A
		0	54.1	29.4	4.01	64.4	56.8	33.5	
	10	65.4	22.4	35.8	9.42	54.4	35.8		
Efflux Ratio (B→A/A→B)	0	0.542		16.1		0.590			
	10	0.342		0.263		0.658			
	P-gp Substrate: Loperamide (5 μM)								
P-gp Inhibitor:	None	Ibrutinib (50 μM)		Cyclosporine A (10 μM)		Ketoconazole (50 μM)			
		A→B	B→A	A→B	B→A	A→B	B→A	A→B	B→A
		3.54	81.7	24.3	9.98	28.1	9.03	35.7	24.1
P_{app} (x 10 ⁻⁶ cm.s ⁻¹) ^a									
Efflux Ratio (B→A/A→B)	23.1	0.411		0.321		0.675			

Additional Information: The % recovery of ibrutinib in the A-B direction in the presence and absence of verapamil was 21.4 and 25% respectively. This may indicate a possible binding, solubility or metabolism issue with compound.

Additional Information: The % recovery of ibrutinib in the A-B direction in the presence and absence of verapamil was 21.4 and 25% respectively. This may indicate a possible binding, solubility or metabolism issue with compound.

^a N = 2A→B = apical to basolateral; B→A = basolateral to apical; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; P_{app} = apparent permeability; P-gp = P-glycoprotein

(Continued)

2.6.5.3 A 薬物動態試験：In vitro における吸収（続き）

Test Article: Ibrutinib

Type of Study: Transepithelial transport of [¹⁴C]-ibrutinib in Caco-2 cell lines Study No.: -181-V-X-TS (FK10429) Location in CTD: 4.2.2.2.2

Method:
The transport of [¹⁴C]-ibrutinib at 10 μM was measured across Caco-2 cells for an incubation period of 15, 60 and 120 min. The 60 min P_{app} data are reported in this table (transport was linear up to 60 min and saturation of transport of [¹⁴C]-ibrutinib was observed after 120 min). Metabolic profiling of the medium in the donor and acceptor compartment, 120 min after spiking of the compound, in the presence and absence of ketoconazole (CYP3A4 inhibitor) and 10% fetal calf serum (FCS) was performed. Atenolol and levocabastine were included as reference substances for low and high absorption, respectively.

Tabulated Results

	FCS (10%)	Caco-2 Cells (60 min)							
		[¹⁴ C]-Ibrutinib (10 μM)		[¹⁴ C]-Ibrutinib (10 μM) + Ketoconazole (1 μM)		[³ H]-Atenolol (20 μM)		[³ H]-Levocabastine (20 μM)	
		A→B	B→A	A→B	B→A	A→B	B→A	A→B	B→A
P _{app} (x 10 ⁻⁶ cm.s ⁻¹) ^a	-	37.18±5.76	11.87±0.80	33.80±4.49	10.75±2.64	0.34±0.08	0.46±0.06	11.97±2.38	19.56±1.06
	+	36.03±12.66	12.83±2.07	34.12±11.84	13.57±6.27	0.29±0	0.48±0.13	22.16±2.54	11.58±4.84
Efflux Ratio (B→A/A→B)	-	0.32		0.32		1.35		1.63	
	+	0.36		0.40		1.66		0.52	

Caco-2 Cells (60 min) – with correction for metabolism of ibrutinib				
	FCS (10%)	[¹⁴ C]-Ibrutinib (10 μM)		
		A→B	B→A	
P _{app} (x 10 ⁻⁶ cm.s ⁻¹) ^a	-	32.63±5.06	11.87±0.80 ^a	
	+	30.68±10.78	12.83±2.07 ^a	
Efflux Ratio (B→A/A→B)	-	0.37		
	+	0.41		

Additional Information:

The effect of ketoconazole on the overall metabolism of ibrutinib in Caco-2 cells was limited. The addition of FCS slowed down the metabolism.

Mean±standard deviation, N=3

^a P_{app} B→A is not corrected for metabolism

A→B = apical to basolateral; B→A = basolateral to apical; FCS = fetal calf serum; P_{app} = apparent permeability

(Continued)

2.6.5.3 A 薬物動態試験：In vitro における吸収（続き）

Type of Study: Permeability of PCI-45227 (M37, ibrutinib dihydrodiol metabolite) in Caco-2 and MDR1-MDCK cell lines					Study No.: █-017-V-X-ADMET		Test Article: PCI-45227 (M37)		Location in CTD: 4.2.2.2.3		
Method: Caco-2 and MDR1-MDCK cells were used to investigate the bidirectional permeability of PCI-45227 (M37) in the absence and presence of the P-gp inhibitor cyclosporine A. PCI-45227 (M37) was evaluated as a P-gp inhibitor in MDR1-MDCK cells using loperamide as the P-gp substrate. Cells were incubated with test compounds (2 hours for Caco-2 cells, 1 hour for MDR1-MDCK cells) and transport was measured in basolateral to apical and apical to basolateral directions. The amount of compound permeated into receiver compartments was measured by LC-MS/MS.											
Tabulated Results											
Caco-2 Cells											
P_{app} (x 10⁻⁶ cm.s⁻¹)^a	PCI-45227 (M37) (10 μM)		Atenolol (10 μM)		Propranolol (10 μM)		Talinolol (10 μM)				
	<u>A→B</u>	<u>B→A</u>	<u>A→B</u>	<u>B→A</u>	<u>A→B</u>	<u>B→A</u>	<u>A→B</u>	<u>B→A</u>			
	18.2	36.6	0.220	0.403	53.7	26.7	0.497	15.6			
Efflux Ratio (B→A/A→B)	2.01		1.83		0.497		31.4				
MDR1-MDCK Cells											
P_{app} (x 10⁻⁶ cm.s⁻¹)^a	<u>Cyclosporine A (μM)</u>		PCI-45227 (M37) (10 μM)		Prazosin (10 μM)		Propranolol (10 μM)				
			<u>A→B</u>	<u>B→A</u>	<u>A→B</u>	<u>B→A</u>	<u>A→B</u>	<u>B→A</u>			
	0		1.04	55.6	5.69	65.6	68.8	28.6			
	10		27.6	24.4	30.8	14.5	55.3	28.9			
Efflux Ratio (B→A/A→B)	0		53.3		11.5		0.416				
	10		0.883		0.471		0.523				
P-gp Substrate:											
P-gp Inhibitor:											
P_{app} (x 10⁻⁶ cm.s⁻¹)^a	None		PCI-45227 (M37) (50 μM)		Cyclosporine A (10 μM)		Ketoconazole (50 μM)				
	<u>A→B</u>	<u>B→A</u>	<u>A→B</u>	<u>B→A</u>	<u>A→B</u>	<u>B→A</u>	<u>A→B</u>	<u>B→A</u>			
	0.831	66.4	1.01	52.3	6.83	15.2	11.1	20.7			
Efflux Ratio (B→A/A→B)	79.9		52.0		2.22		1.86				

^a N = 2

A→B = apical to basolateral; B→A = basolateral to apical; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; P-gp = P-glycoprotein

2.6.5.3 B 薬物動態試験：単回投与後の吸収（マウス）

Test Article: Ibrutinib						
Location in CTD	4.2.2.2.4		4.2.2.2.5		4.2.1.2.7	
Study No.	■-139-M-PO-PKI		■-090-M-IV/IP/SC-PKI		■-065-M-PO-EFI	
Species	Mouse (CD1)		Mouse (CD1)		Mouse (DBA/10IaHsd)	
Feeding Condition	Ad libitum		Ad libitum		Ad libitum	
Vehicle/Formulation	0.331, 1.42 mg/mL ibrutinib 1% MC, 0.4% Cremophor® EL, suspension		6 mg/mL ibrutinib 20% HP-β-CD solution		MC 1%/Cremophor EL 0.4%/water 98.6%	
Route	Oral gavage		IV	IP	SC	Oral gavage
Gender (M/F)/Number of Animals	F:3			F:2		M: 3
Dose (mg/kg)	3.31 ^a	14.2 ^a		30		12.5
Sample	Plasma			Plasma		Plasma
Analyte	Ibrutinib			Ibrutinib		Ibrutinib
Assay	LC-MS/MS			LC-MS/MS		LC-MS/MS
Pharmacokinetic Parameters						
C _{max} (ng/mL)	44.5	474	16000	4680	2540	280
T _{max} (h)	0.083	0.333	-	0.0833	0.333	0.083
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	41.5	573	4810	3020	4470	360
t _{1/2} (h)	1.71	3.10	α: 0.206 β: 0.710	0.792	4.37	
Clearance (L/h/kg)			6.24			
V _{ss} (L/kg)			1.92			
Bioavailability (%)	7.8 ^b	25.2 ^b		62.8	93.1	18.0 ^b

Pharmacokinetic Parameters: estimated from mean plasma concentration

^a Dose administered based on analysis of ibrutinib in the dosing solution; nominal doses were 3.13 and 12.5 mg/kg

^b Calculated using the parameters for IV administration reported in study ■-090-M-IV/IP/SC-PKI.

HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; F = female; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; MC = methylcellulose; SC = subcutaneous

2.6.5.3 C 薬物動態試験：単回投与後の吸収（ラット）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.2.6					
Study No.		-093-R-PO/IV-PKI					
Species		Rat					
Feeding Condition		Fasted					
Vehicle/Formulation		2 mg/mL ibrutinib 20% HP-β-CD solution			10 mg/mL ibrutinib 0.1% SLS, 1% MC, 0.4% CrEL, suspension		
Route		IV			Oral gavage		
Gender (M/F)/Number of Animals		M:3			M:3		
Dose (mg/kg)		4			30		
Sample		Plasma			Plasma		
Analyte		Ibrutinib	Ibrutinib	PCI-45227 (M37)	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib
Assay		LC-MS/MS			LC-MS/MS		
Pharmacokinetic Parameters		Jugular Vein	Portal Vein		Jugular Vein	Portal Vein	Jugular Vein
C _{max} (ng/mL)		3280±160	2100±1430	274±188	489±462	261±197	2010±710
T _{max} (h)		0.083	0.333±0.000	0.333±0.000	0.333 ±0.000	0.555±0.385	0.247±0.144
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)		1390±210	2560±1190	729±473	795±568	834±636	3580±890
t _{1/2} (h) [%AUC]		α: 0.231±0.031 [95.3] β: 8.56±6.90 [4.7]	7.50±8.15	1.33±0.20	4.65±2.57	1.30±0.16	2.03±0.96
Clearance (L/h/kg)		2.92±0.47	-	-	-	-	-
V _{ss} (L/kg)		2.68±2.56	-	-	-	-	-
Absorption (%)		-	73.4	-	-	-	34.2
Bioavailability (%)		-	-	-	22.8	-	-

Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation

- = not calculated; CrEL = Cremophor®EL; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; MC = methylcellulose; SLS = sodium lauryl sulfate

(Continued)

2.6.5.3 C 薬物動態試験：単回投与後の吸収（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.2.7	
Study No.		-011-R-PO/IV-PKI	
Species		Rat	
Feeding Condition	Fasted	Fasted	Not fasted
Vehicle/Formulation	2 mg/mL ibrutinib 20% HP-β-CD solution	10 mg/mL ibrutinib 0.1% SLS, 1% MC, 0.4% CrEL, suspension	
Route	IV	Oral gavage	
Gender (M/F)/Number of Animals	F:3	F:3	
Dose (mg/kg)	4	10	30
Sample	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib
Assay	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Pharmacokinetic Parameters	Jugular Vein	Jugular Vein	Jugular Vein
C _{max} (ng/mL)	3030±250	1660±1000	6390 ^a
T _{max} (h)	0.083±0.000	0.083±0.000	0.083 ^a
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	1920±530	2040±800	7170 ^a
t _{1/2} (h) [%AUC]	α: 0.437±0.12 [99] β: 11.2±5.4 [1]	3.04±0.76	1.02 ^a
Clearance (L/h/kg)	2.44±0.807	-	-
V _{ss} (L/kg)	1.89±0.17	-	-
Absorption (%)	-	45.3	53.1
Bioavailability (%)	-	-	24.7 ^b

Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation, mean or individual value

^a C_{max} and T_{max} determined from 2 rats, all other PK parameters estimated from 1 rat.^b C_{max} and T_{max} determined from 4 rats, all other PK parameters estimated from 3 rats.

- = not calculated; CrEL = Cremophor®EL; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; F = female; IV = intravenous;

LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; MC = methylcellulose; SLS = sodium lauryl sulfate

(Continued)

2.6.5.3 C 薬物動態試験：単回投与後の吸収（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib					
Location in CTD	4.2.2.2.8			4.2.2.2.9	
Study No.	-148-R-PO-PKI			-082-R-IV/IP/SC-PKI	
Species	Rat			Rat	
Feeding Condition	Ad libitum			Ad libitum	
Vehicle/Formulation	20 mg/mL ibrutinib 0.1% SLS, 1% MC, 0.4% CrEL, suspension			3 mg/mL ibrutinib 20% HP-β-CD solution	
Route	Oral gavage			IV	IP
Gender (M/F)/Number of Animals	M:4				M:3
Dose (mg/kg)	100				30
Sample	Plasma				Plasma
Analyte	Ibrutinib				Ibrutinib
Assay	LC-MS/MS				LC-MS/MS
Pharmacokinetic Parameters					
C _{max} (ng/mL)	672±147	601±417	64500±30400	3050	1930±120
T _{max} (h)	1.5±1.0	2.5±1.0	-	1.0±0.0	1.0±0.0
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	5570±910	3870±2600	13700±2200	6480 ^b	12500±400
t _{1/2} (h) [%AUC]	2.85±0.63	3.08±0.82	α: 0.041±0.0136 [20] β: 0.513±0.060 [75] γ: 4.51±1.81 [5] 2.23±0.39 1.98±0.22	2.41 ^b	1.90±0.21
Clearance (L/h/kg)					
V _{ss} (L/kg)					
Absorption (%)					
Bioavailability (%)	12.2 ^a	8.5 ^a	-	47.3 ^b	91.4

Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation or mean

^a Calculated using the parameters for IV administration reported in study ■-082-R-IV/IP/SC-PKI^b n=2

- = not calculated; CrEL = Cremophor®EL; IP = intraperitoneal; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; IV = intravenous;

LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; MC = methylcellulose; SC = subcutaneous; SLS = sodium lauryl sulfate

(Continued)

2.6.5.3 C 薬物動態試験：単回投与後の吸収（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib/PCI-45227 (M37)

Location in CTD		4.2.2.2.10	
Study No.		-032-R-IV-PK1	
Species		Rat	
Feeding Condition		Ad libitum	
Vehicle/Formulation		2 mg/mL ibrutinib 20% HP-β-CD solution	2 mg/mL PCI-45227 (M37) 20% HP-β-CD solution
Route		IV	IV
Gender (M/F)/Number of Animals		M:4	M:4
Dose (mg/kg)		4	4
Sample		Plasma	Plasma
Analyte		Ibrutinib	PCI-45227 (M37)
Assay		LC-MS/MS	LC-MS/MS
Pharmacokinetic Parameters			
C _{max} (ng/mL)		3920±586 ^a	4540±931 ^a
T _{max} (h)		0.083±0.00 ^a	0.083±0.00 ^a
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)		2150±329	4060±846
t _{1/2} (h)		16.6±3.89	4.89±3.02
Clearance (L/h/kg)		1.90±0.288	1.02±0.243
Volume of Distribution (L/kg)			
V _z		44.4±7.14	7.07±4.08
V _{ss}		1.50±0.216	1.49±0.639
Metabolite/Parent Ratio (%) ^b			
AUC		7.95±1.51	
C _{max}		2.11±0.181	
Metabolite Formed (%) ^c		4.43±0.250	

Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation

^a Maximum plasma concentration (C_{max}) and time to C_{max} (T_{max}) for ibrutinib and PCI-45227 (M37) dosed IV were noted as the first measurable concentration observed.^b Metabolite/ parent ratio (%; AUC) = (AUC_{0-∞,PCI-45227} / MW_{PCI-45227}) / (AUC_{0-∞, ibrutinib} / MW_{ibrutinib}) × 100;Metabolite/ parent ratio (%; C_{max}) = (C_{max,PCI-45227} / MW_{PCI-45227}) / (C_{max,ibrutinib} / MW_{ibrutinib}) × 100^c Metabolite formed (%) = AUC_{0-∞,PCI-45227(formed following IV Ibrutinib)} / AUC_{0-∞,PCI-45227(following IV PCI-45227)} × 100

HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male

2.6.5.3 D 薬物動態試験：単回投与後の吸収（イヌ）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.2.11							
Study No.		-020-D-PO/IV-PK							
Species		Dog							
Feeding Condition		Fasted overnight		Fasted overnight		Fed 30 minutes before dosing		Fed 30 minutes before dosing	
Vehicle/Formulation		10, 50 mg per capsule		10, 50 mg per capsule		10, 50 mg per capsule		10, 50 mg per capsule	
Route		Oral		Oral		Oral		Oral	
Gender (M/F)/Number of Animals		M:4		F:4		M:4		F:4	
Dose (mg/kg) ^a		10		10		10		10	
Sample		Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte ^b		Ibrutinib	PCI-45227 (M37)	Ibrutinib	PCI-45227 (M37)	Ibrutinib	PCI-45227 (M37)	Ibrutinib	PCI-45227 (M37)
Assay		LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Pharmacokinetic Parameters									
C _{max} (ng/mL)		137±144	55±48	126±55	70±20	248±380	57±75	55±52	44±39
T _{max} (h)		1.25±0.50	1.25±0.50	1.00±0.0	1.00±0.0	1.63±0.75	1.75±0.50	1.13±0.63	1.13±0.63
AUC _{0-∞} (ng·h/mL)		363±310	215±223	427±111	351±140	721±1117	257±358	156±87	159±136
t _{1/2} (h)		6.38 ±4.13	2.44±0.93	4.35±0.48	3.84±0.90	3.63±1.76	2.05±0.50	3.27±3.21	2.08±1.04
Bioavailability (%) ^c		6.9±6.2	-	10.5±3.7	-	14.4±22.8	-	3.8±2.3	-

Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation

^a The animals were administered a combination of 10 and 50 mg capsules to achieve a dose level of approximately 10 mg/kg.^b PCI-45227 is the dihydrodiol metabolite of ibrutinib (M37)^c Ibrutinib was also administered IV in these studies and the associated parameters were used to calculate bioavailability

- = not calculated; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male

(Continued)

2.6.5.3 D 薬物動態試験：単回投与後の吸収（イヌ）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.2.11			
Study No.		-020-D-PO/IV-PK			
Species		Dog			
Feeding Condition		Fasted			
Vehicle/Formulation		8 mg/mL ibrutinib 20% HP-β-CD solution			
Route		IV			
Gender (M/F)/Number of Animals		M:4		F:4	
Dose (mg/kg)		4		4	
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	Ibrutinib	PCI-45227 (M37)	Ibrutinib	PCI-45227 (M37)	PCI-45227 (M37)
Assay	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Pharmacokinetic Parameters					
C _{max} (ng/mL)	1220±140	21±2	1120±400	56±2	
T _{max} (h)	-	0.75±0.29	-	0.50±0.0	
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	2120±330	83±32	1690±330	182±12	
t _{1/2α} (h) [%AUC]	1.16±0.12 [96]	terminal t _{1/2} :1.64±0.21	1.04±0.21 [91]	terminal t _{1/2} :1.99±0.87	
t _{1/2β} (h) [%AUC]	15.3±6.1 [4]		14.7±9.2 [9]		
Clearance (L/h/kg)	1.92±0.26	-	2.43±0.48	-	
V _{ss} (L/kg)	4.53±0.52	-	5.76±2.21	-	

Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation

- = not calculated; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; IV = intravenous; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male

(Continued)

2.6.5.3 D 薬物動態試験：単回投与後の吸収（イヌ）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	4.2.2.2.12							
Study No.	-019-D-PO-PKE							
Species	Dog							
Feeding Condition	Fasted overnight							
Vehicle/Formulation ^a	Capsule (A)	Capsule (B)	Suspension	Capsule (D)	Capsule (E)	Capsule (F)	Capsule (G)	Capsule (H)
Route	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Gender (M/F)/Number of Animals	M:4	M:4	M:4	M:4	M:4	M:4	M:4	M:4
Dose (mg/kg) ^b	10	10	10	10	10	10	10	10
Day of Dosing ^c	1, 3		22, 24		36, 38		64, 66	
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib
Assay	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Pharmacokinetic Parameters								
C _{max} (ng/mL)	56.0±45	94.0±87	114 ^d	130±132	58.0±82	93.0±116	165±135	129±98
T _{max} (h)	1.13±0.63	1.88±1.55	0.50 ^d	1.38±0.75	1.63±0.75	1.75±0.50	1.38±0.75	1.75±0.50
AUC _{0-∞} (ng·h/mL)	175±77	289±229	399 ^d	296±190	207±228	305±310	523±355	357±190

Additional Information: Drug substance: micronized ibrutinib in capsules B through H, and in the suspension; non-micronized ibrutinib in capsule A

Excipients: Capsules A, B, E, F contained microcrystalline cellulose, croscarmellose sodium, sodium lauryl sulfate, magnesium stearate (additionally, Gelucire® 44/14 in capsule E; vitE TPGS in capsule F); Capsule D contained Gelucire® 44/14; Capsule G contained microcrystalline cellulose, croscarmellose sodium, sodium lauryl sulfate; Capsule H contained citric acid monohydrate, croscarmellose sodium, and sodium lauryl sulfate. The suspension contained methylcellulose, Cremophor®EL, sodium lauryl sulfate, and water

Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation or mean

^a Formulation compositions are described under Additional Information

^b Nominal dose based on a 10 kg dog

^c Each formulation was administered to 2 dogs on the first day listed; two days later, 2 dogs received the formulation opposite from the first day.

^d n=2

- = not calculated; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; VitE-TPGS = vitamin E-D-α-tocopheryl polyethylene glycol succinate

(Continued)

2.6.5.3 D 薬物動態試験：単回投与後の吸収（イヌ）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.3.2.6									
Study No.		-015-D-SC/PO-TXE									
Species		Dog									
Feeding Condition		Fasted overnight									
Vehicle/Formulation ^a		10 mg/mL A		15 mg/mL A		50 mg/mL B		100 mg/mL C		100 mg/mL B	
Route		Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
Gender (M/F)/Number of Animals		<u>M</u> :1	<u>F</u> :1	<u>M</u> :1	<u>F</u> :1	<u>M</u> :1	<u>F</u> :1	<u>M</u> :1	<u>F</u> :1	<u>M</u> :1	<u>F</u> :1
Dose (mg/kg)		11	11	100	100	100	100	200	200	200	200
Day of Dosing		0		30		30		37		37	
Sample		Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte		Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib
Assay		LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Pharmacokinetic Parameters											
C _{max} (ng/mL)		577	352	7620	8290	788	1100	81.7	160	834	880
T _{max} (h)		1	1	1	1	2	1	1	2	4	1
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)		864	797	27400	40700	3630	5050	664	670	5620	2810
t _{1/2} (h)		2.82	2.87	2.36	2.60	2.47	1.58	3.02	2.63	2.32	1.73
Additional Information: Formulation A: aqueous vehicle containing 20% hydroxypropyl-β-cyclodextrin; Formulation B: aqueous vehicle containing 0.1% sodium lauryl sulfate, 1% methylcellulose and 0.4% Cremophor® EL; Formulation C: aqueous vehicle containing 1% methylcellulose and 0.4% Cremophor® EL.											

Pharmacokinetic Parameters: individual value
^a Formulation compositions are described under Additional Information

F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male

2.6.5.4 A 薬物動態試験：反復投与後の吸収（ラット）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.3 2.1			
Study Type / Study No.		2-Week Toxicity / ■-146-R-PO-TXI			
Species		Rat, Sprague-Dawley			
Feeding Condition		Ad libitum			
Vehicle/Formulation		1% MC, 0.4% Cremophor EL, 0.1% sodium lauryl sulfate			
Route		Oral gavage			
Sample		plasma			
Analyte		Ibrutinib			
Assay		LC-MS/MS			
Gender (M/F)/Number of Animals/Timepoint		M:1	F:1	M:1	F:1
Dose (mg/kg)		10	10	200	200
Duration of Dosing (days)		14	14	14	14
Pharmacokinetic Parameters					
C _{max} (ng/mL)		82	266	990	7450
C _{max} /dose (mg/mL)		8.2	26.6	5.0	37.3
T _{max} (h)		1	1	1	1
AUC _{0-24h} (ng•h/mL)		165	534	9900	44800
AUC _{0-24h} /dose (mg•h/mL)		16.5	53.4	49.5	224

Additional Information
2/sex/group

Pharmacokinetic Parameters: mean
AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M = male; T_{max} = time to maximum concentration

(Continued)

2.6.5.4 A 薬物動態試験：反復投与後の吸収（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.3 2.3											
Study Type / Study No.		4-Week Toxicity / ■-017-R-PO-TX											
Species		Rat, Sprague-Dawley											
Feeding Condition		Ad libitum											
Vehicle/Formulation		0.5% methylcellulose, 0.4% Cremophor EL, 0.1% sodium lauryl sulfate											
Route		Oral gavage											
Sample		Plasma											
Analyte		Ibrutinib											
Assay		LC-MS/MS											
Gender (M/F)/Number of Animals/timepoint		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Dose (mg/kg)		2.5	2.5	40	40	300	150	2.5	2.5	40	40	300	150
Duration of Dosing (days)		1	1	1	1	1	1	26	26	26	26	26	26
Pharmacokinetic Parameters													
C _{max} (ng/mL)		40	60	370	1100	1280	2940	50	70	650	1700	2000	3130
C _{max} /dose (mg/mL)		20	20	10	30	4	20	20	30	20	40	10	20
T _{max} (h)		1	1	1	1	4	2	1	1	2	1	2	1
AUC (ng•h/mL) ^a		90	160	1010	3330	11100	14800	140	180	2800	4000	24000	19000
AUC/dose (mg•h/mL) ^b		32	60	25	82	34	99	56	72	70	100	80	127
t _{1/2} (h)		1.4	1.6	1.2	1.2	6.0	2.5	4.0	4.1	2.0	1.9	4.0	8.6
Additional Information													
First day of dosing was designated study Day 0. Duration of dosing – 1 day for study Day 0 and 26 days for study Day 25.													
^a AUC _{inf} on Day 0 and AUC ₀₋₂₄ on Day 25.													
^b Dose-normalized AUC _{last}													

Pharmacokinetic Parameters: estimated from mean plasma concentration

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry;M = male; t_{1/2} = half-life; T_{max} = time to maximum concentration

(Continued)

2.6.5.4 A 薬物動態試験：反復投与後の吸収（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	4.2.3.2.4											
Study Type / Study No.	13-Week Toxicity / 068-R-PO-TX											
Species	Rat, Sprague-Dawley											
Feeding Condition	Ad libitum											
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate											
Route	Oral gavage											
Sample	plasma											
Analyte	Ibrutinib											
Assay	LC-MS/MS											
Gender (M/F)/Number of Animals/timepoint	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Dose (mg/kg)	30	30	100	100	300	300	30	30	100	100	300	175 ^a
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	79	79	79	79	79	79
Pharmacokinetic Parameters												
C _{max} (ng/mL)	546	1557	627	3050	989	5263	618	1413	666	1923	1847	3970
C _{max} /dose (mg/mL)	18.2	51.9	6.27	30.5	3.30	17.5	20.6	47.1	6.66	19.2	6.16	22.7
T _{max} (h)	0.5	1.0	2.0	1.0	4.0	2.0	0.5	0.5	1.0	1.0	1.0	8.0
AUC (ng•h/mL) ^b	1458	4565	3660	14652	10249	43331	2480	19712	5506	20661	21732	51549
AUC/dose (mg•h/mL) ^c	48.4	147	34.1	146	34.0	144	82.7	657	55.1	207	72.4	295
t _{1/2} (h)	0.93	1.6	2.0	2.9	3.1	2.7	3.0	NR	4.6	2.1	2.8	NC
Additional Information												
10/sex/group												
First day of dosing was designated study Day 0. Duration of dosing – 1 day for study Day 0 and 79 days for study Day 78.												

Pharmacokinetic Parameters: estimated from mean plasma concentration

^a In females, the dose was lowered from 300 to 175 mg/kg/day from Day 8 onwards.^b AUC_{inf} on Day 0 and AUC₀₋₂₄ on Day 78.^c Dose-normalized AUC_{last}AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry;M = male; NC = not calculated; NR = not reportable; t_{1/2} = half-life; T_{max} = time to maximum concentration

(Continued)

2.6.5.4 A 薬物動態試験：反復投与後の吸収（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	4.2.3.2.4											
Study Type / Study No.	13-Week Toxicity / ■-068-R-PO-TX (Continued)											
Species	Rat, Sprague-Dawley											
Feeding Condition	Ad libitum											
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate											
Route	Oral gavage											
Sample	plasma											
Analyte	PCI-45227 (M37)											
Assay	LC-MS/MS											
Gender (M/F)/Number of Animals/timepoint	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Dose (mg/kg)	30	30	100	100	300	300	30	30	100	100	300	175 ^a
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	79	79	79	79	79	79
Pharmacokinetic Parameters												
C _{max} (ng/mL)	499	1006	435	640	1280	1503	283	744	405	736	1322	956
C _{max} /dose (mg/mL)	16.6	33.5	4.35	6.40	4.27	5.01	9.43	24.8	4.05	7.36	4.41	5.46
T _{max} (h)	1.0	1.0	2.0	2.0	4.0	4.0	2.0	24	2.0	1.0	8.0	1.0
AUC (ng•h/mL) ^b	1939	4394	2175	4430	12558	13061	1536	12758	3698	6872	17547	13055
AUC/dose (mg•h/mL) ^c	64.4	146	20.1	44.0	41.5	41.9	51.2	425	37.0	68.7	58.5	74.6
t _{1/2} (h)	3.0	3.0	2.0	3.3	3.3	4.8	3.5	NC	4.0	3.6	NC	4.3
Additional Information												
10/sex/group												
First day of dosing was designated study Day 0. Duration of dosing – 1 day for study Day 0 and 79 days for study Day 78.												

Pharmacokinetic Parameters: estimated from mean plasma concentration

^a In females, the dose was lowered from 300 to 175 mg/kg/day from Day 8 onwards.^b AUC_{inf} on Day 0 and AUC₀₋₂₄ on Day 78.^c Dose-normalized AUC_{last}

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M = male; NC = not calculated; NR = not reportable; t_{1/2} = half-life; T_{max} = time to maximum concentration

2.6.5.4 A 薬物動態試験：反復投与後の吸収（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.3.7.2.1				
Study Type / Study No.		28 and 33 Day Immunotoxicology Study/ -017-R-PO-IMTX (TOX10535)				
Species		Rat, Sprague-Dawley				
Feeding Condition		Ad libitum				
Vehicle/Formulation		0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate				
Route		Oral gavage				
Sample		plasma				
Analyte		Ibrutinib		PCI-45227 (M37)		
Assay		LC-MS/MS		LC-MS/MS		
Gender (M/F)/Number of Animals/timepoint		E:3	E:3	E:3	E:3	E:3
Dose (mg/kg)		10	30	100	10	30
Duration of Dosing (days)		33	33	33	33	33
Pharmacokinetic Parameters						
C _{max} (ng/mL)		908	2473	2673	365	1203
T _{max} (h)		0.5	1	2	0.5	1
AUC _{0-24h} (ng•h/mL)		995	4984	13765	1027	4368

Pharmacokinetic Parameters: estimated from mean plasma concentration
AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry;
T_{max} = time to maximum concentration

2.6.5.4 B 薬物動態試験：反復投与後の吸収（イヌ）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.3.2.6	
Study Type / Study No.		2-Week Tolerability / █-015-D-SC/PO-TXE	
Species		Dog, Beagle	
Feeding Condition		Fasted	
Vehicle/Formulation		28% hydroxypropyl-β-cyclodextrin	
Route		Oral gavage	
Sample		plasma	
Analyte		Ibrutinib	
Assay		LC-MS/MS	
Gender (M/F)/Number of Animals/timepoint		M:2	F:2
Dose (mg/kg)		100/60 ^a	100/60 ^a
Duration of Dosing (days)		14	14
Pharmacokinetic Parameters			
C _{max} (ng/mL)		4020	4230
T _{max} (h)		1.5	2.0
AUC _{0-24h} (ng•h/mL)		17200	19400
t _{1/2} (h)		2.13	2.28

Additional Information

2/sex

PCI-48303, the glutathione metabolite of ibrutinib, was quantified in plasma samples from 2 dogs. The metabolite AUC was less than 5% of the parent.

Pharmacokinetic Parameters: mean

^a Dose lowered from 100 to 60 mg/kg/day due to several clinical signs of toxicity (hypoactivity, reduced food consumption) after 8 days of dosing at 100 mg/kg/day.

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M = male; t_{1/2} = half-life; T_{max} = time to maximum concentration

(Continued)

2.6.5.4 B 薬物動態試験：反復投与後の吸収（イヌ）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	4.2.3 2.8											
Study Type / Study No.	4-Week Toxicity / ■-018-D-PO-TX											
Species	Dog, Beagle											
Feeding Condition	Feed removed 1 hour before dosing											
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.4% Cremophor EL, 0.1% sodium lauryl sulfate											
Route	Oral gavage											
Sample	plasma											
Analyte	Ibrutinib											
Assay	LC-MS/MS											
Gender (M/F)/Number of Animals/timepoint	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Dose (mg/kg)	1.5	1.5	24	24	150	150	1.5	1.5	24	24	150	150
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	25	25	25	25	25	25
Pharmacokinetic Parameters												
C _{max} (ng/mL)	3.5±0.19	5.6±0.78	949±500	856±543	745±706	1710±1010	10±2.2	12±1.4	682±527	911±710	1480±1710	2180±1610
C _{max} /dose (mg/mL)	2.3±0.13	3.7±0.52	39.6±20.8	35.7±22.6	5.0±4.7	11.4±6.74	6.7±1.5	7.7±0.96	28.4±22.0	38.0±29.6	9.9±11.0	14.6±10.7
T _{max} (h)	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.2±0.45	1.6±0.55	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.3±0.58	10±8.2	3.4±2.8
AUC (ng•h/mL) ^a	5.6±0.4	9.9±0.77	1780±810	1990±1220	2060±1830	4800±2500	18.5±5.0	21.4±1.46	1540±860	1850±960	14100 ±17500	15200 ±11400
AUC/dose (mg•h/mL) ^b	3.5±0.27	6.4±0.57	74.3±34.0	83.0±50.9	13.5±12.4	31.5±16.4	11.6±3.30	14.2±1.10	64.0±35.8	77.2±39.8	93.9±117	101±76.1
t _{1/2} (h)	0.82±0.022	1.1±0.30	3.1±1.1	2.4±0.35	4.2±2.8	4.0±2.1	1.0±0.27	2.7±1.5	2.5±0.52	2.5±0.55	2.3	2.4±0.39

Additional Information

3/sex at 1.5 and 24 mg/kg, and 5/sex at 150 mg/kg.

First day of dosing was designated study Day 0. Duration of dosing – 1 day for study Day 0 and 25 days for study Day 24.

Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation or individual value

^a AUC_{inf} on Day 0 and AUC₀₋₂₄ on Day 24.^b Dose-normalized AUC_{last}AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry;M = male; t_{1/2} = half-life; T_{max} = time to maximum concentration

(Continued)

2.6.5.4 B 薬物動態試験：反復投与後の吸収（イヌ）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD									4.2.3.2.9									
Study Type / Study No.									13-Week Toxicity / █-069-D-PO-TX									
Species									Dog, Beagle									
Feeding Condition									Feed removed 1 hour before dosing									
Vehicle/Formulation									0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate									
Route									Oral gavage									
Sample									plasma									
Analyte									Ibrutinib									
Assay									LC-MS/MS									
Gender (M/F)/Number of Animals	M:3	F:3	M:6	F:6	M:6	F:6	M:3	F:3	M:5	F:6	M:4	F:5	M:3	F:3	M:5	F:6	M:5	F:6
Dose (mg/kg)	30	30	80	80	220	220	30	30	80	80	220	220	30	30	60 ^a	60 ^a	120 ^a	120 ^a
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	38	38	38	38	38	38	79	79	79	79	79	79
Pharmacokinetic Parameters																		
C _{max} (ng/mL)	147	136	617	536	536	438	87.2	271	245	1189	2144	998	151	451	1115	842	1859	1044
	±135	±67.3	±689	±626	±250	±142	±26.7	±167	±67.9	±624	±2404	±523	±135	±404	±935	±885	±2176	±718
C _{max} /dose (mg/mL)	4.91	4.53	7.71	6.70	2.44	1.99	2.91	9.04	3.06	14.9	9.75	4.54	5.02	15.0	18.6	14.0	15.5	8.70
	±4.49	±2.24	±8.62	±7.82	±1.14	±0.644	±0.89	±5.55	±0.849	±7.79	±10.9	±2.38	±4.52	±13.5	±15.6	±14.8	±18.1	±5.99
T _{max} (h)	1.0	1.0	1.7	1.3	1.3	1.1	0.8	3.2	1.0	1.3	4.0	2.8	1.0	2.0	2.6	1.2	2.8	2.4
	±0.0	±0.0	±1.2	±0.61	±0.52	±0.49	±0.29	±4.2	±0.0	±0.61	±2.8	±3.0	±0.0	±0.0	±3.1	±0.68	±3.0	±2.8
AUC _{last} (ng•h/mL)	263	261	1585	2111	1295	917	310	524	1056	5797	17647	5036	377	1682	3415	2212	12195	6621
	±244	±173	±1519	±2496	±478	±182	±290	±272	±668	±4706	±20921	±4567	±335	±1786	±3251	±1915	±15165	±7810
AUC/dose (mg•h/mL) ^b	8.76	8.69	19.8	26.4	5.89	4.17	10.3	17.5	13.2	72.5	80.2	22.9	12.6	56.1	56.9	36.9	102	55.2
	±8.15	±5.76	±19.0	±31.2	±2.16	±0.829	±9.69	±9.06	±8.33	±59.0	±95.2	±20.8	±11.2	±59.6	±54.2	±31.9	±126	±65.2
t _{1/2} (h)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC

Additional Information

First day of dosing was designated as study Day 0. Duration of dosing – 1 day for study Day 0, 38 days for study Day 37, and 79 days for study Day 78.

The inter-animal and/or intra-animal variability in plasma concentrations regardless of dose level, gender, or evaluation day made it impractical to calculate or report half-lives or AUC_(0-∞) for any group.

Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation

^a Due to poor clinical condition of one or several dogs, doses were lowered from 80 to 60 mg/kg/day and from 220 to 120 mg/kg/day on Day 42. At the high dose (220/120 mg/kg), dosing holidays occurred for 1 M from Days 32-43, 1 F from Days 35-41, and 1 M from Days 54-58.

^b Dose-normalized AUC_{last}

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M = male; NC = not calculated; t_{1/2} = half-life; T_{max} = time to maximum concentration

(Continued)

2.6.5.4 B 薬物動態試験：反復投与後の吸収（イヌ）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	4.2.3.2.9																	
Study Type / Study No.	13-Week Toxicity / 069-D-PO-TX (Continued)																	
Species	Dog, Beagle																	
Feeding Condition	Feed removed 1 hour before dosing																	
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate																	
Route	Oral gavage																	
Sample	plasma																	
Analyte	PCI-45227 (M37)																	
Assay	LC-MS/MS																	
Gender (M/F)/Number of Animals	M:3	F:3	M:6	F:6	M:6	F:6	M:3	F:3	M:5	F:6	M:4	F:5	M:3	F:3	M:5	F:6	M:5	F:6
Dose (mg/kg)	30	30	80	80	220	220	30	30	80	80	220	220	30	30	60 ^a	60 ^a	120 ^a	120 ^a
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	38	38	38	38	38	38	79	79	79	79	79	79
Pharmacokinetic Parameters																		
C _{max} (ng/mL)	74.7	70.6	165	200	167	140	51.3	92.6	112	374	409	253	33.7	67.9	122	102	164	127
	±42.9	±19.5	±83.2	±242	±56.5	±22.2	±2.93	±47.3	±46.3	±219	±279	±206	±20.8	±54.5	±107	±85.2	±168	±89.2
C _{max} /dose (mg/mL)	2.49	2.35	2.06	2.50	0.760	0.636	1.71	3.09	1.39	4.68	1.86	1.15	1.12	2.26	2.03	1.70	1.37	1.05
	±1.43	±0.651	±1.04	±3.03	±0.257	±0.101	±0.098	±1.58	±0.58	±2.74	±1.27	±0.936	±0.692	±1.82	±1.79	±1.42	±1.40	±0.743
T _{max} (h)	1.3	1.0	2.0	2.7	1.8	1.2	8.7	3.7	1.3	1.7	3.5	3.6	1.3	2.7	3.4	1.5	3.8	3.5
	±0.58	±0.0	±1.1	±2.7	±0.41	±0.41	±13	±3.8	±0.67	±1.2	±3.0	±2.6	±0.58	±1.2	±2.8	±0.55	±2.7	±2.5
AUC _{last} (ng•h/mL)	224	221	1116	1298	781	474	290	294	757	3119	4545	1855	122	347	768	351	1488	1131
	±124	±127	±1098	±1522	±445	±94.6	±227	±172	±616	±2428	±4360	±1630	±86.6	±316	±950	±226	±2151	±992
AUC/dose (mg•h/mL) ^b	7.47	7.37	14.0	16.2	3.55	2.16	9.66	9.80	9.46	39.0	20.7	8.43	4.08	11.6	12.8	5.86	12.4	9.43
	±4.12	±4.23	±13.7	±19.0	±2.02	±0.430	±7.57	±5.75	±7.70	±30.4	±19.8	±7.42	±2.88	±10.5	±15.8	±3.77	±17.9	±8.26
t _{1/2} (h)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC

Additional Information

First day of dosing was designated as study Day 0. Duration of dosing – 1 day for study Day 0, 38 days for study Day 37, and 79 days for study Day 78.

The inter-animal and/or intra-animal variability in plasma concentrations regardless of dose level, gender, or evaluation day made it impractical to calculate or report half-lives or AUC_(0-∞) for any group.

Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation

^a Doses were lowered from 80 to 60 mg/kg/day and from 220 to 120 mg/kg/day on Day 42 due to poor clinical condition of one or several dogs. At the high dose (220/120 mg/kg), dosing holidays occurred for 1 M from Days 32-43, 1 F from Days 35-41, and 1 M from Days 54-58.

^b Dose-normalized AUC_{last}

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; M = male;

LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; NC = not calculated; t_{1/2} = half-life; T_{max} = time to maximum concentration

2.6.5.5 A 薬物動態試験：組織分布

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	4.2.2.3.1					
Study No.	-039-R-PO-ADME					
Species (Strain)	Rat (Long Evans, pigmented)					
Gender (M/F)/Number of Animals	M:1 per time point					
Feeding Condition	Fasted					
Vehicle/Formulation	0.1% Sodium lauryl sulfate, 1% methylcellulose and 0.4% Cremophor EL in water					
Route	Oral gavage					
Dose (mg/kg)	10 mg/kg (single administration)					
Radionuclide	¹⁴ C					
Specific Activity	118.048 µCi/mg					
Method:	Whole-body autoradiography					
Sampling Time (h):	1	4	24	72	168	504
Tissues/Organs	Concentration (µg eq./g)					
Plasma	1.11	0.580	0.263	0.095	0.017	BLQ
Whole Blood	0.660	0.430	0.316	0.185	0.158	0.099
Esophagus	6.97	7.71	0.193	ND	ND	ND
Renal medulla	2.23	0.852	0.258	0.193	0.160	0.144
Liver	7.63	3.75	1.38	0.700	0.200	BLQ
Stomach	1.65	0.359	0.145	0.107	ND	ND
Renal cortex	1.86	0.643	0.285	0.208	0.113	BLQ
Kidney	2.01	0.700	0.273	0.196	0.132	0.117
Small Intestine	29.5	9.05	0.405	ND	ND	ND

Additional information:

Multiple tissues were collected. Only those with the highest initial levels of radioactivity or the greatest retention of radioactivity are summarized in this table.

M = male; ND = not detectable, BLQ = below the limit of quantification (<0.085 µg eq./g of tissue)

2.6.5.5 B 薬物動態試験：組織分布

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD							4.2.2.3.2					
Study No.							■-134-R-PO-WBA (FK10245)					
Species (Strain):							Rat (Lister Hooded, pigmented)					
Gender (M/F)/Number of Animals:							M:1 per time point					
Feeding Condition:							Ad libitum					
Vehicle/Formulation:							10% aqueous hydroxypropyl-β-cyclodextrin					
Route:							Oral gavage					
Dose (mg/kg):							10 mg/kg (single administration)					
Radionuclide:							[~4.4 MBq/kg, pure enantiomer]					
Specific Activity:							¹⁴ C					
Method:							2.24 GBq/mmol					
							Whole-body autoradiography					
							(Radioluminography on tissue samples; liquid scintillation counting for plasma)					
Tissue/Organ	Tissue Concentration (Total Radioactivity, µg eq./g)						Tissue to Plasma Concentration Ratio					
	1 h	4 h	24 h	72 h	168 h	336 h	1 h	4 h	24 h	72 h	168 h	336 h
Blood (cardiac)	1.21	0.465	0.128	0.108	0.064	BLQ	0.86	0.69	0.91	1.1	4.6	BLQ
Plasma	1.40	0.677	0.140	0.096	0.014	BLQ						
<u>Non Pigmented Tissues</u>												
Aorta wall	0.786	0.508	0.086	BLQ	BLQ	BLQ	0.56	0.75	0.61	BLQ	BLQ	BLQ
Adrenal gland	2.89	0.500	0.087	0.051	0.040	BLQ	2.1	0.74	0.62	0.53	2.9	BLQ
Bone marrow	0.619	0.203	0.080	0.040	BLQ	BLQ	0.44	0.30	0.57	0.42	BLQ	BLQ
Bone surface	0.237	0.216	0.073	BLQ	BLQ	BLQ	0.17	0.32	0.52	BLQ	BLQ	BLQ
Brain	0.098	0.041	0.036	0.034	BLQ	BLQ	0.07	0.06	0.26	0.35	BLQ	BLQ
Epididymis	0.365	0.223	0.063	BLQ	BLQ	BLQ	0.26	0.33	0.45	BLQ	BLQ	BLQ
Esophagus wall	2.00	0.666	NS	0.100	BLQ	BLQ	1.4	0.98	NS	1.0	BLQ	BLQ
Fat (abdominal)	0.498	0.171	0.039	0.041	BLQ	BLQ	0.36	0.25	0.28	0.43	BLQ	BLQ
Fat (brown)	0.915	0.249	0.079	0.058	BLQ	BLQ	0.65	0.37	0.56	0.60	BLQ	BLQ
Harderian gland	0.756	0.215	0.081	0.068	BLQ	BLQ	0.54	0.32	0.58	0.71	BLQ	BLQ

(Continued)

2.6.5.5 B 薬物動態試験：組織分布（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.3.2											
Study No.		■-134-R-PO-WBA (FK10245)											
		Tissue Concentration (Total Radioactivity, µg eq./g)					Tissue to Plasma Concentration Ratio						
		1 h	4 h	24 h	72 h	168 h	336 h	1 h	4 h	24 h	72 h	168 h	336 h
Tissue/Organ													
Non Pigmented Tissues (cont'd)													
33	Kidney cortex	2.65	1.01	0.183	0.17	0.086	0.054	1.9	1.5	1.3	1.8	6.1	NC
	Kidney medulla (outer)	2.53	1.17	0.257	0.159	0.085	0.045	1.8	1.7	1.8	1.7	6.1	NC
	Kidney medulla (inner)	1.37	0.544	0.170	0.121	0.054	0.057	0.98	0.80	1.2	1.3	3.9	NC
	Lacrimal gland (exorbital)	0.873	0.307	0.069	0.066	BLQ	BLQ	0.62	0.45	0.49	0.69	BLQ	BLQ
	Lacrimal gland (intraorbital)	0.687	0.292	0.064	0.059	BLQ	BLQ	0.49	0.43	0.46	0.61	BLQ	BLQ
	Lymph node (mandibular)	0.940	0.290	0.078	0.057	BLQ	BLQ	0.67	0.43	0.56	0.59	BLQ	BLQ
	Lymph node (mesenteric)	0.717	0.442	0.045	0.048	BLQ	BLQ	0.51	0.65	0.32	0.50	BLQ	BLQ
	Lymphatic tissue	0.842	0.240	0.066	BLQ	BLQ	BLQ	0.60	0.35	0.47	BLQ	BLQ	BLQ
	Large intestine wall	0.567	0.501	0.336	0.162	0.044	BLQ	0.41	0.74	2.4	1.7	3.1	BLQ
	Liver	5.76	2.51	0.756	0.265	0.100	0.046	4.1	3.7	5.4	2.8	7.1	NC
	Lung	1.18	0.369	0.091	0.089	0.050	BLQ	0.84	0.55	0.65	0.93	3.6	BLQ
	Mammary tissue	0.381	0.099	0.039	BLQ	BLQ	BLQ	0.27	0.15	0.28	BLQ	BLQ	BLQ
	Muscle (skeletal)	0.345	0.107	0.052	0.048	BLQ	BLQ	0.25	0.16	0.37	0.50	BLQ	BLQ
	Myocardium	1.10	0.297	0.096	0.067	0.041	BLQ	0.79	0.44	0.69	0.70	2.9	BLQ
	Pancreas	0.874	0.289	0.070	0.078	0.034	BLQ	0.62	0.43	0.50	0.81	2.4	BLQ
	Pineal gland	0.752	0.330	0.043	0.036	NS	BLQ	0.54	0.49	0.31	0.38	NS	BLQ
	Pituitary gland	0.749	0.210	0.041	BLQ	BLQ	BLQ	0.54	0.31	0.29	BLQ	BLQ	BLQ
	Preputial gland	1.11	0.511	0.106	0.054	BLQ	BLQ	0.79	0.75	0.76	0.56	BLQ	BLQ
	Prostate gland	0.578	0.414	0.049	0.045	BLQ	BLQ	0.41	0.61	0.35	0.47	BLQ	BLQ
	Rectal wall	NS	0.308	0.072	NS	BLQ	BLQ	NS	0.45	0.51	NS	BLQ	BLQ
	Salivary gland	0.829	0.186	0.072	0.067	BLQ	BLQ	0.59	0.27	0.51	0.70	BLQ	BLQ
	Seminal vesicles	0.100	0.226	0.038	0.034	BLQ	BLQ	0.07	0.33	0.27	0.35	BLQ	BLQ

(Continued)

2.6.5.5 B 薬物動態試験：組織分布（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD Study No.	4.2.2.3.2 -134-R-PO-WBA (FK10245)											
	Tissue Concentration (Total Radioactivity, µg eq./g)						Tissue to Plasma Concentration Ratio					
	1 h	4 h	24 h	72 h	168 h	336 h	1 h	4 h	24 h	72 h	168 h	336 h
Tissue/Organ												
<u>Non Pigmented Tissues (cont'd)</u>												
Skin (white)	0.462	0.152	0.033	0.038	0.036	BLQ	0.33	0.22	0.24	0.40	2.6	BLQ
Small intestine wall	45.1	6.47	1.15	0.268	0.043	BLQ	32	9.6	8.2	2.8	3.1	BLQ
Spleen	0.884	0.330	0.100	0.093	0.051	BLQ	0.63	0.49	0.71	0.97	3.6	BLQ
Spinal cord	0.092	0.056	0.044	BLQ	BLQ	BLQ	0.07	0.08	0.31	BLQ	BLQ	BLQ
Stomach wall	1.63	0.823	0.107	0.073	0.042	BLQ	1.2	1.2	0.76	0.76	3.0	BLQ
Testicle	0.216	0.130	0.050	0.042	BLQ	BLQ	0.15	0.19	0.36	0.44	BLQ	BLQ
Thymus	0.485	0.124	0.040	0.037	BLQ	BLQ	0.35	0.18	0.29	0.39	BLQ	BLQ
Thyroid	1.22	0.261	0.139	0.069	BLQ	BLQ	0.87	0.39	0.99	0.72	BLQ	BLQ
Urinary bladder wall	5.22	16.4	0.246	0.158	BLQ	BLQ	3.7	24	1.8	1.6	BLQ	BLQ
Vena cava wall	1.24	0.307	0.060	BLQ	BLQ	BLQ	0.89	0.45	0.43	BLQ	BLQ	BLQ
<u>Pigmented Tissues</u>												
Brain meninges	0.257	0.130	0.080	BLQ	BLQ	BLQ	0.18	0.19	0.57	BLQ	BLQ	BLQ
Eyeball	0.134	0.074	0.053	0.035	BLQ	BLQ	0.10	0.11	0.38	0.36	BLQ	BLQ
Eye (uveal tract)	0.562	0.375	0.103	0.047	BLQ	BLQ	0.40	0.55	0.74	0.49	BLQ	BLQ
Skin (pigmented)	0.635	0.306	0.082	0.089	0.068	0.074	0.45	0.45	0.59	0.93	4.9	NC

Additional information:C_{max} values at 1 h for listed tissues except seminal vesicles and urinary bladder wall (C_{max} at 4 h).

BLQ = tissue radioactivity concentration below the limit of quantification (<0.033 µg eq./g for radioluminography, <0.008 µg eq./g for liquid scintillation counting used for plasma only);

M = male; NC = not calculable; NS = not sectioned

2.6.5.6 A 薬物動態試験：血漿たん白結合

Test Article: Ibrutinib/PCI-45227 (M37)

Study System:		In vitro							
Test System:		Test article (ibrutinib or PCI-45227 (M37)) was added to plasma of various species and incubated in equilibrium dialysis cells for 2 h at 37°C.							
Method of Analysis:		Liquid chromatography-tandem mass spectrometry							
Location in CTD		4.2.2.3.5		4.2.2.3.6		4.2.2.3.8			
Study No.		■-032-V-X-PB		■-088-Hu-X-PB		■-044-Hu-X-PB			
Species		Mouse		Rat		Dog		Human	
Test Article		Ibrutinib		Ibrutinib		Ibrutinib		Ibrutinib	
Concentration (μM)		0.2	2	0.2	2	0.2	2	0.2	2
Concentration (ng/mL)		88.1	881	88.1	881	88.1	881	88.1	881
Percent Unbound		0.8	1.5	0.5	2.7	3.8	2.4	2.5	2.5
Percent Bound ^a		99.2	98.5	99.5	97.3	96.2	97.6	97.5	97.5

^a Calculated by subtracting the corresponding percent free value from 100

(Continued)

2.6.5.6 A 薬物動態試験：血漿たん白結合（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study System:	In vitro					
Test System:	Human plasma was collected from subjects enrolled in clinical trials prior to administration of ibrutinib. Plasma samples were spiked with 100 ng/mL ibrutinib and incubated in equilibrium dialysis cells for 4 h at 37°C.					
Method of Analysis:	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry					
Location in CTD	5.3.2.1.1	5.3.2.1.2	5.3.2.1.3			
Study No.	■-079-Hu-PO-PB (FK10373)	■-190-Hu-PO-PB (FK10430)	■-105-Hu-X-PB (FK10372)			
Species	Human healthy subjects	Human healthy subjects	Human subjects with varying degrees of hepatic impairment			
Hepatic Impairment	Normal	Normal	Normal	Mild	Moderate	Severe
Test Article	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib
Concentration (ng/mL)	100	100	100	100	100	100
Percent Unbound	2.0	2.3	3.3	3.0	3.8	4.8
Percent Bound	98.0	97.7	96.7	97.0	96.2	95.2
No. of Subjects	18	6	6	6	10	8

Additional Information:

■-079-Hu-PO-PB (FK10373): samples were from healthy male subjects participating in an open-label pharmacokinetic study of ibrutinib (clinical trial PCI-32765CLL1002)

■-190-Hu-PO-PB (FK10430): samples were from healthy male subjects participating in an open-label Phase I study to determine the absorption, metabolism, and routes of excretion of ibrutinib (clinical trial PCI-32765CLL1004)

■-105-Hu-X-PB (FK10372): samples were from male and female subjects with varying degrees of hepatic impairment participating in an open-label pharmacokinetic study of ibrutinib (clinical trial PCI-32765CLL1006)

(Continued)

2.6.5.6 A 薬物動態試験：血漿たん白結合（続き）

Test Article: M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Location in CTD		4.2.2.3.9							
Study No.		-184-V-X-PB (FK10606)							
Study System:		In vitro							
Test System:		- Test article (M23, M25, M34 or PCI-45227 (M37)) was added to plasma of various species or to purified human plasma protein solutions of albumin and AGP and incubated in equilibrium dialysis cells for 4 h at 37°C.							
Method of Analysis:		Liquid chromatography-tandem mass spectrometry							
Species		Mouse (nonTg rasH2)		Rat		Dog		Human	
Test Article	Concentration (ng/mL)	100	500	100	500	100	500	100	500
M23	Percent Unbound	2.8	3.3	5.6	7.8	8.0	9.6	6.2	7.7
	Percent Bound ^a	97.2	96.7	94.4	92.2	92.0	90.4	93.8	92.3
M25	Percent Unbound	25.2	24.2	15.9	15.5	28.0	27.6	24.9	25.5
	Percent Bound ^a	74.8	75.8	84.1	84.5	72.0	72.4	75.1	74.5
M34	Percent Unbound	13.4	14.2	18.8	20.4	24.1	25.6	20.3	22.9
	Percent Bound ^a	86.6	85.8	81.2	79.6	75.9	74.4	79.7	77.1
M37	Percent Unbound	2.3	2.5	1.8	2.2	8.0	8.0	8.0	9.0
	Percent Bound ^a	97.7	97.5	98.2	97.8	92.0	92.0	92.0	91.0
Purified human plasma protein solutions (concentration)		AGP (0.05%)	AGP (0.10%)	AGP (0.20%)	HSA (4.30%)	AGP+HSA (0.07+4.30%)			
Test Article	Concentration (ng/mL)	100	100	100	100	100			
M23	Percent Unbound	28.3	20.5	13.8	9.9	8.2			
	Percent Bound ^a	71.7	79.5	86.2	90.1	91.8			
M25	Percent Unbound	80.3	81.1	98.1	12.4	11.4			
	Percent Bound ^a	19.7	18.9	1.9	87.6	88.6			
M34	Percent Unbound	85.1	83.1	83.8	14.4	13.7			
	Percent Bound ^a	14.9	16.9	16.2	85.6	86.3			
M37	Percent Unbound	83.6	61.8	35.7	9.1	8.3			
	Percent Bound ^a	16.4	38.2	64.3	90.9	91.7			

^a Calculated by subtracting the corresponding percent free value from 100

2.6.5.6 B 薬物動態試験：血漿たん白結合及び血球移行

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.3.7									
Study No.		-083-Hu-X-PB (FK10375)									
Study System:		In vitro									
Test System:		- Ibrutinib was added to plasma of various species and incubated in equilibrium dialysis cells for 4 h at 37°C. - [¹⁴ C]-Ibrutinib was added to purified human plasma protein solutions of albumin and AGP and incubated in equilibrium dialysis cells for 4 h at 37°C. - Blood distribution experiment with mouse (Swiss CD1), rat, dog and human blood samples incubated with ibrutinib for 30 min at 37°C.									
Method of Analysis:		Liquid chromatography-tandem mass spectrometry									
Species	Mouse (Swiss CD1/nonTg rasH2)	Rat		Dog				Human			
Test Article	Ibrutinib	Ibrutinib		Ibrutinib				Ibrutinib			
Concentration (ng/mL)	<u>500</u> <u>1500</u>	<u>500</u>	<u>1500</u>	<u>100</u>	<u>500</u>	<u>50</u>	<u>100</u>	<u>150</u>	<u>500</u>	<u>1000</u>	
Percent Unbound	0.6/0.3	0.7	1.2	2.6	2.6	2.6	2.7	2.6	2.7	2.8	
Percent Bound ^a	99.4/99.7	99.3	98.8	97.4	97.4	97.4	97.3	97.4	97.3	97.2	
Purified human plasma protein solutions (concentration)						AGP (0.05%)	AGP (0.10%)	AGP (0.20%)	HSA (4.30%)	AGP + HSA (0.07+4.30%)	
Test Article						Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	Ibrutinib	
Concentration (ng/mL)						<u>150</u>	<u>150</u>	<u>150</u>	<u>150</u>	<u>150</u>	
Percent Unbound ^b						75.7	41.9	24.1	3.6	3.4	
Percent Bound ^a						24.3	58.1	75.9	96.4	96.6	
Blood distribution											
Species	Mouse (Swiss CD1)	Rat		Dog				Human			
Test Article	Ibrutinib	Ibrutinib		Ibrutinib				Ibrutinib			
Concentration (ng/mL)	<u>500</u> <u>1500</u>	<u>500</u>	<u>1500</u>	<u>100</u>	<u>500</u>	<u>100</u>	<u>150</u>	<u>500</u>	<u>1000</u>		
R _{bl/pl}	0.63	0.56	0.60	0.89	0.65	0.54	0.82	0.80	0.75	0.74	
λ _{pw}	0.006	0.008	0.008	0.008	0.019	0.023	0.019	0.018	0.020	0.022	
λ _{pp}	0.916	1.019	1.021	0.683	0.716	0.855	0.669	0.687	0.732	0.740	
λ _{bc}	0.078	-0.026	-0.028	0.309	0.266	0.123	0.313	0.295	0.249	0.239	

^a Calculated by subtracting the corresponding percent free value from 100^b With correction for covalent bindingR_{bl/pl}: blood-to-plasma concentration ratio; λ_{pw}: fraction of ibrutinib in blood present in the plasma water; λ_{pp}: fraction of ibrutinib in blood bound to the plasma proteins;λ_{bc}: fraction of ibrutinib in blood bound to the blood cells

2.6.5.6 C 薬物動態試験：血球移行

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.3.1											
Study No.		-039-R-PO-ADME											
Test System:		Blood-to-plasma partitioning of radioactivity was determined in vivo in blood samples collected from male Sprague-Dawley (nonpigmented) or Long Evans (pigmented) rats at 1, 4, 8, 24, 48, 72, 168, or 504 h after oral dose administration of [¹⁴ C]-ibrutinib at 10 mg/kg as a racemic mixture											
Method of Analysis:		Liquid scintillation counting											
Species		Nonpigmented Rat (M, 1 animal/time point)						Pigmented Rat (M, 1 animal/time point)					
Test Article		[¹⁴ C]-ibrutinib											
Time Point (h)		1	4	8	24	48	72	1	4	24	72	168	504
Concentration of radioactivity (ng eq./g)													
Blood		431	370	436	229	261	158	660	430	316	185	158	98.5
Plasma		621	489	582	276	147	97.2	1110	580	263	95.1	16.8	BLQ
Cellular fraction		310	285	340	188	334	214	416	279	354	273	271	170
Blood:plasma concentration ratios		0.695	0.757	0.749	0.830	1.78	1.63	0.595	0.741	1.20	1.94	9.43	NA

BLQ = below the limit of quantification; M = male; NA = not applicable

(Continued)

2.6.5.6 C 薬物動態試験：血球移行（続き）

イブルチニブ

Test Article: Ibrutinib											
Location in CTD					4.2.2.4.8						
Study No.					■-022-R-PO-AME (FK10242)						
Test System:		Blood-to-plasma partitioning of radioactivity was determined in vivo in blood samples collected from male and female Sprague Dawley rats at 1, 4, 7, 24 and 48 h after a single oral administration of [¹⁴ C]-ibrutinib at 10 mg/kg as a single enantiomer									
Method of Analysis:		Liquid scintillation counting									
Species		Rat (3 animals/time point)									
Test Article		[¹⁴ C]-ibrutinib									
Gender		M				F					
Time Point (h)		<u>1</u>	<u>4</u>	<u>7</u>	<u>24</u>	<u>48</u>	<u>1</u>	<u>4</u>	<u>7</u>	<u>24</u>	<u>48</u>
Concentration of radioactivity (ng eq./mL)											
Blood		694	270	142	113	93	888	357	267	126	125
Plasma		912	374	197	109	65	1194	520	352	135	126
Cellular fraction		451	173	93	117	120	561	303	197	134	118
Blood:plasma concentration ratios		0.758	0.736	0.722	1.06	1.44	0.744	0.711	0.763	0.945	1.00

F = female; M = male

(Continued)

2.6.5.6 C 薬物動態試験：血球移行（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.4.11				
Study No.		█-189-D-PO-AME (FK10389)				
Test System:		Blood-to-plasma partitioning of radioactivity was determined in vivo in blood samples collected from male Beagle dogs at 1, 4, 7, 24 and 48 h after a single oral administration of [¹⁴ C]-ibrutinib at 30 mg/kg as a single enantiomer				
Method of Analysis:		Liquid scintillation counting				
Species		Dog (3 animals/time point)				
Test Article		[¹⁴ C]-ibrutinib				
Gender		M				
Time Point (h)		<u>1</u>	<u>4</u>	<u>7</u>	<u>24</u>	<u>48</u>
Concentration of radioactivity (ng eq./mL)						
Blood		3750	1220	722	553	468
Plasma		5740	1780	1030	795	678
Cellular fraction		2630	890	507	377	312
Blood:plasma concentration ratios		0.655	0.694	0.713	0.705	0.694

M = male

(Continued)

2.6.5.6 C 薬物動態試験：血球移行（続き）

イブールチニブ

Test Article: Ibrutinib														
Location in CTD		4.2.2.4.12												
Study No.		■-188-Hu-PO-MT (FK10267)												
Test System:		Six healthy male subjects were administered a single oral administration of [¹⁴ C]-ibrutinib at 140 mg as a single enantiomer. Blood and plasma samples were collected pre-dose (0 h), 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48 and 72 h post-dose for evaluation of total radioactivity.												
Method of Analysis:		Liquid scintillation counting												
Species		Healthy male subjects (n = 6)												
Test Article		[¹⁴ C]-ibrutinib												
Time Point (h)		<u>0</u>	<u>0.5</u>	<u>1</u>	<u>1.5</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>6</u>	<u>8</u>	<u>12</u>	<u>16</u>	<u>24</u>	<u>48</u> <u>72</u>
Concentration of radioactivity (ng eq./mL)														
Blood		NA	401	401	309	263	187	151	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Plasma		NA	520	549	447	364	259	195	141	135	115	98	94	60
Blood:plasma concentration ratios		NA	0.778	0.728	0.684	0.707	0.716	0.772	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Additional Information:		If values for 1 or more subjects were BLQ, averages could not be calculated and were indicated as NA.												

2.6.5.7 A 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（ラット）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	4.2.3.5.2.1							
Study Type / Study No.	Embryo/fetal development dose range-finding / -063-R-PO-TTE							
Species (Strain)	Rat (Sprague-Dawley)							
Feeding Condition	Ad libitum							
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate							
Route	Oral gavage							
Sample	plasma				plasma			
Analyte	Ibrutinib				PCI-45227 (M37)			
Assay	LC-MS/MS				LC-MS/MS			
Gender (F)/Number of Animals/timepoint	F:3	F:3	F:3	F:2-3	F:3	F:3	F:3	F:2-3
Dose (mg/kg)	20	200	20	200	20	200	20	200
Gestation Day	6	6	17	17	6	6	17	17
Pharmacokinetic Parameters								
C _{max} (ng/mL)	1510	4560	1530	3700	884	1820	879	2460
T _{max} (h)	1.0	4.0	1.0	1.0	1.0	4.0	1.0	4.0
AUC (ng•h/mL)	4210	48200	3980	27700	3900	26800	3450	29200
(Time for calculation –h)	(0-∞)	(0-∞)	(0-24)	(0-24)	(0-∞)	(0-∞)	(0-24)	(0-24)

Additional Information

First day of dosing was gestation day 6. Last day of dosing was gestation day 17.

Pharmacokinetic Parameters: estimated from mean plasma concentration

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; T_{max} = time to maximum concentration

(Continued)

2.6.5.7 A 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	4.2.3.5.2.2											
Study Type / Study No.	Embryo/fetal development / ■-132-R-PO-TT											
Species (Strain)	Rat (Sprague-Dawley)											
Feeding Condition	Ad libitum											
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate											
Route	Oral gavage											
Sample	plasma						plasma					
Analyte	Ibrutinib						PCI-45227 (M37)					
Assay	LC-MS/MS						LC-MS/MS					
Gender (F)/Number of Animals/timepoint	E:3-4	E:4	E:3-4	E:3-4	E:4	E:3-4	E:3-4	E:4	E:3-4	E:3-4	E:4	E:3-4
Dose (mg/kg)	10	40	80	10	40	80	10	40	80	10	40	80
Gestation Day	6	6	6	17	17	17	6	6	6	17	17	17
Pharmacokinetic Parameters												
C _{max} (ng/mL)	462	1590	2290	466	1310	2627	299	1026	1147	261	726	1665
T _{max} (h)	1	2	2	0.51	1	1	1	2	2	2	1	2
AUC (ng•h/mL)	1398	4983	11603	1278	5348	13729	1271	4703	8227	1203	5110	12027
(Time for calculation –h)	(0-∞)	(0-∞)	(0-∞)	(0-24)	(0-24)	(0-24)	(0-∞)	(0-∞)	(0-∞)	(0-24)	(0-24)	(0-24)

Additional Information

First day of dosing was gestation day 6. Last day of dosing was gestation day 17.

Pharmacokinetic Parameters: estimated from mean plasma concentration

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; T_{max} = time to maximum concentration

2.6.5.7 B 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験（ウサギ）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	4.2.3.5.2.3											
Study Type / Study No.	Embryo/fetal development dose range-finding / ■-064-B-PO-TTE											
Species (Strain)	Rabbit (New Zealand White)											
Feeding Condition	Ad libitum											
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate											
Route	Oral gavage											
Sample	plasma						plasma					
Analyte	Ibrutinib						PCI-45227 (M37)					
Assay	LC-MS/MS						LC-MS/MS					
Gender (F)/Number of Animals/timepoint	F:5	F:6	F:6	F:5	F:6	F:6	F:5	F:6	F:6	F:5	F:6	F:6
Dose (mg/kg)	10	30	100	10	30	100	10	30	100	10	30	100
Gestation Day	7	7	7	19	19	19	7	7	7	19	19	19
Pharmacokinetic Parameters												
C _{max} (ng/mL)	71.5	193	911	142	311	1830	155	800	3520	300	1250	3060
	±26.6	±137	±453	±154	±287	±553	±46.7	±236	±700	±75.2	±515	±1540
T _{max} (h)	3.6±0.9	1.8±1.3	2.8±1.5	0.5±0.0	1.0±0.8	2.8±1.5	3.6±0.9	2.2±1.5	3.3±1.0	1.2±1.6	1.6±1.4	4.0±2.2
AUC (ng•h/mL)	448	1050	4970	565	1310	21000	1300	5910	26700	1670	8820	38500
	±155	±635	±1170	±443	±478	±10600	±290	±697	±4770	±200	±2020	±10800
(Time for calculation –h)	(0-∞)	(0-∞)	(0-∞)	(0-24)	(0-24)	(0-24)	(0-∞)	(0-∞)	(0-∞)	(0-24)	(0-24)	(0-24)
Additional Information												
First day of dosing was gestation day 7. Last day of dosing was gestation day 19.												
Pharmacokinetic Parameters: mean±standard deviation												
AUC = area under the plasma concentration-time curve; C _{max} = maximum plasma concentration; F = female; LC-MS/MS = liquid chromatography with tandem mass spectrometry; T _{max} = time to maximum concentration												

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

					Test Article: Ibrutinib	
Study Description	Test System	Ibrutinib Concentration	Significant Findings and Conclusions	Study No.	Location in CTD	
Plasma Stability						
Stability	Rat, dog, human plasma	0.44 µg/mL (1 µM)	When incubated at 37°C for 2 hours, the percentage of ibrutinib remaining was 41%, 50%, and 63% in human, dog, and rat plasma, respectively.	019-V-X-SB	4.2.2.3.3	
Stability	Human plasma	0.44 µg/mL (1 µM)	Ibrutinib was stable in human plasma when incubated at 37°C for 2 hours. At least 93% of the parent was recovered unchanged	028-Hu-X-SB	4.2.2.3.4	
Covalent Binding						
Covalent binding of [¹⁴ C]-ibrutinib ^a	Human albumin, plasma, liver S9 protein and purified BTK	0.44 to 0.88 µg/mL (1 to 2 µM)	[¹⁴ C]-Ibrutinib avidly formed protein adducts with purified Bruton’s tyrosine kinase. The extent of [¹⁴ C]-ibrutinib covalent binding to off-target proteins was appreciably lower. [¹⁴ C]-ibrutinib showed a greater binding affinity to human-liver S9 proteins in comparison to human plasma proteins or purified human albumin. In human liver S9 preparations without NADPH, [¹⁴ C]-ibrutinib appears to selectively bind to CYP proteins.	095-Hu-X-PB	4.2.2.3.10	
Covalent binding of [¹⁴ C]-ibrutinib ^a	Human-liver microsomes and various CYP isoforms	4.4 µg/mL (10 µM)	In electrophoresis gels loaded with CYP isoforms, the highest density of radioactivity was associated with the band for CYP3A4. For liver microsomal proteins, radioactivity bands of similar intensity were observed for incubations with or without NADPH. Radioactivity in gels loaded with liver microsomes was observed predominantly at 50 kDa molecular weight suggesting covalent binding of [¹⁴ C]-ibrutinib to CYP isoenzymes.	153-Hu-X-MTI	4.2.2.3.11	
Covalent binding of [¹⁴ C]-ibrutinib ^a	Human: recombinant CYP3A4 and CYP2D6, liver S9, liver microsomes; Rat: liver microsomes and hemoglobin	4.4 µg/mL (10 µM)	In human and rat liver microsomes, human liver S9, recombinant P450 isoenzymes, and rat hemoglobin, [¹⁴ C]-ibrutinib formed protein adducts directly in the absence of metabolic activation.	157-Hu-X-MTI	4.2.2.3.12	
(Continued)						

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験（続き）

					Test Article: Ibrutinib	
Study Description	Test System	Ibrutinib Concentration	Significant Findings and Conclusions	Study No.	Location in CTD	
Covalent Binding (Continued)						
Covalent binding of [¹⁴ C]-ibrutinib ^a	Human recombinant CYP2E1 and purified rat and human hemoglobin	4.4 µg/mL (10 µM)	Human recombinant CYP2E1 did not metabolize [¹⁴ C]-ibrutinib. However, protein adducts were observed for CYP2E1 and for rat and human hemoglobin. In rats, the hemoglobin protein adducts were 6-fold higher than human hemoglobin.	■-085-Hu-X-MTI	4.2.2.3.13	
Covalent binding of [¹⁴ C]-ibrutinib ^a and [¹⁴ C]-benzylpenicillin	Rat and human plasma	4.4 µg/mL (10 µM)	Both ibrutinib and benzylpenicillin bound to human and rat plasma proteins following 1- and 4-hour incubations at 37°C.	■-090-Hu-X-MTI	4.2.2.3.14	
Covalent binding of [¹⁴ C]-ibrutinib ^a	Rat kidney S9 and human CYP2D6-containing liver microsomes	4.4 µg/mL (10 µM)	Ibrutinib was not metabolized in rat kidney S9.Metabolite conversion for high, medium, and low CYP2D6-containing human liver microsomes was 93%, 84%, and 57%, respectively, in the presence of NADPH. Covalent protein binding was observed in both rat kidney S9 and human liver CYP2D6	■-093-Hu-X-MTI	4.2.2.3.15	
(Continued)						

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験（続き）

					Test Article: Ibrutinib	
Study Description	Test System	Ibrutinib Concentration	Significant Findings and Conclusions	Study No.	Location in CTD	
Covalent Binding (Continued)						
Covalent binding of [¹⁴ C]-ibrutinib ^b	Human: purified BTK, plasma, albumin, hemoglobin; Rat: hemoglobin	0.88 µg/mL (2 µM)	Ibrutinib avidly formed protein adducts with purified Bruton’s tyrosine kinase (Btk). The extent of ibrutinib covalent binding to select off-target proteins was appreciably lower.	■-087-V-X-PA	4.2.2.3.16	
Covalent binding of [¹⁴ C]-ibrutinib ^b	Rat and human liver S9 proteins	0.88 µg/mL (2 µM)	In rat and human-liver S9, [¹⁴ C]-ibrutinib formed protein adducts directly in the absence of metabolic activation. The direct binding of [¹⁴ C]-ibrutinib to 50 kD protein (without metabolic activation) was 45% higher in human (99.8 pmol/mg protein) compared to rat (68.8 pmol/mg protein) liver S9. In the presence of metabolic activation, rat and human liver S9 covalent binding was similar. Whereas in human liver S9 covalent binding was similar with and without metabolic activation, in rat liver S9 metabolic activation resulted in a 55% increase in covalent binding.	■-059-V-X-PA	4.2.2.3.17	
Covalent binding and metabolic turnover of [¹⁴ C]-ibrutinib ^b	Rat and human liver microsomes	0.88 µg/mL (2 µM) and 4.4 µg/mL (10 µM)	In rat and human liver microsomes, [¹⁴ C]-ibrutinib was bound covalently to microsomal proteins in the presence and absence of metabolic activation. At both concentrations tested, 2 and 10 µM, the covalent binding due to metabolic activation was higher than the covalent binding without metabolic activation in both rat and human.	■-086-V-X-PA	4.2.2.3.18	
^a [¹⁴ C]-ibrutinib was tested in a racemic mixture containing [¹⁴ C]-ibrutinib (R-enantiomer) and [¹⁴ C]-PCI-32769 (S-enantiomer).						
^b Single enantiomeric [¹⁴ C]-ibrutinib (R-enantiomer).						

CYP = cytochrome P450; NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

(Continued)

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	-022-R-PO-AME (FK10242)
Location in CTD	4.2.2.4.8
Species (Strain):	Rat (Sprague Dawley)
Feeding Condition:	Ad libitum
Vehicle/Formulation:	10% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin
Route:	Oral gavage
Dose (mg/kg):	10 mg/kg [1480 kBq/kg, as single enantiomeric ibrutinib]
Specific Activity:	2.24 GBq/mmol
Assay:	Liquid scintillation counting
Analyte:	¹⁴ C

Covalent binding in plasma and blood cellular fraction (in vivo samples)												
Time	Plasma						Blood Cellular Fraction					
	TR (ng eq./mL)	M CB (%)	CB (ng eq./mL)	TR (ng eq./mL)	F CB (%)	CB (ng eq./mL)	TR (ng eq./mL)	M CB (%)	CB (ng eq./mL)	TR (ng eq./mL)	F CB (%)	CB (ng eq./mL)
1 h	912	3.5	32	1194	4.4	52.3	451	19	86	561	18	101
4 h	374	14.6	55	520	22.4	117	173	44	76	303	47	142
7 h	197	23.6	47	352	29.5	104	93	59	55	197	56	110
24 h	109	59.3	65	135	78.6	106	117	93	109	134	83	111
48 h	65	81.9	53	126	82.3	104	120	89	107	118	96	113
T _{max} (h)	1		24	1		4	1		24	1		4
C _{max} (ng eq./mL)	912		65	1194		116	451		109	561		142
AUC _{0-48h} (ng eq.h/mL)	7931		2656	11748		4913	6190		4461	8164		5372
CB/TR (%) - C _{max}			7			10			24			25
CB/TR (%) - AUC _{0-48h}			33			42			72			66

TR = total radioactivity; CB = covalently bound radioactivity; M = male; F = female

(Continued)

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	-022-R-PO-AME (FK10242)								
Location in CTD	4.2.2.4.8								
Species (Strain)	Rat (Sprague Dawley)								
Feeding Condition:	Ad libitum								
Vehicle/Formulation:	10% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin								
Route:	Blood and plasma samples spiked ex vivo								
Concentration (µg/mL):	1								
Specific Activity:	2.24 GBq/mmol								
Assay:	Liquid scintillation counting								
Analyte:	¹⁴ C								
Covalent binding in blank plasma and blood samples spiked ex vivo with [¹⁴ C]-ibrutinib at 1 µg/mL									
Time	Spike Plasma			Cellular Fraction of Blood Spike			Plasma of Blood Spike		
	Extraction Recovery (%)			Extraction Recovery (%)			Extraction Recovery (%)		
	Supernatant	Pellet	Total	Supernatant	Pellet	Total	Supernatant	Pellet	Total
	(non-CB)	(CB)		(non-CB)	(CB)		(non-CB)	(CB)	
0 h	110	1.1	111	104	4.0	108	103	0.1	103
1 h	111	0.9	112	n.r.	n.r.	n.r.	104	0.5	105
4 h	102	3.8	106	91	17.0	108	104	2.0	106
7 h	101	4.7	106	77	24.0	101	99	3.4	102
24 h	86	18.3	104	67	33.0	100	96	8.7	105
48 h	78	28.0	106	a	a	a	a	a	a

^a Spiked blood was incubated up to 48 h, but the 48 h sample was not analyzed due to hemolysis
n.r.: The weight of the 1h sample was not recorded
CB = covalently bound radioactivity

(Continued)

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	-189-D-PO-AME (FK10389)					
Location in CTD	4.2.2.4.11					
Species (Strain):	Dog (Beagle)					
Feeding Condition:	Free access					
Vehicle/Formulation:	20% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin					
Route:	Oral gavage					
Dose (mg/kg):	30 mg/kg [0.555 MBq/kg, as single enantiomeric ibrutinib]					
Specific Activity:	2.1 GBq/mmol					
Assay:	Liquid scintillation counting					
Analyte:	¹⁴ C					
Covalent binding in plasma and blood cellular fraction (n = 3)						
		Plasma		Blood Cellular Fraction		
		M		M		
Time	TR	CB	CB	TR	CB	
	(ng eq./mL)	(%)	(ng eq./mL)	(ng eq./mL)	(%)	
					CB	
					(ng eq./mL)	
1 h	5740	5	287	2630	17.6 (n = 3)	463
4 h	1780	17.4	310	890	35.1 (n = 1)	312
7 h	1030	34.1	351	507	57.3 (n = 2)	290
24 h	795	60.2	479	377	85.3 (n = 2)	322
48 h	678	46.2	313	312	89.1 (n = 1)	278
T _{max} (h)	1		24	1		1
C _{max} (ng eq./mL)	5740		479	2630		463
AUC _{0-48h} (ng eq.h/mL)	51554		18585	24473		14694
CB/TR (%) – C _{max}			8			18
CB/TR (%) - AUC _{0-48h}			36			60

AUC = area under the plasma concentration-time curve; CB = covalently bound radioactivity; C_{max} = maximum plasma concentration; M = male;
T_{max} = time to maximum concentration; TR = total radioactivity

(Continued)

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	■-188-Hu-PO-MT (FK10267)		
Location in CTD	4.2.2.4.12		
Species:	Healthy male subjects (n = 6)		
Vehicle/Formulation:	30% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin		
Route:	Oral		
Dose:	140 mg [1480 kBq, as single enantiomeric ibrutinib]		
Specific Activity:	10.6 kBq/mg		
Assay:	Liquid scintillation counting		
Analyte:	¹⁴ C		
Covalent binding in plasma			
Plasma			
Time	TR (ng eq./mL)	CB (ng eq./mL)	
0 h	< 36	-	
0.5 h	520	-	
1 h	549	47	
1.5 h	447	-	
2 h	364	55	
3 h	259	-	
4 h	195	48	
6 h	141	-	
8 h	135	65	
12 h	115	-	
16 h	98	-	
24 h	94	61	
48 h	60	-	
72 h	47	25	
T _{max} (h)	1	8	
C _{max} (ng eq./mL)	549	65	
AUC _{0-72h} (ng eq.h/mL)	6820	3488	
CB/TR (%) – C _{max}		12	
CB/TR (%) - AUC _{0-72h}		51	

AUC = area under the plasma concentration-time curve; CB = covalently bound radioactivity; C_{max} = maximum plasma concentration; T_{max} = time to maximum concentration;

TR = total radioactivity

2.6.5.9 A 薬物動態試験：In vivo における代謝（ラット）

Test Article: Ibrutinib

Study No.		-039-R-PO-ADME				
Location in CTD		4.2.2.3.1				
Species (Strain):		Rat (Sprague Dawley)				
Feeding Condition:		Fasted		Ad libitum		
Vehicle/Formulation:		1% MC, 0.4% CrEL and 0.1% SLS		20% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water		
Route:		Oral gavage		Intravenous		
Dose (mg/kg):		10 mg/kg [110 μCi/kg, as ibrutinib racemate]		2 mg/kg [107 μCi/kg, as ibrutinib racemate]		
Specific Activity:		118.048 μCi/mg				
Assay:		LC/RAD/MS				
Analyte:		[¹⁴ C]-Ibrutinib and metabolites				
		Percent of Sample Radioactivity ^a				
Time or Collection Interval (h):		1	Plasma 4	8	Urine 0-8	Feces 0-24
Gender (M/F)/Number of Animals:		M:1	M:1	M:1	M:5	M:5
Parent	Ibrutinib (UD)	8.90	-	-	22.08	-
M5	Dioxydihydro-ibrutinib	11.08	7.24	-	4.80 (M5/6/9)	15.31 (M4/5)
M9	Trioxydihydro-ibrutinib	10.97	15.69	12.77	-	2.68
M12	Oxy-ibrutinib-sulfate	4.95	-	-	5.59 (M12/13)	-
M15	Ibrutinib-cysteine				3.23	-
M16	Oxydihydro-ibrutinib				3.02	4.18
M17	Oxy-ibrutinib				5.62	-
M18	Oxo-oxydihydro-ibrutinib					
M19	Dihydrodiol-ibrutinib	23.69	24.05	13.80	12.75	3.38 (M18/19)
M20	Oxydihydro-ibrutinib	-	-	-	-	21.26
M21	Ibrutinib-mercapturate	-	-	-	22.53	-
M22	Unidentified	7.82	32.38	26.48	1.99	-
M23	Unidentified	12.28	22.37	13.73	3.47	1.07

^a Findings are based on analyses of both the R- and S-enantiomers

- = not detected; CrEL = Cremophor®EL; LC/RAD/MS = liquid chromatography/radioactivity detection/mass spectrometry; M = male; MC = methylcellulose;
SLS = sodium lauryl sulfate; UD = unchanged drug

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：In vivo における代謝（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.			-022-R-PO-AME (FK10242)			
Location in CTD			4.2.2.4.8			
Species (Strain):			Rat (Sprague Dawley)			
Feeding Condition:			Ad libitum			
Vehicle/Formulation:			10% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin			
Route:			Oral gavage			
Dose (mg/kg):			10 mg/kg [1480 kBq/kg, as single enantiomeric ibrutinib]			
Specific Activity:			2.04 GBq/mmol			
Assay:			UPLC with radio-detection; MS or MS/MS			
Analyte:			[¹⁴ C]-Ibrutinib and metabolites			
Identification of in vivo metabolites of ibrutinib in plasma and feces						
Component	Identity	Retention Time	m/z	m/z ¹⁴ C	Typical MS Fragments	Matrix
M5	+329 (+2O+Gluc+2H+CSC)	13.19	770.2456	772.2488	336-419-473-505-594	P
M11	+48 (RingopenCOOH+O)	15.83	489.1886	491.1918	152-170-320-417-471	F
M15	+208 (2O+Gluc)	17.35	649.2258	651.2290	84-138-336-473	P
M16	+98 (+O+2H+SO ₃)	17.51	539.1712	541.1744	138-320-403-457	F
M17	+34 (NringopenOH+O)	17.64	475.2094	477.2126	138-156-320-404	F
M18	+36 (NringopenOH+O+2H)	17.74	477.2250	479.2282	158-320-404-421-459	F
M19	+50 (dihydrodiol+O)	19.30	491.2043	493.2075	84-142-154-172-320-403-431-461-473	F, P
M21	+96 (+O+SO ₃)	19.57	537.1556	539.1588	84-138-320-403-457	F, P
M22	+98 (+2H+O+SO ₃)	18.90	539.1712	541.1744	140-320-403-459	F
M23	-54 (JNJ-54243696)	20.10	397.1933	-	84-181-209-287-304	P
M24	+52 (NringopenOH+2O+2H)	20.32	493.2199	495.2231	172-190-304-405-475	F
M25	+32 (RingopenCOOH)	20.89	473.1937	475.1969	152-170-304-342-401-455	F
M28	+32 (+2O)	21.62	473.1937	475.1969	84-138-304-320-336	F
M29	+34 (NringopenOH+O)	22.37	475.2094	477.2126	156-304-320-386-404	F
M34	+18 (NringopeningOH)	23.63	459.2145	461.2177	84-102-138-156-304-321-388-441	F, P
M35	+16 (+O)	23.77	457.1988	459.2020	84-138-304-320-374-403	F, P
M36	+18 (+O+2H)	24.59	459.2145	461.2177	84-140+320+403	F
M37	+34 (dihydrodiol)	25.41	475.2094	477.2126	84-154-172-304-387-445-457	F, P
M38	+16 (+O)	26.40	457.1988	459.2020	304-385-439	P
M39	+16 (+O)	28.06	457.1988	459.2020	304-385-439	P
M40	+16 (+O)	28.75	457.1988	459.2020	304-385-439	P
Parent	Ibrutinib (UD)	30.20	441.2039	443.2071	304-385-439	F, P
M41	-2 (-2H)	31.73	439.1882	441.1914	84 - 138 - 304 - 358 - 387	P

P = plasma; F = feces; Gluc = glucuronide; CSC = cysteine conjugate; SO₃ = sulfate conjugate

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：In vivo における代謝（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.		-022-R-PO-AME (FK10242)									
Location in CTD		4.2.2.4.8									
Excretion of [¹⁴ C]-ibrutinib and its metabolites in feces (percentage of the sample radioactivity injected and percentage of dose radioactivity)											
Component	Identity	0-24 h				24-48 h				0-48 h	
		% injected		% dose		% injected		% dose		% dose	
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
M11	+48 (RingopenCOOH+O)	3.3	3.1	2.48	2.42					2.48	2.42
M16+M17+M18*	M16: +98 (+O+2H+SO ₃)										
	M17: +34 (NringopenOH+O)	15.5	10.0	11.54	7.79	15.5		0.74		12.28	7.79
	M18: +36 (NringopenOH+O+2H)										
M19	+50 (dihydrodiol+O)	5.7	8.30	4.24	6.41	10.9	16.0	0.52	0.26	4.76	6.67
M21	+96 (+O+SO ₃)	3.1	3.60	2.23	2.78					2.23	2.78
M22	+98 (+2H+O+SO ₃)	3.6		2.71						2.71	
M24	+52 (NringopenOH+2O+2H)		4.00		3.12						3.12
M25	+32 (RingopenCOOH)	3	3.10	2.21	2.41					2.21	2.41
M28	+32 (+2O)	7.2	5.20	5.34	4.01					5.34	4.01
M29	+34 (NringopenOH+O)	2.2		1.65			15.5		0.26	1.65	0.26
M34+M35**	M34: +18 (NringopeningOH)	18.5	20.1	13.79	15.6	6.8	13.6	0.33	0.22	14.12	15.8
	M35: +16 (+O)										
M36	+18 (+O+2H)	5.4	3.60	4	2.78	15.8	15.5	0.75	0.26	4.75	3.04
M37	+34 (dihydrodiol)	2.7	4.10	2.04	3.19		10.1		0.17	2.04	3.36
Parent	Ibrutinib (UD)	2	2.60	1.53	2.01					1.53	2.01
Sum of reported entities		72.2	67.7	53.8	52.5	49	70.7	2.34	1.17	56.1	53.7
Sum of observed metabolites (% dose)				72.0	71.4			4.37	1.55	76.3	73.0
Column recovery (%)		96.4	92.1			91.8	94.2				
Total radioactivity (LSC, % dose)				74.7	86.9			4.76	2.05	79.4	89.0

* MS peak area M17>M18>M16; 24-48 h: only M17 and M18 in males

** MS peak area M35>M34; 24-48 h: only M35

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：In vivo における代謝（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.		-022-R-PO-AME (FK10242)							
Location in CTD		4.2.2.4.8							
[¹⁴ C]-ibrutinib and its metabolites in plasma (ng eq./mL)									
Component	Identity	1 h		2 h		8 h		24 h	
		M	F	M	F	M	F	M	F
M5	+329 (+2O+Gluc+2H+CSC)	-	31.0	59.7	14.4	48.3	19.5	30.2	-
M15	+208 (2O+Gluc)	166	153	200	39.5	138	84.6	140	-
M19	+50 (dihydrodiol+O)	8.97	7.76	-	3.03	-	2.59	-	-
M21	+96 (+O+SO ₃)	26.7	24.4	10.5	13.2	13.3	4.61	3.32	-
M23	-54 (JNJ-54243696)	0.21	0.55	0.23	0.46	0.23	0.30	-	-
M34+M35	M34: +18 (NringopeningOH)	54.9	78.5	5.72	11.0	2.95	5.25	-	-
	M35: +16 (+O)								
M37	+34 (dihydrodiol)	154	150	19.4	89.0	8.64	19.5	3.23	-
M38	+16 (+O)	-	-	3.93	-	2.83	-	-	-
M39	+16 (+O)	20.7	12.0	3.26	-	-	-	-	-
M40	+16 (+O)	8.42	5.97	-	6.72	-	2.98	-	-
Parent	Ibrutinib (UD)	253	414	18.0	58.9	11.9	25.4	-	-
M41	-2 (-2H)	-	-	-	-	-	9	-	-

CSC = cysteine conjugate; Gluc = glucuronide; Nringopen = opening of the piperidine ring; SO₃ = sulfate conjugate

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：In vivo における代謝（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	-081-R-PO-EXC (FK10301)				
Location in CTD	4.2.2.4.9				
Species (Strain):	Rat (Sprague Dawley)				
Feeding Condition:	Ad libitum				
Vehicle/Formulation:	10% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin				
Route:	Oral gavage				
Dose (mg/kg):	10 mg/kg [1480 kBq/kg, as single enantiomeric ibrutinib]				
Specific Activity:	2.24 GBq/mmol				
Assay:	UPLC with radio-detection; MS or MS/MS				
Analyte:	[¹⁴ C]-Ibrutinib and metabolites				
Identification of in vivo metabolites of ibrutinib in bile, urine and feces					
Component	Identity	Retention Time	m/z	m/z ¹⁴ C	Matrix
M2	+128 (NringopenCOOH+O+SO ₃)	11.34	569.1454	571.1486	B
M3	+128 (NringopenCOOH+O+SO ₃)	12.57	569.1454	571.1486	B
M5	+2O+Gluc+2H+CSC	13.19	770.2456	772.2488	B
M6	+403 (+O+2H+GS+SO ₃)	14.08	844.2394	846.2426	B
M7	+114 (NringopenOH+O+SO ₃)	14.24	555.1662	557.1694	U,B
M9	+274 (+O+2H+CGSC+SO ₃)	15.25	715.1968	717.2000	B
M10	+130 (dihydrodiol+O+SO ₃)	15.75	571.1611	573.1643	U,B
M12	+192 (+O+Gluc)	16.35	633.2309	635.2341	B
M13	+208 (+2O+Gluc)	16.42	649.2258	651.2290	U,B
M14	+112 (+2O+SO ₃)	17.52	553.1505	555.1537	B
M16	+98 (+O+2H+SO ₃)	17.51	539.1712	541.1744	F
M17	+34 (NringopenOH+O)	17.64	475.2094	477.2126	U,F
M18	+36 (NringopenOH+O+2H)	17.74	477.2250	479.2282	F
M19	+50 (dihydrodiol+O)	19.30	491.2043	493.2075	U,F
M21	+96 (+O+SO ₃)	19.57	537.1556	539.1588	U,B
M23	JNJ-54243696	20.10	387.1933	-	F
M25	+32 (RingopenCOOH)	20.89	473.1937	475.1969	U,B
M26	+307 (+2H+Glut)	21.77	748.2877	750.2909	B
M28	+32 (+2O)	21.62	473.1937	475.1969	F
M29	+34 (NringopenOH+O)	22.37	475.2094	477.2126	F

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：In vivo における代謝（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.		-081-R-PO-EXC (FK10301)			
Location in CTD		4.2.2.4.9			
Identification of in vivo metabolites of ibrutinib in bile, urine and feces (Continued)					
Component	Identity	Retention Time	m/z	m/z ¹⁴ C	Matrix
M31	+178 (+2H+CGSC)	23.10	619.2451	621.2549	B
M32	+163 (+2H+MASC)	23.71	604.2342	606.2374	B
M33	+161 (-2H+2H+MASC)	24.11	602.2186	604.2218	B
M34	+18 (NringopenOH)	23.63	459.2145	461.2177	F
M35	+16 (+O)	23.77	457.1988	459.2020	U,F
M36	+18 (+O+2H)	24.59	459.2145	461.2177	F
M37	+34 (dihydrodiol)	25.41	475.2094	477.2126	F
Parent	Ibrutinib (UD)	30.20	441.2039	443.2071	F

CSC = cysteine conjugate; CGSC = cysteine glycine conjugate; Gluc = glucuronide; GS = glutathione conjugate; SO₃ = sulfate conjugate; Nringopen = opening of the piperidine ring; MASC = mercapturic acid conjugate; U = urine; F = feces; B = bile

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：In vivo における代謝（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.		-081-R-PO-EXC (FK10301)									
Location in CTD		4.2.2.4.9									
Excretion of [¹⁴ C]-ibrutinib and its metabolites in bile and feces (percentage of administered dose)											
Component	Identity	Bile (% dose)								Feces (% dose)	
		0-4 h		4-8 h		8-24 h		0-24 h		0-24 h	
		rat A1	rat A3	rat A1	rat A3	rat A1	rat A3	rat A1	rat A3	rat A1	rat A3
M2	+128 (NringopenCOOH+O+SO ₃)	0.79	-	0.8	-	0.17	-	1.76	-	-	-
M3	+128 (NringopenCOOH+O+SO ₃)	0.97	0.82	0.27	0.54	0.04	0.54	1.28	1.9	-	-
M5	+329 (+2O+Gluc+2H+CSC)	-	-	-	0.72	-	0.32	-	1.04	-	-
M6	+403 (+O+2H+GS+SO ₃)	1.34	-	1.96 ^a	-	-	-	4.94 ^a	-	-	-
M7	+114 (NringopenOH+O+SO ₃)	1.36	1.67		0.55	0.28	0.52		2.74	-	-
M9	+274 (+O+2H+CGSC+SO ₃)	1.25	1.54	1.00	1.06	0.26	0.64	2.51	3.24	-	-
M10	+130 (dihydrodiol+O+SO ₃)	0.91	0.72	0.55	0.66	0.47	0.48	1.93	1.86	-	-
M12	+192 (+O+Gluc)	1.79 ^b	2.28 ^b	1.28 ^b	2.34 ^b	0.29	1.56 ^b	3.50 ^b	6.18 ^b	-	-
M13	+208 (+2O+Gluc)					0.14				-	-
M14	+112 (+2O+SO ₃)	1.29	-	0.11	-	-	-	1.40	-	-	-
M16	M16: +98 (+O+2H+SO ₃)	}	-	-	-	-	-	-	-	4.24 ^c	11.48 ^c
M17	M17: +34 (NringopenOH+O)										
M18	M18: +36 (NringopenOH+O+2H)										
M19	+50 (dihydrodiol+O)	-	-	-	-	-	-	-	-	2.02	3.45
M21	+96 (+O+SO ₃)	5.54	2.59	2.71	2.93	0.34	1.58	8.59	7.1	-	-
M25	+32 (RingopenCOOH)	0.67	0.53	0.33	0.22	0.23	0.61	1.23	1.36	-	-
M26	+307 (+2H+Glut)	0.51	-	0.18	-	-	-	0.69	-	-	-
M28	+32 (+2O)	-	-	-	-	-	-	-	-	1.77	3.37
M29	+34 (NringopenOH+O)	-	-	-	-	-	-	-	-	1.37	1.19

(Continued)

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：In vivo における代謝（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.		-081-R-PO-EXC (FK10301)										
Location in CTD		4.2.2.4.9										
Excretion of [¹⁴ C]-ibrutinib and its metabolites in bile and feces (percentage of administered dose) (Continued)												
Component	Identity	Bile (% dose)								Feces (% dose)		
		0-4 h		4-8 h		8-24 h		0-24 h		0-24 h		
		rat A1	rat A3	rat A1	rat A3	rat A1	rat A3	rat A1	rat A3	rat A1	rat A3	
M31	+178 (+2H+CGSC)	0.23	0.2	-	0.11	-	-	0.23	0.31	-	-	
M32	+163 (+2H+MASC)	0.68	0.32	0.19	0.13	-	-	0.87	0.45	-	-	
M33	+161 (-2H+2H+MASC)	0.31	0.21	0.2	0.13	-	0.09	0.51	0.43	-	-	
M34	M34: +18 (NringopenOH)	}	-	-	-	-	-	-	-	10.85 ^d	10.18 ^d	
M35	M35: +16 (+O)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M36	+18 (+O+2H)		-	-	-	-	-	-	-	-	5.00	2.49
M37	+34 (dihydrodiol)		-	-	-	-	-	-	-	-	1.54	0.72
Parent	Ibrutinib (UD)	-	-	-	-	-	-	-	-	0.92	1.28	
Sum of reported entities (% dose)		17.64	10.88	9.58	9.39	2.22	6.34	29.44	26.61	27.71	34.16	
Sum of observed metabolites (% dose)		23.08	17.56	12.77	13.46	4.43	8.82	40.28	39.84	38.33	40.46	
Column recovery (%)		73.3	96.9	81	93.8	94.2	93.3	n.a.	n.a.	94.4	90.1	
Total radioactivity (LSC, % dose)		31.48	18.13	15.76	14.36	4.7	9.46	51.94	41.95	35.8	44.9	

^a Co-elution of metabolites M6 and M7; ^b Co-elution of metabolites M12 and M13; ^c Co-elution of metabolites M16, M17 and M18; ^d Co-elution of metabolites M34 and M35

CSC = cysteine conjugate; CGSC = cysteine glycine conjugate; Gluc= glucuronide; GS = glutathione conjugate; LSC = liquid scintillation counting; n.a. = not applicable;

Nringopen = opening of the piperidine ring; MASC = mercapturic acid conjugate; SO₃ = sulfate conjugate

(Continued)

2.6.5.9 A 薬物動態試験：In vivo における代謝（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	-158-R-IV-PK (FK10394)		
Location in CTD	4.2.2.4.10		
The pharmacokinetics and metabolism of a mixture of [D ₅]-ibrutinib and [D ₀]-ibrutinib after a single intravenous administration of a mixture of [D ₅]-ibrutinib and [D ₀]-ibrutinib at 2.5 mg/kg each to male rats			
	<u>[D₀]-ibrutinib</u>	<u>[D₅]-ibrutinib</u>	<u>[D₅]/[D₀] Ratio</u>
C _{max} (ng/mL)	1770	1760	0.99
AUC _{0-t} (ng·h/mL)	1045	1040	0.99
	<u>[D₀]-M37</u>	<u>[D₅]-M37</u>	<u>[D₅]/[D₀] Ratio</u>
C _{max} (ng/mL)	96.5	89.7	0.93
AUC _{0-t} (ng·h/mL)	277	266	0.96
	<u>[D₀]-M35</u>	<u>[D₄]-M35</u>	<u>[D₄]/[D₀] Ratio</u>
C _{max} (area)	523000	459000	0.88
AUC _{0-t} (area·h)	478000	407000	0.85
	<u>[D₀]-sulfate of M35</u>	<u>[D₄]-sulfate of M35</u>	<u>[D₄]/[D₀] Ratio</u>
C _{max} (area)	52300	44200	0.84
AUC _{0-t} (area·h)	77000	63000	0.82
[D ₀] = unlabeled molecule; [D _x] = deuterated molecule			

[D₀] = unlabeled molecule; [D_x] = deuterated molecule

2.6.5.9 B 薬物動態試験：In vivo における代謝（イヌ）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	■-189-D-PO-AME (FK10389)
Location in CTD	4.2.2.4.11
Species (Strain):	Dog (Beagle)
Feeding Condition:	Free access
Vehicle/Formulation:	20% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin
Route:	Oral gavage
Dose (mg/kg):	30 mg/kg [0.555 MBq/kg, as single enantiomeric ibrutinib]
Specific Activity:	2.1 GBq/mmol
Assay:	UPLC with radio-detection; MS or MS/MS
Analyte:	[¹⁴ C]-Ibrutinib and metabolites

Identification of in vivo metabolites of ibrutinib in plasma, urine and feces					
Component	Identity	Retention Time (min)	m/z (ESI ⁺)	Typical MS Fragments	Matrix
M6	+403 (+O+2H+GSH+SO ₃)	14.08	844.2394	403-457-489-635-764	P
M7	+114 (ring opened alcohol+O+SO ₃)	14.24	555.1662	156-320-404-457-475	F,P,U
M9	+274 (+O+2H+CGSC+SO ₃)	15.25	715.1968	138-170-320-403-457-489-635	P
M10	+130 (M37+O+SO ₃)	15.75	571.1611	154-172-320-403-431-461-473-491	F,P, U
M17	+34 (ring opened alcohol+O)	17.64	475.2094	138-156-320-404	F, P
M45	+137 (+O+2H+CSC)	18.47	578.2186	138-320-403-457-489-532	F
M46	+34 (ring opened alcohol+O)	19.05	475.2094	138-156-320-404	F
M47	+139 (+O+2H+2H+CSC)	19.05	580.2342	136-156-194-304-387-405-457-491-517	F
M19	+50 (M37+O)	19.30	491.2043	84-142-154-172-320-403-431-461-473	F
M21	+96 (M35+SO ₃)	19.57	537.4556	84-138-320-403-457	F,P, U
M24	+52 (ring opened alcohol+2O+2H)	20.32	493.2199	172-190-304-405-475	F
M25	+32 (Piperidine ring opening and acid formation)	20.89	473.1937	152-170-304-342-401-455	F, P, U
M26	+307 (+2H+GSH)	21.77	748.2877	387-443-475-621-675-732	P
M28	+32 (+2O)	21.62	473.1937	84-138-304-320-336	F
M29	+34 (ring opened alcohol+O)	22.37	475.2094	156-304-320-386-404	P
M31	+178 (+2H+CGSC)	23.10	619.2451	304-387-441-473-601	P,U
M32	+163 (+2H+MASC)	23.71	604.2342	304-387-441-473-562	F
M33	+161 (-2H+2H+MASC)	24.11	602.2186	304-385-439-473	F
M34	+18 (Piperidine ring opening and alcohol formation)	23.63	459.2145	84-102-138-156-304-321-388-441	F,P,U
M35	+16 (+O para position)	23.77	457.1988	84-138-304-320-374-403	F,P,U
M36	+18 (+O+2H)	24.59	459.2177	84-140-320-403	F
M49	+16 (+O)	24.78	457.1988	84-138-320-374-403	F
M37	+34 (dihydrodiol)	25.41	475.2094	84-154-172-304-387-445-457	F,P, U

(Continued)

2.6.5.9 B 薬物動態試験：In vivo における代謝（イヌ）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	■-189-D-PO-AME (FK10389)
Location in CTD	4.2.2.4.11
Species (Strain):	Dog (Beagle)
Feeding Condition:	Free access
Vehicle/Formulation:	20% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin
Route:	Oral gavage
Dose (mg/kg):	30 mg/kg [0.555 MBq/kg, as single enantiomeric ibrutinib]
Specific Activity:	2.1 GBq/mmol
Assay:	UPLC with radio-detection; MS or MS/MS
Analyte:	[¹⁴ C]-Ibrutinib and metabolites

Identification of in vivo metabolites of ibrutinib in plasma, urine and feces (Continued)					
Component	Identity	Retention Time (min)	m/z (ESI ⁺)	Typical MS Fragments	Matrix
M38	+16 (+O)	26.40	475.1988	304-385-439	P
M39	+16 (+O)	28.06	475.1988	304-385-439	P
M40	+16 (+O)	28.75	475.1988	304-385-439	P
UD	Ibrutinib (UD)	30.20	441.2039	84-138-304-358-387	F,P

CSC = cysteine conjugate; CGSC = cysteine-glycine conjugate; F = feces; GSH = glutathione; MASC = mercapturic acid conjugate; P = plasma; SO₃ = sulfate conjugate; U = urine; UD = unchanged drug

(Continued)

2.6.5.9 B 薬物動態試験：In vivo における代謝（イヌ）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	-189-D-PO-AME (FK10389)															
Location in CTD	4.2.2.4.11															
Excretion of [¹⁴ C]-ibrutinib and its metabolites in feces (percentage of the sample radioactivity injected and percentage of dose radioactivity)																
Component	0-24 h		Dog 1			Dog 2					Dog 3					mean
	%inj	%dose	24-48 h	0-48 h	%dose	0-48 h	48-72 h	0-72 h	%dose	0-24 h	24-72 h	0-72 h	%dose			
M7	4.0	1.07	-	-	1.07	3.5	1.79	-	-	1.79	-	-	5.4	0.50	0.50	1.12
M10	4.8	1.30	0.6	0.24	1.54	4.6	2.34	2.6	0.61	2.95	5.0	3.40	12.2	1.12	4.52	3.00
M17	7.3	1.97	11.4	4.40	6.37	10.5	5.39	16.6	3.83	9.22	11.5	7.90	10.7	0.98	8.88	8.16
M45	3.3	0.88	2.7	1.04	1.92	2.6	1.31	5.0	1.17	2.48	5.6	3.84	6.4	0.59	4.43	2.94
M46+M47*	6.7	1.80	3.8	1.47	3.27	3.4	1.72	2.6	0.59	2.31	2.5	1.70	9.9	0.91	2.61	2.73
M19+M21**	15.8	4.25	4.6	1.79	6.04	13.9	7.12	5.5	1.26	8.38	4.8	3.26	19.3	1.78	5.04	6.49
M24	1.8	0.49	2.8	1.08	1.57	2.0	1.02	2.6	0.61	1.63	2.2	1.53	-	-	1.53	1.58
M25	1.4	0.38	2.1	0.82	1.20	2.4	1.25	2.4	0.56	1.81	2.7	1.86	-	-	1.86	1.62
M28	3.5	0.93	-	-	0.93	-	-	2.4	0.55	0.55	2.6	1.77	4.1	0.38	2.15	1.21
M32+M33+M34+M35***	21.6	5.83	25.8	9.93	15.76	17.5	8.95	22.9	5.29	14.24	26.0	17.83	23.3	2.14	19.97	16.7
M36	2.4	0.65	2.7	1.04	1.69	2.5	1.29	3.9	0.90	2.19	-	-	4.2	0.39	0.39	1.42
M49	1.8	0.49	2.7	1.03	1.52	-	-	0.9	0.22	0.22	3.3	2.23	-	-	2.23	1.32
M37	1.2	0.32	1.8	0.68	1.00	-	-	1.0	0.24	0.24	1.3	0.87	4.1	0.38	1.25	0.83
Parent (UD)	0.9	0.25	7.3	2.80	3.05	5.5	2.82	2.9	0.67	3.49	1.8	1.27	1.8	0.16	1.43	2.66
Sum reported entities	76.5	20.6	68.3	26.3	46.9	68.4	35.0	71.3	16.5	51.5	69.3	47.5	101.4	9.3	56.8	51.7
Sum observed metabolites (% dose)	-	28.0	-	38.8	-	-	50.6	-	23.9	-	-	70.0	-	10.0	-	-
Column recovery (%)	103.7	-	100.8	-	-	98.8	-	103.5	-	-	102.0	-	108.7	-	-	-
LSC (% dose)	-	27.0	-	38.5	-	-	51.2	-	23.1	-	-	68.6	-	9.2	-	-

LSC = liquid scintillation counting; UD = unchanged drug; % inj = % injection

*based on the MS peak area an estimation was made for the abundance of M46 and M47 under the radioactive peak. M46 and M47 contribute approximately 60 and 40% to the radioactive peak, respectively.

** based on the MS peak areas and taking into account that in general phase II metabolites ionize poorly, an estimation was made for the abundance of M19 and M21 under the radioactive peak. M19 and M21 contribute approximately 25 and 75% to the radioactive peak, respectively.

*** based on the MS peak area, an estimation was made for the abundance of M35, M34, M33 and M32 under the corresponding radioactive peak. M35, M34, M33 and M32 contribute approximately 61, 32, 3 and 5% to the radioactive peak, respectively.

(Continued)

2.6.5.9 B 薬物動態試験：In vivo における代謝（イヌ）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	■-189-D-PO-AME (FK10389)														
Location in CTD	4.2.2.4.11														
[¹⁴ C]-ibrutinib and its metabolites in plasma															
(ng eq./mL)															
Component	Dog 1					Dog 2					Dog 3				
	1 h	4 h	7 h	24 h	48h	1 h	4 h	7 h	24 h	48h	1 h	4 h	7 h	24 h	48h
M7	186	40	<17	<7	ND	103	44	<17	<7	ND	296	94	30	<7	ND
M9	82	17	<17	ND	ND	35	<17	<17	ND	ND	75	26	<17	ND	ND
M10	ND	32	17	<7	ND	31	29	<17	ND	ND	78	58	38	<7	ND
M17	ND	<17	<7	ND	ND	35	<17	<7	ND	ND	77	24	<17	ND	ND
M21	454	113	43	<7	ND	315	97	32	<17	<7	468	130	56	<7	ND
M25	88	ND	ND	ND	ND	45	<17	ND	ND	ND	118	<17	<17	ND	ND
M26+M29	274	20	<7	ND	ND	102	19	<7	ND	ND	254	38	<17	ND	ND
M31+M34+M35	1604	184	44	<7	ND	757	145	31	<7	ND	1281	337	66	<7	ND
M37	440	168	49	<7	ND	293	140	37	<7	ND	553	362	113	<7	ND
M38	55	ND	<7	ND	ND	31	ND	ND	ND	ND	59	ND	ND	ND	ND
M39	61	<17	<7	ND	ND	22	<17	<7	ND	ND	45	<17	<7	ND	ND
M40	33	<17	<7	ND	ND	24	<17	<7	<7	ND	39	<17	<7	ND	ND
Parent (UD)	2537	221	51	ND	ND	1238	163	32	<7	ND	1399	308	47	<7	ND
Total Radioactivity	7350	1550	886	704	584	3630	1340	780	633	639	6240	2440	1420	1050	812

ND = not detected; UD = unchanged drug

2.6.5.9 C 薬物動態試験：In vivo における代謝（ヒト）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	-188-Hu-PO-MT (FK10267)					
Location in CTD	4.2.2.4.12					
Species:	Healthy male subjects (n = 6) (Clinical trial PCI-32765CLL1004)					
Vehicle/Formulation:	30% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin					
Route:	Oral					
Dose:	140 mg [1480 kBq, as single enantiomeric ibrutinib]					
Specific Activity:	10.6 kBq/mg					
Assay:	UPLC with radio-detection; MS or MS/MS					
Analyte:	[¹⁴ C]-Ibrutinib and metabolites					
Identification of in vivo metabolites of ibrutinib in blood, plasma, urine and feces						
Component	Identity	Retention Time	m/z	m/z ¹⁴ C	Typical MS Fragments	Matrix
M1	+138 (JNJ-54243696+O+Gluc)	10.21	579.2203	-	202-320-403-496	P
M4	+42 (JNJ-54243696+O+SO ₃)	12.81	483.1451	-	308-320-400-403-404	B,P
M7	+114 (NringopenOH+O+SO ₃)	14.24	555.1662	557.1694	156-320-404-457-475	U
M10	+130 (dihydrodiol+O+SO ₃)	15.75	571.1611	573.1643	154-172-320-403-431-461-473-491	U
M11	+48 (NringopenCOOH+O)	15.83	489.1886	491.1918	152-170-320-417-471	F,B,P
M17	+34 (NringopenOH+O)	17.64	475.2094	477.2126	138-156-320-404	F,U
M20	+48 (NringopenCOOH+O)	19.39	489.1886	491.1918	400-418	F,U,B,P
M21	+96 (+O+SO ₃)	19.57	537.1556	539.1588	84-138-320-403-457	U,B,P
M23	-54 (JNJ-54243696)	20.10	387.1933	-	84-181-209-287-304	F, B, P
M24	+52 (NringopenOH+2O+2H)	20.32	493.2199	495.2231	172-190-304-405-475	F,U,B,P
M25	+32 (RingopenCOOH)	20.89	473.1937	475.1969	152-170-304-342-401-455	F,U,B,P
M29	+34 (NringopenOH+O)	22.37	475.2094	477.2126	156-304-320-386-404	F,U,B,P
M30	(JNJ-54243696+O-2H)	22.79	401.1726	-	181-210-287-304	F, B, P
M31	+178 (+2H+CGSC)	23.10	619.2451	621.2549	304-387-441-473-601	B,P
M32	+163 (+2H+MASC)	23.71	604.2342	606.2374	304-387-441-473-562	F,U
M33	+161 (-2H+2H+MASC)	24.11	602.2186	604.2218	304-385-439-473	F
M34	+18, NringopeningOH	23.63	459.2145	461.2177	84-102-138-156-304-321-388-441	F,U,B,P
M35	+16 (+O)	23.77	457.1988	459.2020	84-138-304-320-374-403	F,B
M36	+18 (+O+2H)	24.59	459.2145	461.2177	84-140-320-403	F
M37	+34 (dihydrodiol)	25.41	475.2094	477.2126	84-154-172-304-387-445-457	F,U,B,P
M39	+16 (+O)	28.06	457.1988	459.2020	304-385-439	B,P
M40	+16 (+O)	28.75	457.1988	459.2020	304-385-439	B,P
Parent	Ibrutinib (UD)	30.20	441.2039	443.2071	304-385-439	F,B,P

SO₃ = sulfate conjugate; CGSC = cysteine glycine conjugate; MASC = mercapturic acid conjugate; Nringopen = opening of the piperidine ring; U = urine; F = feces; B = blood; P = plasma

(Continued)

2.6.5.9 C 薬物動態試験：In vivo における代謝（ヒト）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	■-188-Hu-PO-MT (FK10267)		
Location in CTD	4.2.2.4.12		
Excretion of [¹⁴ C]-ibrutinib and its metabolites in urine and feces (percentage of the administered dose)			
Component	Identity	Feces % dose	Urine (0-24 h) % dose
M7	+114 (NringopenOH+O+SO ₃)		0.18
M10	+130 (dihydrodiol+O+SO ₃)		0.19
M11	+48 (NringopenCOOH+O)	2.64	
M17	+34 (NringopenOH+O)	3.77	0.29
M20	+48 (NringopenCOOH+O)	7.11	0.68
M21	+96 (+O+SO ₃)		0.65
M24	+52 (NringopenOH+2O+2H)	2.00	0.27
M25	+32 (RingopenCOOH)	6.14	1.67
M29	+34 (NringopenOH+O)	2.85	0.45
	M32: +163 (+2H+MASC)		
M32 + M33 +	M33: +161 (-2H+2H+MASC)		
M34 + M35 (feces)	M34: +18, NringopeningOH M35: +16 (+O)	9.08	NA
	M34: +18, NringopeningOH		
M34 + M32 (urine)	M32: +163 (+2H+MASC)	NA	0.31
M33 (urine)	+161 (-2H+2H+MASC)	NA	0.04
M36	+18 (+O+2H)	2.85	
M37	+34 (dihydrodiol)	2.93	0.12
Parent	Ibrutinib (UD)	0.77	
Sum of reported entities		40.1	4.69
Sum of observed metabolites (% dose)		54.8	5.74
Column recovery (%)		-	90.3
Total radioactivity (LSC, % dose)		57.8	6.34

MASC = mercapturic acid conjugate; Nringopen = opening of the piperidine ring; SO₃ = sulfate conjugate

(Continued)

2.6.5.9 C 薬物動態試験：In vivo における代謝（ヒト）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	■-188-Hu-PO-MT (FK10267)						
Location in CTD	4.2.2.4.12						
[¹⁴ C]-ibrutinib and its metabolites in blood							
(ng/mL)							
Component	Identity	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	72 h
M11	+48 (NringopenCOOH+O)	LOQ	LOQ	LOD	LOD	LOD	LOD
M21 (+M20 + M24)	M21: +96 (+O+SO ₃)						
	M20: +48 (NringopenCOOH+O)	87.0	41.9	LOQ	LOD	LOD	LOD
	M24: +52 (NringopenOH+2O+2H)						
M25	+32 (RingopenCOOH)	48.9	LOQ	LOD	LOD	LOD	LOD
M29	+34 (NringopenOH+O)	LOQ	LOQ	LOD	LOD	LOD	LOD
M34 (+ M31 + M35)	M34: +18, NringopeningOH						
	M31: +178 (+2H+CGSC)	37.0	19.5	LOQ	LOD	LOD	LOD
	M35: +16 (+O)						
M37	+34 (dihydrodiol)	38.7	29.9	LOQ	LOD	LOD	LOD
M39	+16 (+O)	LOQ	LOQ	LOD	LOD	LOD	LOD
M40	+16 (+O)	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD
Parent	Ibrutinib (UD)	20.4	8.9	19.5	LOD	LOD	LOD
[¹⁴ C]-ibrutinib and its metabolites in plasma							
(ng/mL)							
Component	Identity	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	72 h
M11	+48 (NringopenCOOH+O)						
M21 (+M20 + M24)	M21: +96 (+O+SO ₃)						
	M20: +48 (NringopenCOOH+O)	102.3	78.4		LOD	LOD	
	M24: +52 (NringopenOH+2O+2H)						
M25	+32 (RingopenCOOH)	68.1	36.9		LOQ	LOD	
M29	+34 (NringopenOH+O)						
M34 (+ M31 + M35)	M34: +18, NringopeningOH						
	M31: +178 (+2H+CGSC)	47.7	33.3		LOD	LOD	
	M35: +16 (+O)						
M37	+34 (dihydrodiol)	41.9	32.0	28.2	LOQ	LOD	
M39	+16 (+O)				LOD	LOD	
M40	+16 (+O)				LOD	LOD	
Parent	Ibrutinib (UD)	33.5	26.9		LOQ	LOD	LOD

CGSC = cysteine glycine conjugate; LOQ = limit of quantification; LOD = limit of detection; Nringopen = opening of the piperidine ring; SO₃ = sulfate conjugate

2.6.5.9 C 薬物動態試験：In vivo における代謝（ヒト）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	■-129-Hu-PO-MT (FK10347)
Location in CTD	4.2.2.4.13
Study System:	Identification and estimation of the abundance of the metabolites in human plasma after single and multiple oral administration of ibrutinib. Plasma samples were collected from healthy volunteers after a single 70 mg oral dose of ibrutinib (Clinical trial PCI-32765CLL1002), as well as from 10 patients after single and 8-day multiple dosing of ibrutinib at 420 mg/day (Clinical trial PCYC-1111-CA)
Method:	In the absence of authentic standards, an estimation of the metabolite abundance was obtained by mixing the plasma samples with human hepatocyte incubations containing ^{14}C -ibrutinib and quantitating the cold metabolites in the plasma samples using the relative $^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$ isotope ratios. The $^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$ isotope ratios were measured using high resolution MS for each metabolite. The ratios were based on the concentration of radioactive metabolite determined from independent analysis of the radioactive sample with radio UPLC-detection. Estimated abundances in plasma for M37 and unchanged drug, using the relative $^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$ isotope ratios were in line with the average concentration in the neat plasma samples determined using a validated bioanalytical method. For metabolite M23, which no longer carries the ^{14}C label, an authentic standard was available for quantification of samples from Clinical trial PCYC-1111-CA.

Estimation of the abundance of the circulating entities in plasma from PCI-32765CLL1002 (single 70 mg dose):

Plasma pool per time point for subject 102002 and 102003, Clinical trial PCI-32765CLL1002, single dose, 70 mg

Metabolite	Metabolite Concentration (ng/mL)			
	1 hour	2 hours	4 hours	
M21	14.8	8.80	3.06	
M25	38.4	9.04	2.39	
M34 (\$)	26.7	7.51	3.29	
M35 (\$)	1.34	-	-	
M37 (#)	22.5 (19.7)	21.1 (18.2)	14.1 (11.2)	
UD (#) (\$\$)	10.6 (10.4)	3.90 (4.05)	0.86 (1.11)	
M41	3.84	0.88	0.81	

Additional Information:

(#) The concentration for ibrutinib (UD) and M37 determined using a validated bioanalytical method are mentioned between brackets.

(\$) $^{14}\text{C}_{\text{MIX}}$ value derived from the sum of the M34 and M35 area intensities from the hepatocyte sample $^{12}\text{C}_{\text{MIX}}$ derived from 50% of the area intensity from the human plasma.

(\$\$) M+1 signal intensity used for calculation

MS = mass spectrometry; UD = unchanged drug; UPLC = ultra performance liquid chromatography

(Continued)

2.6.5.9 C 薬物動態試験：In vivo における代謝（ヒト）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.

-129-Hu-PO-MT (FK10347)

Location in CTD

4.2.2.4.13

Estimation of the abundance of the circulating entities in plasma AUC_{0-24h} Hamilton pools at Day 1 and Day 8 from PCYC-1111-CA (420 mg/day):

Metabolite	Day 1			Day 8			Accumulation Factor
	Conc. (ng/mL)	AUC (ng·h/mL)	%TDRM	Conc. (ng/mL)	AUC (ng·h/mL)	%TDRM	
M1 (\$)	0.89	21.4	0.54	8.08	194	2.64	9.1
M4 (\$)	1.53	36.7	0.93	3.43	82.3	1.12	2.2
M7 (\$\$)	1.40	33.6	0.85	2.43	58.3	0.79	1.7
M10 (\$\$)	0.93	22.3	0.56	1.19	28.6	0.39	1.3
M12 (\$\$)	0.34	8.16	0.21	0.53	12.7	0.17	1.6
M17	3.20	76.8	1.94	6.60	158	2.16	2.1
M21	32.6	782	19.8	73.6	1766	24.0	2.3
M23 (**)	1.46	35.0	0.89	9.28	223	3.03	6.4
M25	33.7	809	20.4	34.5	828	11.3	1.0
M30 (\$)	4.24	102	2.57	11.7	281	3.82	2.8
M31 (\$\$)	0.41	9.84	0.25	0.53	12.7	0.17	1.3
M34	33.8	811	20.5	71.3	1711	23.3	2.1
M35	3.40	81.6	2.06	4.40	106	1.44	1.3
M37 (#)	19.0	456 (629)	15.9	29.3 (1034)	703	14.1	1.6
M39	-	-	-	1.80	43.2	0.59	-
M40	-	-	-	0.60	14.4	0.20	-
UD (#)	14.6	350 (485)	12.2	25.1 (780)	602	10.6	1.6
M41	0.60	14.4	0.36	0.60	14.4	0.20	1.0
TDRM		3958	100		7348	100	

(Continued)

2.6.5.9 C 薬物動態試験：In vivo における代謝（ヒト）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.		-129-Hu-PO-MT (FK10347)		
Location in CTD		4.2.2.4.13		
Concentration of M23 in plasma from 2 subjects (221-002 and 221-005) on Day1, Day 8, Day 15 and Day 22 from PCYC-1111-CA (420 mg/day):				
M23 Concentration (ng/mL)				
Subject 221-002		Subject 221-005		
Day 1				
0 hour	NF	} Day 1 AUC _{0-24h} : 45.0 ng·h/mL	NF (*)	} Day 1 AUC _{0-24h} : 88.8 ng·h/mL
1 hour	0.15		0.10	
2 hours	0.28		0.40	
4 hours	1.83		2.19	
7 hours	1.37		3.59	
24 hours	3.07		5.50	
Day 8				
0 hour	12.5	} Day 8 AUC _{0-24h} : 356 ng·h/mL	24.0	} Day 8 AUC _{0-24h} : 584 ng·h/mL
1 hour	13.6		21.9	
2 hours	17.3		19.0	
4 hours	18.5		23.8	
7 hours	16.4		27.0	
Day 15				
0 hour	22.0	} Average concentration Day 15 and Day 22: 22.6 ng/mL	33.0	} Average concentration Day 15 and Day 22: 31.1 ng/mL
2 hours	22.0		28.4	
Day 22				
0 hour	22.4	} Day 15 and Day 22: 22.6 ng/mL	33.7	} Day 15 and Day 22: 31.1 ng/mL
2 hours	24.1		29.4	
Additional Information:				
(#) The concentration for ibrutinib (UD) and M37 determined using a validated bioanalytical method are between brackets and used in the calculation of TDRM and % TDRM.				
(\$) Determination of abundance of metabolites using relative UV/MS response factor versus M23 coupled to estimated abundance of M23 obtained with a calibration curve				
(*) Carry-over between injections was observed				
(**) Estimated abundance obtained using a calibration curve (authentic standard of M23)				
(\$\$) Conjugated metabolites – no MS response factor could be calculated, assumption was made that phase II metabolites have similar response as their respective phase I metabolites				
[AUC _{0-24h} > 10 % total drug related material]				

NF = not found; TDRM = total drug related material; UD = unchanged drug

2.6.5.9 D 薬物動態試験：In vivo における代謝（キラル変換）

Test Article: Ibrutinib														
Type of Study: Assessment of S-enantiomer exposure after oral dosing of the R-enantiomer ibrutinib in plasma study samples from rat (Study █-068-R-PO-TX), dog (Study █-069-D-PO-TX) and human subjects (Study PCYC-1111), both after single and repeated oral dosing.									Study No.: █-159-V-PO-MT (FK10390)			Location in CTD: 4.2.2.4.20		
Method: The study samples were analyzed using a qualified chiral LC-MS/MS method.														
Tabulated Results														
		C_{max} and AUC ratios of S- and R-enantiomers in plasma after single and repeated dosing (S/R*100%)												
Species:		Rat				Dog				Human				
Dose (mg/kg):		30		100		300/175 ^a		30		80		220		420 mg/day
Gender:		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M or F
Day 0	C _{max} S/R	1.364	2.110	0.869	2.531	1.937	3.145	0.762	0.550	1.287	0.711	0.235	0.232	1.36
	AUC _{inf} S/R	1.202	1.738	0.777	1.264	1.180	2.039	0.862	0.553	1.656 ^b	0.047 ^c	0.292	0.250	0.80 ^d
Day7	C _{max} S/R													1.26
	AUC _{last} S/R													1.37
Day 37	C _{max} S/R							0.905	0.312	1.066	0.419	0.219	0.192	
	AUC _{24h} S/R							0.886	0.273	0.883	0.550	0.219	0.194	
Day 78	C _{max} S/R	1.374	2.116	1.267	2.715	2.653	1.559							
	AUC _{24h} S/R ^e	0.881	1.653	0.994	2.237	1.897	2.400							

^a 300mg/kg ibrutinib on Day 0 and 175 mg/kg on day 78 in female animals

^b AUC_{0-24h} S/R

^c AUC_{0-8h} S/R

^d AUC_{last} S/R

^e AUC_{0-8h} S/R in male rats

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝

Test Article: Ibrutinib

Type of Study	Test System	Ibrutinib Concentration		Significant Findings and Conclusions	Study No.	Location in CTD
		µg/mL	µM			
Stability	Rat, dog, monkey, human liver microsomes	1.32	3	Ibrutinib in the presence of NADPH was highly cleared in microsomes from all species. The rate of intrinsic clearance ± SE measured as µL/min/mg protein was: cynomolgus monkey = 629 ± 80.2; rat = 596 ± 60.9; human = 549 ± 68.8; dog 107 ± 5.47. The half-lives in minutes were: monkey = 2.20; rat = 2.33; human = 2.52; dog = 13.0.	■-123-V-X-MT	4.2.2.4.1
Covalent binding and metabolism	Human liver microsomes and various recombinant CYP450s	4.4	10	Human liver microsomes, CYP2D6 and CYP3A4 in the presence of NADPH readily metabolized [¹⁴ C]-ibrutinib to several hydroxylated Phase I metabolites. No metabolism was observed in the microsomal preparations in the absence of NADPH or in CYP1A2, CYP2C19, or CYP2C9 in the presence of NADPH.	■-153-Hu-X-MTI	4.2.2.3.11
CYP identification	Human recombinant CYPs	2.20	5	CYP3A4 and CYP3A5 were involved in the metabolism of ibrutinib with potential minor involvement of CYP2D6 (3%, 6%, and 12% ibrutinib remaining after 15 minutes, respectively). Ibrutinib was not metabolized by CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19.	■-013-Hu-X-MT	4.2.2.4.4
Microsomal metabolic stability in the presence of CYP specific inhibitors	Human liver microsomes	1.32	3	CYP3A4 was involved in the metabolism of ibrutinib with no apparent involvement of CYP1A, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 or CYP2D6. Ibrutinib human liver microsomal clearance was almost completely inhibited by the specific CYP3A4 inhibitor ketoconazole, with only 4.2% of metabolism and 96% inhibition observed.	■-014-Hu-X-MT	4.2.2.4.5
CYP enzyme kinetics	Human recombinant supersomes expressing CYP2D6 and CYP3A4/5	0.044 - 44	0.1 - 100	Both CYP3A4 and CYP3A5 had a higher intrinsic clearance than CYP2D6 for the conversion of ibrutinib to PCI-45227 (M37, dihydrodiol metabolite) in recombinants expressing the CYP in the presence of epoxide hydrolase.	■-041-Hu-X-MTI	4.2.2.4.7

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.4.6		
Study No.		■-168-Hu-X-CYP (FK10615)		
Study System:		Inhibition of ibrutinib metabolism by fluoxetine, norfluoxetine and fluvoxamine in human liver microsomes; Determination of relative contribution of CYP3A5 to overall ibrutinib metabolism in selected lots of human liver microsomes genotyped for the status of CYP3A5		
Overview of inhibition characteristics of diagnostic inhibitors on the metabolism of ibrutinib and selected probe substrates				
Substrate		Fluoxetine	Norfluoxetine	Fluvoxamine
Ibrutinib	IC ₂₅ (μM)	42	11	24
	IC ₅₀ (μM)	78	21	48
	IC ₇₅ (μM)	145	40	99
	[% Inhibition at 100 μM]	[57±1.4]	[97±3.3]	[75±8.9]
Midazolam (formation of 1'-OH midazolam)	IC ₂₅ (μM)	36	9.5	31
	IC ₅₀ (μM)	91	24	74
	IC ₇₅ (μM)	232	62	177
	[% Inhibition at 100 μM]	[58±5.2]	[87±1.4]	[64±2.4]
Alprazolam (formation of 4'-OH alprazolam)	IC ₂₅ (μM)	17	9.5	8.4
	IC ₅₀ (μM)	42	20	33
	IC ₇₅ (μM)	101	43	129
	[% Inhibition at 100 μM]	[70±3.8]	[89±0.26]	[74±1.1]

(Continued)

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD

4.2.2.4.6

Study No.

■-168-Hu-X-CYP (FK10615)

Inhibition results for delineation of the relative contribution of CYP3A4 and CYP3A5 to the overall metabolism of ibrutinib and selected probe substrates in human liver microsomes (mean ± SD):

Substrate	No inhibitor	Ketoconazole (pan-CYP3A inhibitor)		CYP3cide (selective CYP3A4 inhibitor)	
	%UD remaining	% UD remaining	% Inhibition of metabolism	% UD remaining	% Inhibition of metabolism
Ibrutinib	Pooled lot	40±4.5	100±0.0	100±0.0	100±0.0
	CYP3A5*1/*1	66±2.5	100±0.0	97±0.42	91±1.2
	CYP3A5*3/*3	45±3.2	98±2.0	93±0.59	87±1.1
Midazolam	<u>Metabolism (pmol/min/mg)</u>	<u>Metabolism (pmol/min/mg)</u>	<u>% inhibition of metabolism</u>	<u>Metabolism (pmol/min/mg)</u>	<u>% inhibition of metabolism</u>
	Pooled lot	360±66	12±6.0	31±7.8	92±2.2
	CYP3A5*1/*1	270±11	20±0.60	60±4.0	78±1.5
	CYP3A5*3/*3	450±170	15±2.0	28±3.0	94±0.66
Alprazolam	<u>Metabolism (pmol/min/mg)</u>	<u>Metabolism (pmol/min/mg)</u>	<u>% inhibition of metabolism</u>	<u>Metabolism (pmol/min/mg)</u>	<u>% inhibition of metabolism</u>
	Pooled lot	650±130	23±0.80	32±2.9	95±0.45
	CYP3A5*1/*1	340±44	25±2.6	54±3.8	84±1.11
	CYP3A5*3/*3	700±47	25±2.4	23±1.8	97±0.25
Atazanavir	<u>Metabolism (pmol/min/mg)</u>	<u>Metabolism (pmol/min/mg)</u>	<u>% inhibition of metabolism</u>	<u>Metabolism (pmol/min/mg)</u>	<u>% inhibition of metabolism</u>
	Pooled lot	75±1.6	22±7.3	14±10	82±14
	CYP3A5*1/*1	48±3.3	13±0.97	8.3±9.0	83±19
	CYP3A5*3/*3	59±3.1	22±7.9	22±8.0	63±14

Additional Information

CYP3A5*1/*1: wild-type functional CYP3A5

CYP3A5*3/*3: splice mutant displaying low to null CYP3A activity

CYP = cytochrome P450; IC = inhibitory concentration; SD = standard deviation, UD = unchanged drug

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.4.2											
Study No.		■-080-V-X-MT (FK10269)											
Study System:		The in vitro metabolism of [¹⁴ C]-ibrutinib in liver microsomes and hepatocytes of rat, rabbit, dog and human:											
Target Entity, Test System, and Method:		Extent of metabolism (% injected) of [¹⁴ C]-ibrutinib in liver microsomes and hepatocytes of rat, rabbit, dog and human											
Code	Retention time (min)	Proposed identity	m/z (ESI+)	Microsomes				S9 fractions		Hepatocytes			
				Rat	Rabbit	Dog	Human	Rat	Human	Rat	Rabbit	Dog	Human
M17	17.64	+34 (N ring open OH+O)	475.2094	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-
M21	19.57	+96 (+O+SO3)	537.1556	-	-	-	-	-	-	X	-	X	X
M25	20.89	+32 (Ring open COOH)	473.1937	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X
M26	21.77	+307 (+2H+GSH)	748.2877	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-
M27	21.97	+305 (+GSH)	746.2721	-	-	-	-	-	-	X	X	X	-
M29	22.37	+34 (N ring open OH+O)	475.2094	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-
M34	23.63	+18 (N ring open OH)	459.2145	-	-	-	-	-	-	X	X	X	X
M35	23.77	+16 (+O)	457.1988	-	-	-	-	-	-	X	X	X	X
M37	25.41	+34 (dihydrodiol)	475.2094	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
M38	26.40	+16 (+O)	457.1988	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X
M39	28.06	+16 (+O)	457.1988	X	-	X	X	-	X	X	X	X	X
M40	28.75	+16 (+O)	457.1988	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X
M41	31.73	-2 (-2H)	439.1882	X	X	X	X	-	X	X	X	-	X
UD	30.20	Unchanged ibrutinib	441.2039	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X

X = observed

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.4.2									
Study No.		-080-V-X-MT (FK10269)									
Study System:		The in vitro metabolism of [¹⁴ C]-ibrutinib in liver microsomes and hepatocytes of rat, rabbit, dog and human:									
Target Entity, Test System, and Method:		Extent of metabolism (% injected) of [¹⁴ C]-ibrutinib in rat, rabbit, dog and human liver microsomes with and without human recombinant expressed GST and rat and human liver microsomes with CYP inhibitors									
Incubate	Recovery (%) ^a	Metabolite (% injected)									
		M37	M38	M39	M40	M41	UD	Normalized ^b	Metabolism (%)	Sum Met ^c	Sum RAD peaks ^d
Rat-M 0 min	106	ND	ND	ND	ND	ND	103	-	-	103.0	103.0
Rat-M 10 min*	99	21.1	5.3	8.2	1.9	2.8	9.6	10.2	90	48.8	93.4
Rat-M 10 min B	108	ND	ND	ND	ND	ND	93.4	100.0	-	93.4	93.4
Rabbit-F 0 min	106	ND	ND	ND	ND	ND	94.6	-	-	94.6	94.6
Rabbit-F 10 min*	107	3.7	1.9	ND	ND	2.6	74.0	78.5	21	82.2	92.5
Rabbit-F 10 min B	109	ND	ND	ND	ND	ND	94.3	100.0	-	94.3	94.3
Dog-M 0 min	106	ND	ND	ND	ND	ND	95.7	-	-	95.7	95.7
Dog-M 10 min*	106	8.0	5.2	4.3	1.6	2.9	47.2	49.0	51	69.3	96.5
Dog-M 10 min B	106	ND	ND	ND	ND	ND	96.3	100.0	-	96.3	96.3
Human 0 min	108	ND	ND	ND	ND	ND	97.1	-	-	97.1	97.1
Human 10 min*	104	14.1	6.8	4.0	1.8	4.2	35.3	34.0	66	66.2	98.6
Human 10 min B	106	ND	ND	ND	ND	ND	104.0	100.0	-	104.0	104.0

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.4.2									
Study No.		080-V-X-MT (FK10269)									
Study System:		The in vitro metabolism of [¹⁴ C]-ibrutinib in liver microsomes and hepatocytes of rat, rabbit, dog and human:									
Target Entity, Test System, and Method:		Extent of metabolism (% injected) of [¹⁴ C]-ibrutinib in rat, rabbit, dog and human liver microsomes with and without human recombinant expressed GST and rat and human liver microsomes with CYP inhibitors									
Incubate	Recovery (%) ^a	Metabolite (% injected)									
		M37	M38	M39	M40	M41	UD	Normalized ^b	Metabolism (%)	Sum Met ^c	Sum RAD peaks ^d
Rat-M + GSH + GST_A1-1 10 min*	102	14.2	5.0	6.6	2.1	2.6	8.7	-	-	39.3	109.0
Rat-M + GSH + GST_P1-1 10 min*	105	11.7	4.6	5.9	2.2	< 0.6	9.1	-	-	33.6	112.9
Rat-M + GSH + GST_M1-1 10 min*	104	14.3	4.2	5.8	2.7	2.1	9.2	-	-	38.3	109.8
Rat-M + GSH 10 min	105	11.2	4.8	5.4	2.8	2.9	10.4	-	-	37.5	107.2
Human + GSH + GST_A1-1 10 min*	104	13.6	5.1	3.6	1.7	2.7	31.8	-	-	58.5	100.2
Human + GSH + GST_P1-1 10 min*	103	12.6	5.3	2.6	1.8	< 1.2	31.5	-	-	53.9	94.0
Human + GSH + GST_M1-1 10 min*	105	10.7	4.7	3.6	1.3	2.6	30.6	-	-	53.6	95.1
Human + GSH 10 min	103	15.8	4.3	3.2	1.3	3.3	35.6	-	-	63.5	93.0
Buffer + GSH + GST_A1-1 10 min	105	ND	ND	ND	ND	ND	100.6	-	-	100.6	101.8
Buffer + GSH + GST_P1-1 10 min	104	ND	ND	ND	ND	ND	96.6	-	-	96.6	101.0
Buffer + GSH + GST_M1-1 10 min	105	ND	ND	ND	ND	ND	94.0	-	-	94.0	96.0

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.4.2									
Study No.		-080-V-X-MT (FK10269)									
Study System:		The in vitro metabolism of [¹⁴ C]-ibrutinib in liver microsomes and hepatocytes of rat, rabbit, dog and human:									
Target Entity, Test System, and Method:		Extent of metabolism (% injected) of [¹⁴ C]-ibrutinib in rat, rabbit, dog and human liver microsomes with and without human recombinant expressed GST and rat and human liver microsomes with CYP inhibitors									
Incubate	Recovery (%) ^a	M37	M38	M39	M40	M41	UD	Metabolite (% injected) Normalized ^b	Metabolism (%)	Sum Met ^c	Sum RAD peaks ^d
Rat-M + Methanol 10 min	93	19.5	7.7	3.7	3.8	3.6	12.1	-	-	50.4	99.6
Rat-M + Ketoconazole 10 min*	107	< 1.3	1.2	1.2	1.3	0.8	85.8	-	-	90.2	96.0
Rat-M + 1-ABT 10 min*	100	ND	ND	ND	ND	ND	96.6	-	-	96.6	96.6
Human + Methanol 10 min	94	10.4	4.9	3.0	2.0	3.0	39.2	-	-	62.5	101.5
Human + Ketoconazole 10 min*	106	ND	ND	ND	ND	ND	98.4	-	-	98.4	98.7
Human + 1-ABT 10 min*	97	ND	ND	ND	ND	ND	97.1	-	-	97.1	97.1

*n = 3

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.4.2														
Study No.		-080-V-X-MT (FK10269)														
Study System:		The in vitro metabolism of [¹⁴ C]-ibrutinib in liver microsomes and hepatocytes of rat, rabbit, dog and human:														
Target Entity, Test System, and Method:		Extent of metabolism (% injected) of [¹⁴ C]-ibrutinib in rat, rabbit, dog and human hepatocytes														
Incubate	Recovery	Metabolite (% injected)														
	(%) ^a	M21	M25	M26	M27	M34 + M35	M37	M38	M39	M40	M41	UD	Normalized ^b	Metabolism (%)	Sum Met ^c	Sum RAD peaks ^d
Rat-M 0 min	73	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	92.1	91.6	8.4	92.1	92.1
Rat-M 2 min	105	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.8	ND	ND	91.2	90.7	9.3	93.0	93.0
Rat-M 5 min	102	ND	ND	ND	ND	ND	0.9	2.4	2.9	ND	ND	82.8	82.3	17.7	89.0	92.5
Rat-M 10 min	103	1.8	ND	ND	1.6	ND	ND	2.6	6.2	ND	1.7	60.2	59.8	40.2	74.1	98.4
Rat-M 15 min	100	2.0	ND	ND	2.6	ND	2.8	5.0	5.7	ND	1.8	52.3	52.0	48.0	72.2	95.8
Rat-M 20 min	96	2.4	ND	ND	2.0	5.8	5.2	4.1	6.6	1.5	1.2	42.9	42.6	57.4	71.7	105.4
Rat-M 60 min	88	3.3	4.5	1.8	3.9	21.6	15.0	3.6	4.4	2.8	1.7	12.7	12.6	87.4	75.3	116.9
Rat-M 60 min B	81	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	100.6	100.0	0.0	100.6	100.6
Rabbit-F 0 min	111	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	106.1	104.8	-4.8	106.1	106.1
Rabbit-F 2 min	106	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	96.6	95.5	4.5	96.6	96.6
Rabbit-F 5 min	105	ND	ND	ND	ND	0.7	1.7	2.2	2.4	ND	1.2	87.3	86.3	13.7	95.5	104.2
Rabbit-F 10 min	107	ND	1.0	ND	ND	2.4	6.9	1.9	2.9	ND	1.7	74.5	73.6	26.4	91.3	100.8
Rabbit-F 15 min	103	ND	2.2	ND	ND	2.9	6.2	1.8	2.4	ND	3.2	61.6	60.9	39.1	80.3	98.3
Rabbit-F 20 min	99	ND	3.8	ND	1.5	4.1	11.5	3.8	3.9	2.0	2.3	46.8	46.2	53.8	79.7	97.3
Rabbit-F 60 min	108	ND	33.1	1.1	3.2	9.7	12.9	1.7	2.0	2.1	2.1	1.8	1.8	98.2	69.7	99.7
Rabbit-F 60 min B	100	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	101.2	100.0	0.0	101.2	101.2

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.4.2														
Study No.		■■-080-V-X-MT (FK10269)														
Study System:		The in vitro metabolism of [¹⁴ C]-ibrutinib in liver microsomes and hepatocytes of rat, rabbit, dog and human:														
Target Entity, Test System, and Method:		Extent of metabolism (% injected) of [¹⁴ C]-ibrutinib in rat, rabbit, dog and human hepatocytes														
Incubate	Recovery (%) ^a	Metabolite (% injected)											Normalized ^b	Metabolism (%)	Sum Met ^c	Sum RAD peaks ^d
		M21	M25	M26	M27	M34+ M35	M37	M38	M39	M40	M41	UD				
Dog-M 0 min	115	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	97.3	100.0	0.0	97.3	97.3
Dog-M 2 min	104	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	100.0	102.8	-2.8	100.0	100.0
Dog-M 5 min	103	ND	ND	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	95.6	98.3	1.7	95.8	95.8
Dog-M 10 min	99	1.6	ND	1.2	0.6	ND	ND	0.4	ND	ND	ND	89.7	92.2	7.8	93.5	94.8
Dog-M 15 min	100	1.7	ND	1.0	1.2	1.2	ND	1.1	1.7	ND	ND	85.6	88.0	12.0	93.5	94.8
Dog-M 20 min	104	2.9	ND	1.6	0.6	1.9	ND	1.6	1.8	ND	ND	75.7	77.8	22.2	86.1	91.1
Dog-M 60 min	133	15.5	3.4	8.3	3.3	6.1	2.4	1.6	1.4	ND	ND	27.2	28.0	72.0	69.2	94.4
Dog-M 60 min B	108	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Human 0 min	108	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	97.8	98.9	1.1	97.8	97.8
Human 2 min	106	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	92.4	93.4	6.6	92.4	92.4
Human 5 min	105	ND	ND	ND	ND	ND	1.3	0.8	2.2	ND	ND	86.8	87.8	12.2	91.1	91.1
Human 10 min	105	ND	ND	ND	ND	2.6	2.2	1.6	1.4	ND	ND	79.3	80.2	19.8	87.1	94.1
Human 15 min	103	ND	ND	ND	ND	3.7	5.3	2.5	2.6	ND	1.6	75.1	75.9	24.1	90.8	97.2
Human 20 min	104	ND	1.8	ND	ND	2.2	6.9	2.1	3.3	ND	1.6	68.0	68.8	31.2	85.9	96.7
Human 60 min	102	4.6	11.1	ND	ND	13.0	9.0	2.2	2.0	1.2	2.6	29.5	29.8	70.2	75.2	101.2
Human 60 min B	84	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	98.9	100.0	0.0	98.9	98.9

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.4.2										
Study No.		-080-V-X-MT (FK10269)										
Study System:		The in vitro metabolism of [¹⁴ C]-ibrutinib in liver microsomes and hepatocytes of rat, rabbit, dog and human:										
Target Entity, Test System, and Method:		Extent of metabolism (% injected) of [¹⁴ C]-ibrutinib in rat, rabbit, dog and human hepatocytes with and without human recombinant expressed GST										
Incubate	Recovery (%) ^a	Metabolite (% injected)										
		M21	M25	M26	M27	M34+M35	M37	M38	M39	M40	M41	UD
Rat-M 60 min	88	3.3	4.5	1.8	3.9	21.6	15.0	3.6	4.4	2.8	1.7	12.7
Rat-M 60 min +GST A1 +GSH	109	3.0	6.0	4.2	2.5	9.0	4.6	ND	2.6	0.8	ND	9.7
Rat-M 60 min +GST M1 +GSH	108	3.4	7.3	3.9	2.8	14.8	7.9	ND	2.4	1.3	ND	8.6
Rat-M 60 min +GST_P1 +GSH	111	3.2	4.7	6.9	4.6	7.4	5.7	ND	2.3	1.5	ND	8.1
Rat-M 60 min +GSH	123	4.3	13.2	5	3.7	12.1	4.9	ND	2.9	1.3	ND	5.3
Rat-M 60 min B	81	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	100.6
Rabbit-F 60 min	108	ND	33.1	1.1	3.2	9.7	12.9	1.7	2.0	2.1	2.1	1.8
Rabbit-M 60 min +GST A1 +GSH	102	ND	23.7	2.7	5.9	11.5	8.8	ND	2.0	1.3	ND	2.3
Rabbit-M 60 min +GST M1 +GSH	109	ND	17.9	1.7	6.2	5.7	11.3	ND	1.6	1.5	ND	2.4
Rabbit-M 60 min +GST_P1 +GSH	101	ND	22.0	5.5	7.6	6.2	12.5	0.7	1.7	0.5	ND	2.0
Rabbit-M 60 min +GSH	129	ND	18.7	3.5	5.5	10.8	11.0	0.9	1.9	1.2	ND	4.3
Rabbit-F 60 min B	100	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	101.2
Dog-M 60 min	133	15.5	3.4	8.3	3.3	6.1	7.2	1.6	1.4	ND	ND	27.2
Dog-M 60 min +GST A1 +GSH	132	12.8	3.2	11.7	2.7	12.8	4.7	ND	1.2	0.6	ND	21.8
Dog-M 60 min +GST M1 +GSH	134	13.2	5.5	16.2	3.8	7.8	6.9	ND	1.1	ND	ND	25.6
Dog-M 60 min +GST_P1 +GSH	114	12.2	3.0	16.4	2.9	5.7	5.8	ND	0.8	ND	ND	19.7
Dog-M 60 min +GSH	124	10.7	4.1	11.6	2.4	7.9	5.4	0.6	0.8	0.3	ND	22.2
Dog-M 60 min B	108	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD		4.2.2.4.2										
Study No.		-080-V-X-MT (FK10269)										
Study System:		The in vitro metabolism of [¹⁴ C]-ibrutinib in liver microsomes and hepatocytes of rat, rabbit, dog and human:										
Target Entity, Test System, and Method:		Extent of metabolism (% injected) of [¹⁴ C]-ibrutinib in rat, rabbit, dog and human hepatocytes with and without human recombinant expressed GST										
Incubate	Recovery (%) ^a	Metabolite (% injected)										
		M21	M25	M26	M27	M34+M35	M37	M38	M39	M40	M41	UD
Human 60 min	102	4.6	11.1	ND	ND	13.0	9.0	2.2	2.0	1.2	2.6	29.5
Human-M 60 min +GST A1 +GSH	100	4.2	12.0	4.0	3.4	9.8	8.6	ND	1.9	0.9	ND	22.1
Human-M 60 min +GST M1 +GSH	96	2.7	9.5	5.0	3.6	9.9	7.1	ND	2.6	0.9	ND	30.3
Human-M 60 min +GST_P1 +GSH	102	3.0	10.6	8.0	5.2	10.7	7.9	ND	1.7	0.9	ND	19.0
Human-M 60 min +GSH	121	3.5	9.4	3.7	2.9	8.6	8.3	ND	1.5	1.0	ND	20.0
Human 60 min B	84	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	98.9

^a Recovery of total radioactivity after sample preparation
^b Normalized in comparison to boiled sample
^c % of sample radioactivity accounted for by UD and the reported metabolites
^d % of sample radioactivity accounted for by all peaks in the radiochromatogram

1-ABT = 1-Aminobenzotriazole; B = boiled; CYP = cytochrome P450; GSH = glutathione; GST = glutathione-S-transferase; NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; ND = not Detected; M = male; NR = no result; RAD = radioactivity; SE = standard error; S9 = post-mitochondrial fraction of tissue homogenate; UD = unchanged drug

(Continued)

2.6.5.10 薬物動態試験：In vitro における代謝（続き）

Test Article: Ibrutinib

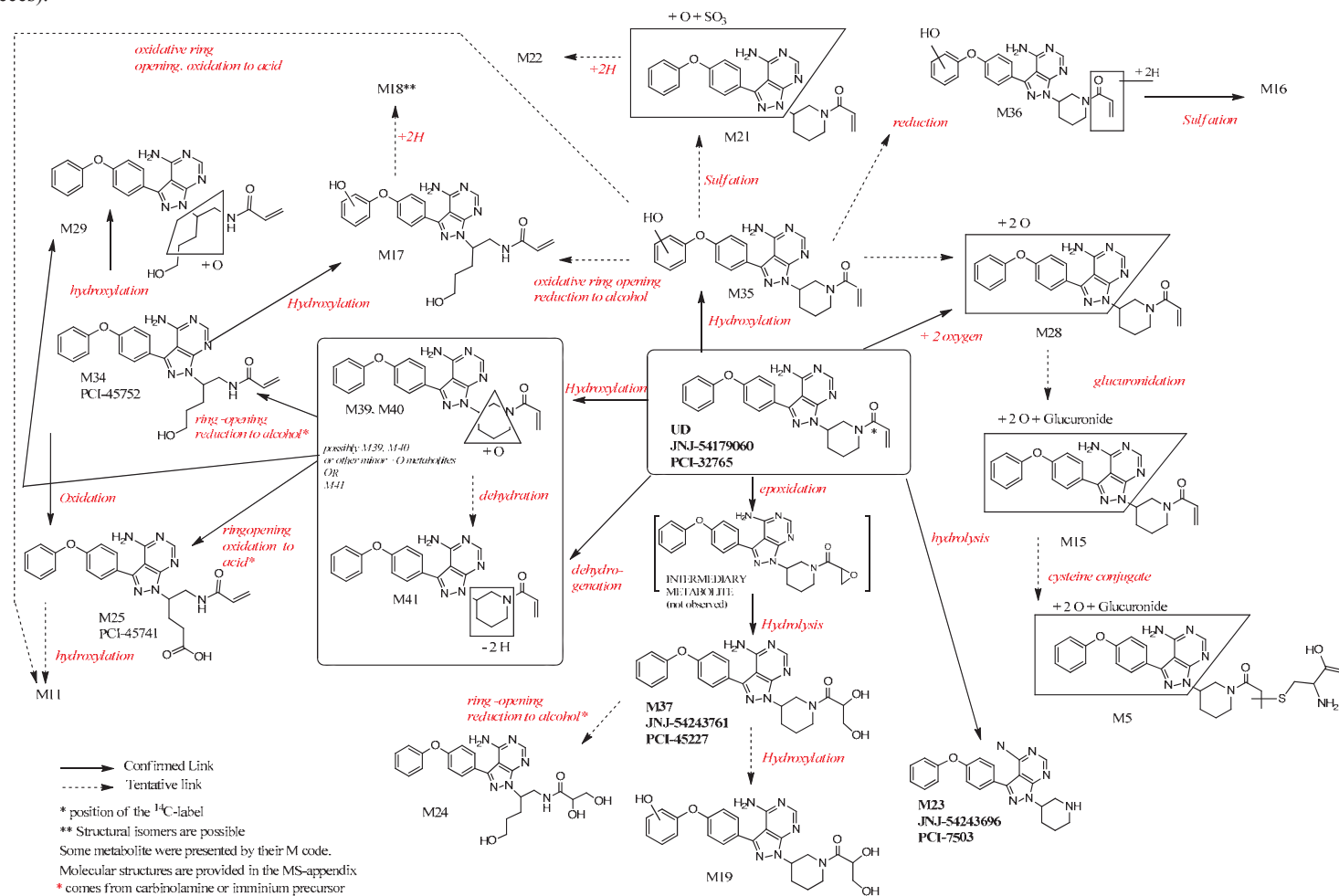
Location in CTD				4.2.2.4.3							
Study No.				■-105-V-X-MT (FK10351)							
Study System:				The in vitro metabolism of a mixture of [D ₅]-ibrutinib and [D ₀]-ibrutinib in rat and human hepatocytes:							
Target Entity, Test System, and Method:				MS intensity [D ₅]/[D ₀] ratios were determined for parent compound and metabolites in rat and human hepatocytes (for the 30 and 60 min incubations).							
Code	Retention time (min)	m/z ([D ₀])	m/z ([D _x])	Rat Hepatocytes				Human Hepatocytes			
				30 min incubation		60 min incubation		30 min incubation		60 min incubation	
				[D _x]/[D ₀] ratio	% relative to control ^b	[D _x]/[D ₀] ratio	% relative to control ^b	[D _x]/[D ₀] ratio	% relative to control ^b	[D _x]/[D ₀] ratio	% relative to control ^b
M21	19.57	537.1556	541.1808	0.91	106	0.87	101	0.71	83	0.86	100
M25	20.89	473.1937	478.2252	0.69	80	0.81	94	0.75	87	0.80	93
M34	23.63	459.2145	464.2460	0.85	99	0.86	100	0.79	92	0.78	91
M39	28.06	457.1988	462.2303	0.90	104	0.85	98	0.86	100	0.82	96
M40	28.75	457.1988	462.2303	0.89	104	0.91	106	0.99	115	0.92	107
M37	25.41	475.2094	480.2409	0.91	106	0.77	89	0.84	98	0.85	99
M35	23.77	457.1988	461.2240	-	-	-	-	0.94	109	0.96	112
UD ^a	30.20	441.2039	446.2354	0.86	100	0.86	100	0.87	101	0.89	103
M41	31.73	439.1882	444.2197	0.86	100	0.98	114	0.88	102	0.97	112

^a [D₀₊₂] and [D₅₊₂] ions were used as [D₀] and [D₅] ion signals were saturated^b The average [D₅]/[D₀] ratio was 0.86 in rat and human hepatocyte control incubations (cell free incubations (60 min), boiled human and rat hepatocyte incubations (60 min) and human and rat hepatocyte incubations (0 min))[D₀] = unlabeled molecule; [D_x] = deuterated molecule; UD = unchanged drug

2.6.5.11 A 薬物動態試験：推定代謝経路（ラット）

Test Article: Ibrutinib
Study No.: ■-022-R-PO-AME (FK10242)
Location in CTD: 4.2.2.4.8

Study System: The metabolism of ^{14}C -ibrutinib was investigated in male and female Sprague-Dawley rats after a single oral administration of single enantiomeric ^{14}C -ibrutinib at 10 mg/kg (plasma, urine and feces).



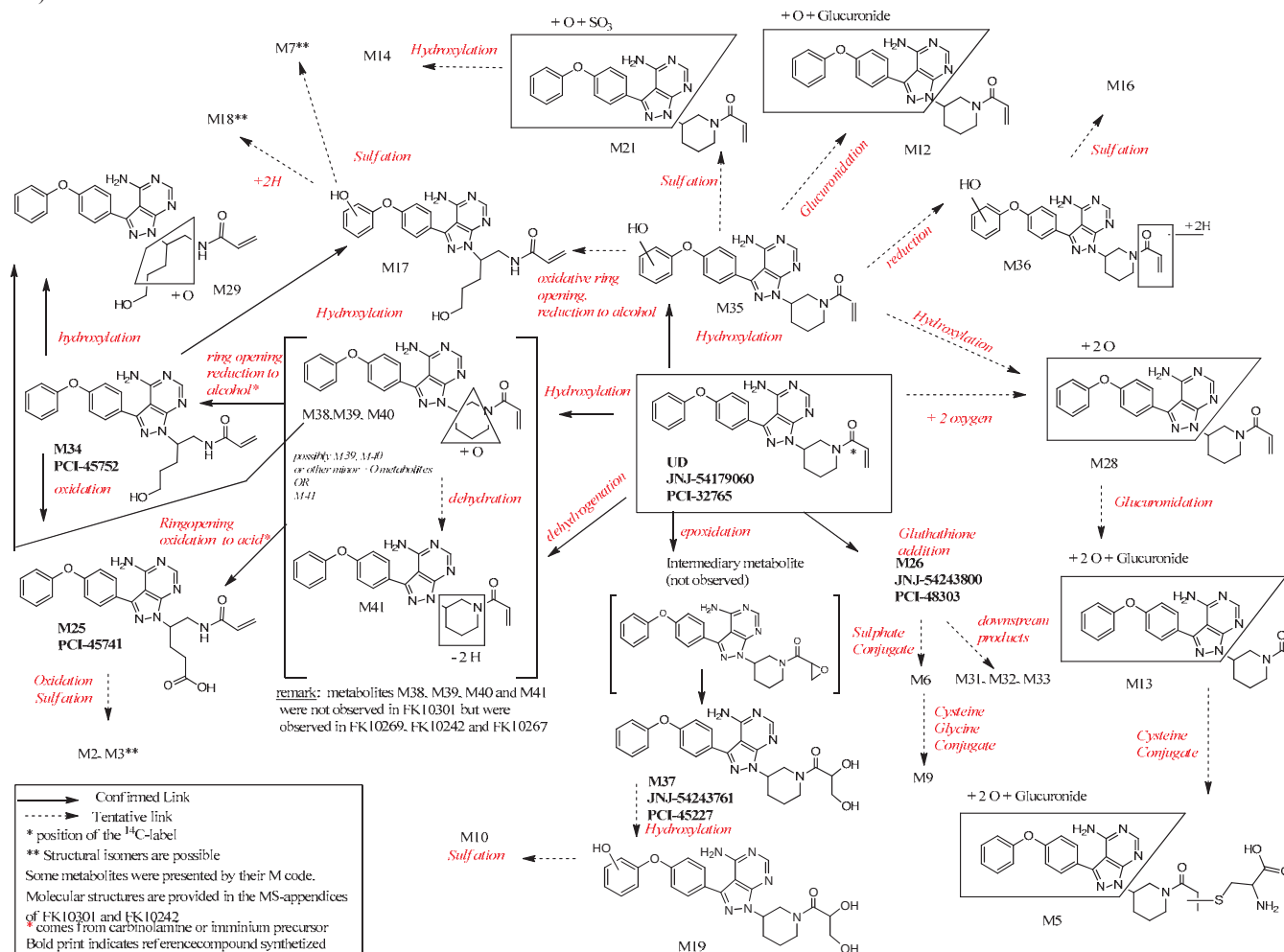
2.6.5.11 A 薬物動態試験：推定代謝経路（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.: ■-081-R-PO-EXC (FK10301)

Location in CTD: 4.2.2.4.9

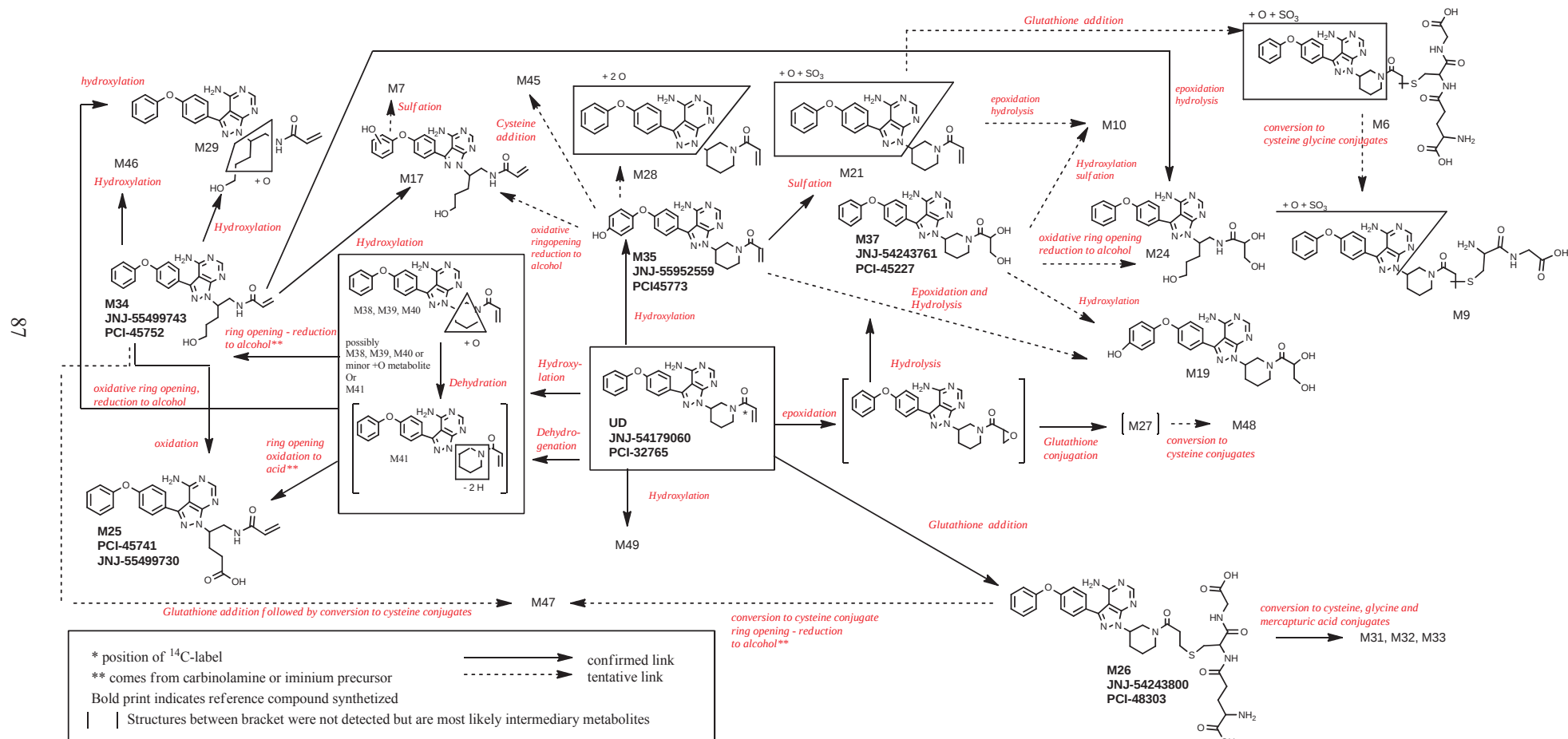
Study System: The metabolism of ^{14}C -ibrutinib was investigated in male bile duct-cannulated Sprague-Dawley rats after a single oral administration of single enantiomeric ^{14}C -ibrutinib at 10 mg/kg (bile, urine and feces).



2.6.5.11 B 薬物動態試験：推定代謝経路（イヌ）

Test Article: Ibrutinib
Study No.: ■-189-D-PO-AME (FK10389)
Location in CTD: 4.2.2.4.11

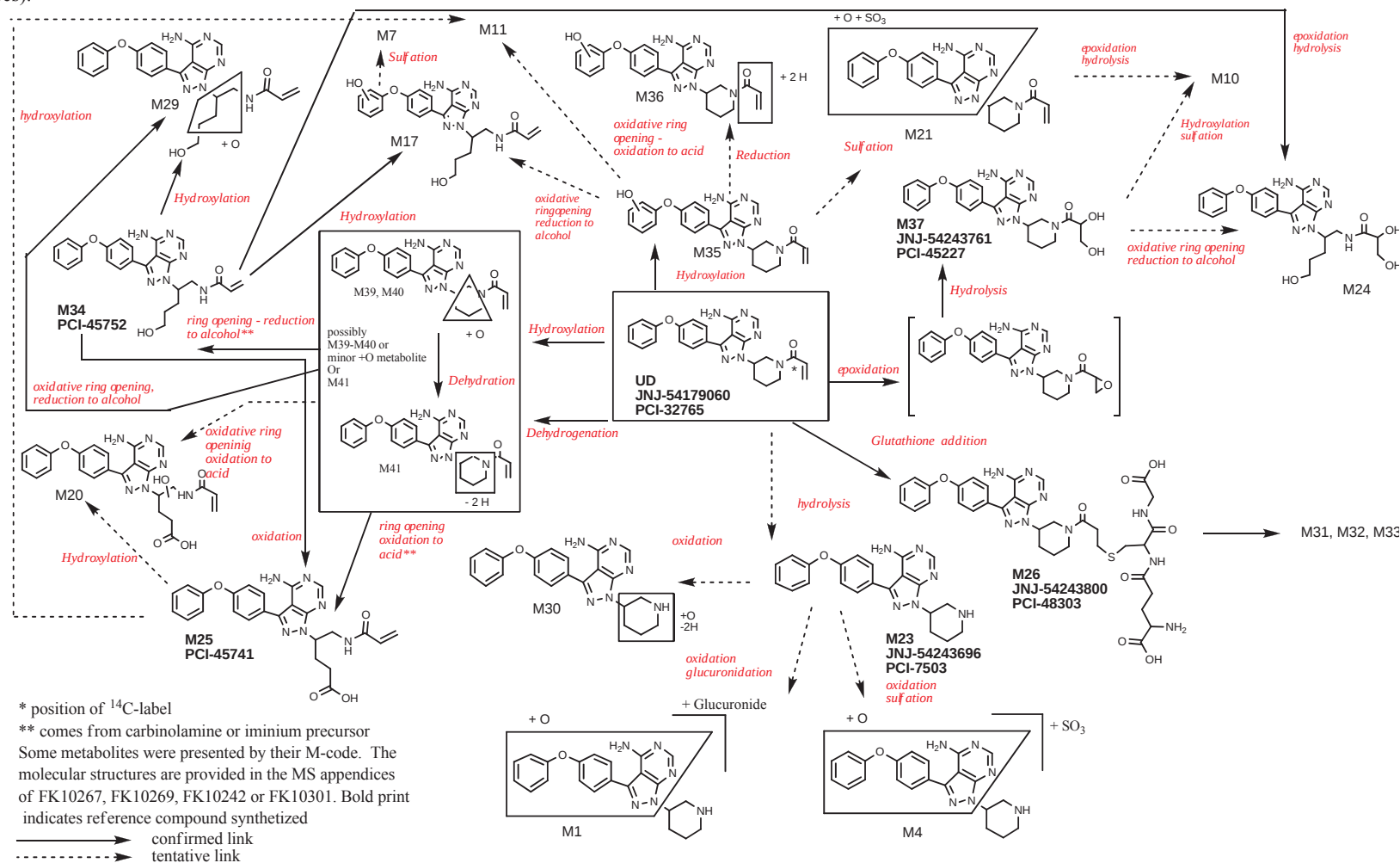
Study System: The metabolism of ^{14}C -ibrutinib was investigated in male Beagle dogs after a single oral administration of single enantiomeric ^{14}C -ibrutinib at 30 mg/kg (plasma, urine and feces).



2.6.5.11 C 薬物動態試験：推定代謝経路（ヒト）

Test Article: Ibrutinib
Study No.: ■-188-Hu-PO-MT (FK10267)
Location in CTD: 4.2.2.4.12

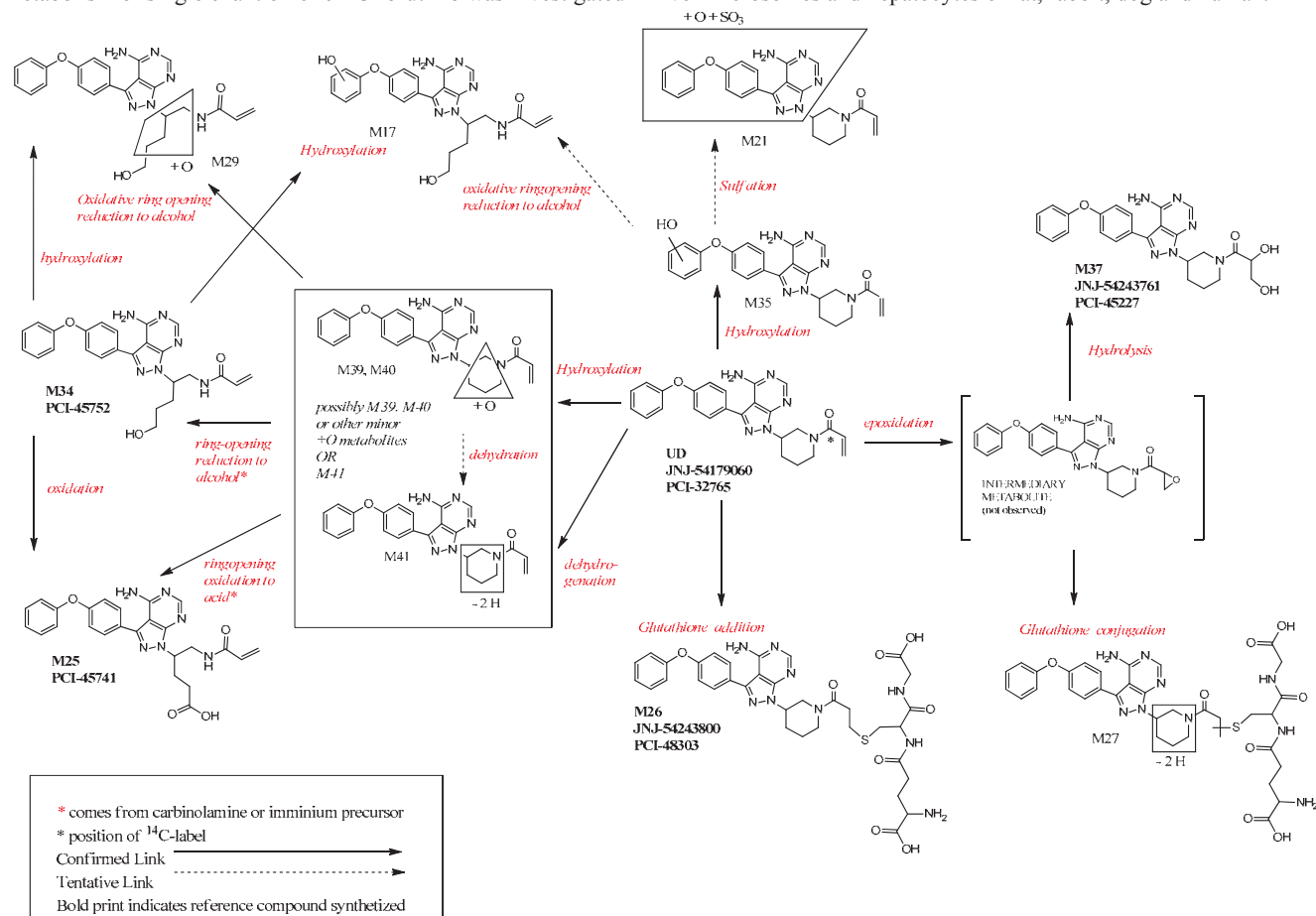
Study System: The metabolism of ^{14}C -ibrutinib was investigated in 6 male healthy volunteers after a single oral administration of single enantiomeric ^{14}C -ibrutinib at 140 mg (blood, plasma, urine and feces).



2.6.5.11 D 薬物動態試験：推定代謝経路 (In vitro)

Test Article: Ibrutinib
 Study No.: ■-080-V-X-MT (FK10269)
 Location in CTD: 4.2.2.4.2

Study System: The in vitro metabolism of single enantiomeric ^{14}C -ibrutinib was investigated in liver microsomes and hepatocytes of rat, rabbit, dog and human.



2.6.5.12 A 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導

Test Article: Ibrutinib/PCI-45227 (M37)

Type of Study: In vitro evaluation of ibrutinib and PCI-45227 (M37, dihydrodiol metabolite of ibrutinib) as inducers of cytochrome P450 expression in cultured human hepatocytes

Study No.: -075-Hu-X-INDC

Location in CTD: 4.2.2.4.14

Method: Three fresh preparations of cultured human hepatocytes from three separate livers were treated once daily for three consecutive days with DMSO (0.1% v/v, vehicle control), one of three concentrations of ibrutinib (0.5, 2.5 or 10 μ M) and PCI-45227 (M37) (0.5, 2.5 or 10 μ M) or one of three known human CYP inducers, namely, omeprazole (50 μ M), phenobarbital (750 μ M) and rifampin (10 μ M). After treatment, the cells were incubated in situ with the appropriate marker substrates for the analysis of phenacetin O-dealkylation (marker for CYP1A2), bupropion hydroxylation (marker for CYP2B6) and testosterone 6 β -hydroxylation (marker for CYP3A4/5) by LC/MS/MS. Following the in situ incubation, the same hepatocytes from the same treatment groups were harvested with TRIzol to isolate RNA, which was analyzed by qRT-PCR to assess the effect of ibrutinib and PCI-45227 (M37) on CYP1A2, CYP2B6 and CYP3A4 mRNA levels.

Tabulated Results

(a) CYP activity		Fold increase relative to vehicle control ^a		
Treatment	Concentration	CYP1A2 (phenacetin O-dealkylation)	CYP2B6 (bupropion hydroxylation)	CYP3A4/5 (testosterone 6 β -hydroxylation)
DMSO	0.1% (v/v)	1.00 $\pm$ 0.20 ^b	1.00 $\pm$ 0.88 ^b	1.00 $\pm$ 0.67 ^b
Ibrutinib	0.5 μ M	1.19 $\pm$ 0.05	1.07 $\pm$ 0.17	1.14 $\pm$ 0.20
Ibrutinib	2.5 μ M	1.40 $\pm$ 0.22	1.12 $\pm$ 0.18	1.08 $\pm$ 0.27
Ibrutinib	10 μ M	1.79 $\pm$ 0.16	1.62 $\pm$ 0.45	1.26 $\pm$ 0.24
PCI-45227 (M37)	0.5 μ M	1.02 $\pm$ 0.19	0.967 $\pm$ 0.095	0.940 $\pm$ 0.187
PCI-45227 (M37)	2.5 μ M	1.03 $\pm$ 0.15	1.04 $\pm$ 0.15	1.01 $\pm$ 0.14
PCI-45227 (M37)	10 μ M	0.940 $\pm$ 0.131	1.29 $\pm$ 0.11	1.61 $\pm$ 0.50
Omeprazole	50 μ M	48.7 $\pm$ 6.5	NA	NA
Phenobarbital	750 μ M	NA	17.7 $\pm$ 9.0	NA
Rifampin	10 μ M	NA	NA	5.01 $\pm$ 3.67

(Continued)

2.6.5.12 A 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導（続き）

Test Article: Ibrutinib/PCI-45227 (M37)

Type of Study: In vitro evaluation of ibrutinib and PCI-45227 (M37, dihydrodiol metabolite of ibrutinib) as inducers of cytochrome P450 expression in cultured human hepatocytes

Study No.: -075-Hu-X-INDC

Location in CTD: 4.2.2.4.14

Tabulated Results

(b) mRNA levels		Fold increase relative to vehicle control ^{a,c}		
<u>Treatment</u>	<u>Concentration</u>	<u>CYP1A2</u>	<u>CYP2B6</u>	<u>CYP3A4</u>
DMSO	0.1% (v/v)	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Ibrutinib	0.5 µM	2.43 ± 2.96	1.42 ± 1.08	1.57 ± 1.14
Ibrutinib	2.5 µM	3.74 ± 3.08	1.65 ± 0.27	1.08 ± 0.44
Ibrutinib	10 µM	3.08 ± 0.72	1.89 ± 1.01	1.91 ± 0.83
PCI-45227 (M37)	0.5 µM	1.72 ± 1.94	0.818 ± 0.512	0.919 ± 0.369
PCI-45227 (M37)	2.5 µM	0.785 ± 0.262	0.893 ± 0.511	1.33 ± 0.93
PCI-45227 (M37)	10 µM	1.20 ± 0.46	3.75 ± 4.37	6.70 ± 10.14
Omeprazole	50 µM	55.5 ± 28.6	NA	NA
Phenobarbital	750 µM	NA	16.5 ± 12.3	NA
Rifampin	10 µM	NA	NA	13.6 ± 13.5

Additional Information

^a Values are the mean ± standard deviation of three determinations from individual human hepatocyte preparations.

^b CV (Coefficient of Variance) = Rate standard deviation / Mean Rate. CV is calculated instead of standard deviation to give a more realistic representation of variance among control samples.

^c Normalized to GAPDH

DMSO = dimethyl sulfoxide; NA = not applicable

For CYP1A2, the positive control is omeprazole and the vehicle control is DMSO.

For CYP2B6, the positive control is phenobarbital and the vehicle control is DMSO.

For CYP3A4/5, the positive control is rifampin and the vehicle control is DMSO.

2.6.5.12 B 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害

Test Article: Ibrutinib

Type of Study: In vitro inhibition potential of ibrutinib towards specific isoenzymes of human hepatic cytochrome P450**Study No.:** ■-029-Hu-X-CYP**Location in CTD:** 4.2.2.4.15**Method:** Assays were performed in the presence and absence of ibrutinib (0.01 to 100 μ M) and a single substrate concentration, approximating the K_m for human hepatic microsomes. The CYP450 isoenzymes monitored in the study were: CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, and CYP3A4/5.**Tabulated Results**

<u>CYP450 Isoenzyme</u>	<u>Measured Activity</u>	<u>IC₅₀ (μM)</u>	<u>IC₅₀ (μg/mL)</u>
CYP1A	Ethoxyresorufin O-deethylase	>100	>44
CYP2B6	Bupropion hydroxylase	9.6	4.23
CYP2C8	Paclitaxel 6 α -hydroxylase	24.0	10.6
CYP2C9	Diclofenac 4'-hydroxylase	12.0	5.29
CYP2C19	Omeprazole 5-hydroxylase	13.0	5.73
CYP2D6	Dextromethorphan O-demethylation	25.0	11.0
CYP2E1	Chlorzoxazone 6-hydroxylase	NC	NC
CYP3A4/5	Midazolam 1-hydroxylase	24.0	10.6
CYP3A4/5	Testosterone 6 β -hydroxylase	20.0	8.81
<u>Time-dependent Inhibition</u>			
CYP3A	with NADPH:	62	
	without NADPH:	NC	

Additional Information>Conc: IC₅₀ value above the highest test concentration (less than 50% inhibition at the highest tested concentration)NC: IC₅₀ value not calculable (less than 25% inhibition at the highest test concentration)IC₅₀ = half-maximal inhibitory concentration; NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

2.6.5.12 C 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害

Test Article: M23

Type of Study:	In vitro inhibition potential of M23 towards specific isoenzymes of human hepatic cytochrome P450	Study No.: ■-026-Hu-X-CYP (FK10650)	Location in CTD: 4.2.2.4.16
Methods:	Incubation System: Human Liver Microsomes (HLM) (in 100 mM Potassium Phosphate Buffer, 5 mM MgCl ₂ , 1 mM EDTA) Analytical: LC-MS/MS Cocktail Assay (Sciex API 4000™, MRM Scan Mode, ESI) Monitoring Probe Metabolite Formation Experimental: REVERSIBLE INHIBITION (IC₅₀ Screen) - 0.1, 0.15 or 0.2 mg/mL HLM in 160 µL volume. - IC ₅₀ Determination: - Inhibitor (Test Compound or Positive Control) - 8 concentrations, incubated in triplicate in the presence of one probe substrate concentration. - Test compound concentration range = 0, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10, 30 and 100 µM - Assays performed on a Biomek FXp robotic liquid handling workstation with a Cytomat shaking incubator set at 37°C.		

Tabulated Results

CYP Isoforms	Probe Substrate	Concentration (µM)	HLM (mg/mL)	M23 IC ₅₀ (µM)	Max. % Inhibition	Positive Control Inhibitor	Concentration Range (µM)	IC ₅₀ (µM)
1A2	Phenacetin	80	0.2	n/a	< 5	α-Naphthoflavone	0.001 – 1	0.017
2A6	Coumarin	2	0.2	>100	22	Tranylcypromine	0.02 – 20	0.93
2B6	Bupropion	25	0.2	51	74	Ticlopidine	0.005 – 5	0.065
2C8	Amodiaquine	2	0.1	79	54	Quercetin	0.03 – 30	3.4
2C9	Tolbutamide	100	0.15	>100	40	Sulphaphenazole	0.005 – 5	0.23
2C9	Diclofenac	5	0.15	>100	26	Sulphaphenazole	0.005 – 5	0.24
2C19	S-(+)-Mephenytoin	30	0.2	>100	46	N-3-BenzylPB	0.002 – 2	0.19
2D6	Dextromethorphan	3	0.15	2.8	96	Quinidine	0.002 – 2	0.032
2E1	Chlorzoxazone	45	0.2	n/a	7	4-Methylpyrazole	0.02 – 20	0.59
3A4	Testosterone	25	0.15	76	61	Ketoconazole	0.002 – 2	0.021
3A4	Midazolam	2	0.15	n/a	<5	Ketoconazole	0.002 – 2	0.019
3A4	Nifedipine	10	0.1	57	56	Ketoconazole	0.002 – 2	0.016

Additional Information

n/a = no concentration-dependent inhibition observed

EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; ESI = electrospray ionization; HLM = human liver microsomes; IC₅₀ = half-maximal inhibitory concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry; MRM = multiple reaction monitoring

2.6.5.12 D 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害

Test Article: M25

Type of Study:	In vitro inhibition potential of M25 towards specific isoenzymes of human hepatic cytochrome P450	Study No.: ■-161-Hu-X-CYP (FK10597)	Location in CTD: 4.2.2.4.17
Methods:	Incubation System: Human Liver Microsomes (HLM) (in 100 mM Potassium Phosphate Buffer, 5 mM MgCl ₂ , 1 mM EDTA) Analytical: LC-MS/MS Cocktail Assay (Sciex API 4000™, MRM Scan Mode, ESI) Monitoring Probe Metabolite Formation Experimental: REVERSIBLE INHIBITION (IC₅₀ Screen) - 0.1, 0.15 or 0.2 mg/mL HLM in 160 µL volume. - IC ₅₀ Determination: - Inhibitor (Test Compound or Positive Control) - 8 concentrations, incubated in triplicate in the presence of one probe substrate concentration. - Test compound concentration range = 0, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10, 30 and 100 µM - Assays performed on a Biomek FXp robotic liquid handling workstation with a Cytomat shaking incubator set at 37°C.		

Tabulated Results

CYP Isoforms	Probe Substrate	Concentration (µM)	HLM (mg/mL)	M25 IC ₅₀ (µM)	Max. % Inhibition	Positive Control Inhibitor	Concentration Range (µM)	IC ₅₀ (µM)
1A2	Phenacetin	80	0.2	n/a	< 5	α-Naphthoflavone	0.001 – 1	0.025
2A6	Coumarin	2	0.2	n/a	< 5	Tranylcypromine	0.02 – 20	0.81
2B6	Bupropion	25	0.2	n/a	5	Ticlopidine	0.005 – 5	0.057
2C8	Amodiaquine	2	0.1	78	69	Quercetin	0.03 – 30	4.0
2C9	Tolbutamide	100	0.15	n/a	12	Sulphaphenazole	0.005 – 5	0.23
2C9	Diclofenac	5	0.15	n/a	6	Sulphaphenazole	0.005 – 5	0.21
2C19	S-(+)-Mephenytoin	30	0.2	n/a	< 5	N-3-BenzylPB	0.002 – 2	0.047
2D6	Dextromethorphan	3	0.15	n/a	< 5	Quinidine	0.002 – 2	0.040
2E1	Chlorzoxazone	45	0.2	n/a	17	4-Methylpyrazole	0.02 – 20	0.19
3A4	Testosterone	25	0.15	n/a	< 5	Ketoconazole	0.002 – 2	0.014
3A4	Midazolam	2	0.15	>100	25	Ketoconazole	0.002 – 2	0.016
3A4	Nifedipine	10	0.1	>100	49	Ketoconazole	0.002 – 2	0.0084

Additional Information

n/a = no concentration-dependent inhibition observed

EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; ESI = electrospray ionization; HLM = human liver microsomes; IC₅₀ = half-maximal inhibitory concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry; MRM = multiple reaction monitoring

2.6.5.12 E 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害

Test Article: M34

Type of Study:	In vitro inhibition potential of M34 towards specific isoenzymes of human hepatic cytochrome P450	Study No.: █-162-Hu-X-CYP (FK10598)	Location in CTD: 4.2.2.4.18
Methods:	Incubation System: Human Liver Microsomes (HLM) (in 100 mM Potassium Phosphate Buffer, 5 mM MgCl ₂ , 1 mM EDTA) Analytical: LC-MS/MS Cocktail Assay (Sciex API 4000™, MRM Scan Mode, ESI) Monitoring Probe Metabolite Formation Experimental: REVERSIBLE INHIBITION (IC₅₀ Screen) - 0.1, 0.15 or 0.2 mg/mL HLM in 160 µL volume. - IC ₅₀ Determination: - Inhibitor (Test Compound or Positive Control) - 8 concentrations, incubated in triplicate in the presence of one probe substrate concentration. - Test compound concentration range = 0, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10, 30 and 100 µM - Assays performed on a Biomek FXp robotic liquid handling workstation with a Cytomat shaking incubator set at 37°C.		

Tabulated Results

CYP Isoforms	Probe Substrate	Concentration (µM)	HLM (mg/mL)	M34 IC ₅₀ (µM)	Max. % Inhibition	Positive Control Inhibitor	Concentration Range (µM)	IC ₅₀ (µM)
1A2	Phenacetin	80	0.2	n/a	6	α-Naphthoflavone	0.001 – 1	0.025
2A6	Coumarin	2	0.2	n/a	11	Tranylcypromine	0.02 – 20	0.81
2B6	Bupropion	25	0.2	n/a	30	Ticlopidine	0.005 – 5	0.057
2C8	Amodiaquine	2	0.1	35	77	Quercetin	0.03 – 30	4.0
2C9	Tolbutamide	100	0.15	26	78	Sulphaphenazole	0.005 – 5	0.23
2C9	Diclofenac	5	0.15	29	84	Sulphaphenazole	0.005 – 5	0.21
2C19	S-(+)-Mephenytoin	30	0.2	>100	49	N-3-BenzylPB	0.002 – 2	0.047
2D6	Dextromethorphan	3	0.15	>100	46	Quinidine	0.002 – 2	0.040
2E1	Chlorzoxazone	45	0.2	>100	22	4-Methylpyrazole	0.02 – 20	0.19
3A4	Testosterone	25	0.15	7.6	58	Ketoconazole	0.002 – 2	0.014
3A4	Midazolam	2	0.15	76	54	Ketoconazole	0.002 – 2	0.016
3A4	Nifedipine	10	0.1	22	73	Ketoconazole	0.002 – 2	0.0084

Additional Information

n/a = no concentration-dependent inhibition observed

EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; ESI = electrospray ionization; HLM = human liver microsomes; IC₅₀ = half-maximal inhibitory concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry; MRM = multiple reaction monitoring

2.6.5.12 F 薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害

Test Article: PCI-45227 (M37)

Type of Study: In vitro inhibition potential of PCI-45227 (M37, dihydrodiol metabolite of ibrutinib) towards specific isoenzymes of human hepatic cytochrome P450

Study No.: ■-016-Hu-X-CYP

Location in CTD: 4.2.2.4.19

Method: Assays were performed in the presence and absence of PCI-45227 (M37) (0.03 to 100 μ M) and a single substrate concentration, approximating the K_m for human hepatic microsomes. The CYP450 isoenzymes monitored in the study were: CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, and CYP3A4/5.

Tabulated Results

CYP450 Isoenzyme	Measured Activity	IC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (μ g/mL)
CYP1A	Phenacetin deacetylase	NC	NC
CYP2B6	Bupropion hydroxylase	17	8.07
CYP2C8	Paclitaxel 6 α -hydroxylase	33	15.7
CYP2C9	Diclofenac 4'-hydroxylase	58	27.5
CYP2C19	Omeprazole 5-hydroxylase	>100	>47.4
CYP2D6	Dextromethorphan O-demethylation	76	36.1
CYP2E1	Chlorzoxazone 6-hydroxylase	NC	NC
CYP3A4/5	Midazolam 1-hydroxylase	NC	NC
CYP3A4/5	Testosterone 6 β -hydroxylase	>100	>47.4

Additional Information

>Conc: IC₅₀ value above the highest test concentration (less than 50% inhibition at the highest tested concentration)

NC: IC₅₀ value not calculable (less than 25% inhibition at the highest test concentration)

IC₅₀ = half-maximal inhibitory concentration

2.6.5.13 A 薬物動態試験：尿・糞中排泄（ラット）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	039-R-PO-ADME		
Location in CTD	4.2.2.3.1		
Species (Strain):	Rat (Sprague Dawley)		
Gender (M/F)/Number of Animals:	M:5		
Feeding Condition:	Ad libitum		
Vehicle/Formulation:	20% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water		
Route:	Intravenous		
Dose (mg/kg):	2.0 mg/kg [107 μCi/kg, as ibrutinib racemate]		
Analyte:	¹⁴ C		
Assay:	Liquid scintillation counting		
Tabulated Results			
	Excretion of Total Radioactivity (Percent of Administered Radioactivity)		
Excretion Route:	Urine	Feces	Total
Time after Dosing (h):			
0-8	4.30±0.20	} 75.3±2.52 ^a	} 80.1
8-24	0.54±0.15		
24-48	0.17±0.06	6.63±1.46	6.80
48-72	0.05±0.01	0.59±0.08	0.64
72-96	0.04±0.02	0.34±0.04	0.38
96-120	0.03±0.01	0.32±0.09	0.35
120-144	0.02±0.00	0.16±0.02	0.18
144-168	0.02±0.01	0.15±0.03	0.17
Subtotal:	5.16±0.22	83.5±1.01	88.6
Cage rinse		0.14±0.09	
Residual (cage wash + cage wipe + residual carcass):		3.48	
Total percent of dose recovered:		92.2±0.84	

Excretion: mean±standard deviation
^a Feces collection was from 0 to 24 hours

(Continued)

2.6.5.13 A 薬物動態試験：尿・糞中排泄（ラット）（続き）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	022-R-PO-AME (FK10242)
Location in CTD	4.2.2.4.8
Species (Strain):	Rat (Sprague Dawley)
Gender (M/F)/Number of Animals:	M+F:3+3
Feeding Condition:	Ad libitum
Vehicle/Formulation:	10% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water
Route:	Oral
Dose (mg/kg):	10 mg/kg of [¹⁴ C]-ibrutinib [1480 kBq/kg, single enantiomer]
Analyte:	¹⁴ C
Assay:	Liquid scintillation counting

Tabulated Results		Excretion of Total Radioactivity (% of Administered Dose)					
Excretion Route:	Time after Dosing (h):	<u>M</u>			<u>F</u>		
		<u>Urine</u>	<u>Feces</u>	<u>Carcass</u>	<u>Urine</u>	<u>Feces</u>	<u>Carcass</u>
	0-7	0.77±0.04	-	-	0.98±0.28	-	-
	7-24	0.70±0.29	-	-	0.70±0.25	-	-
	0-24	-	83.6±2.80	-	-	86.9±3.28	-
	24-48	0.05±0.01	6.75±2.06	-	0.05±0.03	2.05±1.72	-
	48-72	<0.02	0.23±0.08	-	0.02±0.00	0.10±0.03	-
	72-96	<0.01	<0.07	-	<0.02	0.06±0.01	-
	0-96	-	-	<0.51	-	-	0.31±0.06
	Subtotal	1.54±0.31	90.6±3.72	<0.51	1.75±0.18	89.1±2.46	0.31±0.06
	Total		92.3±3.79			91.2±2.29	

Additional Information

Radioactivity recovered in the expired air after 24 h was monitored in two male rats and corresponded to 0.43% of the administered dose

Excretion: mean±standard deviation

2.6.5.13 B 薬物動態試験：尿・糞中排泄（イヌ）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	■-189-D-PO-AME (FK10389)		
Location in CTD	4.2.2.4.11		
Species (Strain):	Dog (Beagle)		
Gender (M/F)/Number of Animals:	<u>M</u> :3		
Feeding Condition:	Free access		
Vehicle/Formulation:	20% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water		
Route:	Oral		
Dose (mg/kg):	30 mg/kg of [¹⁴ C]-ibrutinib [0.555 MBq/kg, single enantiomer]		
Analyte:	¹⁴ C		
Assay:	Liquid scintillation counting		
Tabulated Results			
	Excretion of Total Radioactivity (% of Administered Dose)		
		<u>M</u>	
Excretion Route:	<u>Urine</u>		<u>Feces</u>
Time after Dosing (h):			
0-7	1.41		-
7-24	1.32		-
0-24	-		38.4
24-48	0.32		37.7
48-72	0.21		11.3
Subtotal	3.26±0.46		87.5±4.32
Total		90.7±4.78	

Excretion: mean±standard deviation or mean

2.6.5.13 C 薬物動態試験：尿・糞中排泄（ヒト）

Test Article: Ibrutinib

Study No.	■-188-Hu-PO-MT (FK10267)		
Location in CTD	4.2.2.4.12		
Species:	Healthy Male Volunteers		
Gender (M/F)/Number of Subjects:	M:6		
Feeding Condition:	Fasted		
Vehicle/Formulation:	30% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water		
Route:	Oral		
Dose (mg/kg):	140 mg of [¹⁴ C]-ibrutinib [1480 kBq, single enantiomer]		
Analyte:	¹⁴ C		
Assay:	Liquid scintillation counting		
Tabulated Results			
Excretion Route:	Excretion of Total Radioactivity (% of Administered Dose)		
	Urine		Feces
Time after Dosing (h):			
0-2	3.23±0.70		
2-4	1.24±0.47		
4-8	0.66±0.24		
8-24	1.22±0.29		
24-48	0.92±0.26		
48-72	0.33±0.12		
72-96	0.13±0.05		
Subtotal	7.81±1.43		80.6±3.14
	(range 5.5-9.3)		(range 75.9-83.5)
Total		88.5±4.33	
		(range 81.4-92.2)	
Additional Information			
Feces samples were collected from Day 1 through Day 8 post-dose per stool. In feces, the majority of radioactivity was excreted within 48 h after dosing.			

2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄

Test Article: Ibrutinib

Study No.	-081-R-PO-EXC (FK10301)
Location in CTD	4.2.2.4.9
Species (Strain):	Rat (Sprague Dawley, bile duct cannulated)
Gender (M/F)/Number of Animals:	M:3
Feeding Condition:	Ad libitum
Vehicle/Formulation:	10% Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in water
Route:	Oral
Dose (mg/kg):	10 mg/kg of [¹⁴ C]-ibrutinib (1.48 MBq/kg, single enantiomer)
Analyte:	¹⁴ C
Assay:	Liquid scintillation counting

Tabulated Results				
Excretion Route: Time after Dosing (h):	Bile	Excretion of Total Radioactivity ^a (% of Administered Dose)		Feces Residue
		Urine	Feces Extract	
0-4	24.80	} 1.15	} 40.40	} 8.03
4-8	15.10			
8-24	7.08			
24-48	0.10	0.16	0.38	0.27
Subtotal	47.00	1.31	40.70	8.30
Total		97.40		

Additional Information
Feces homogenates (1 part faeces + 4 parts water) were extracted using a 3-step extraction procedure (1 part feces homogenate + 1.5 parts of extraction solvent) using acetonitrile/isopropylalcohol/water (6:3:1, 0.02% formic acid), followed by filtration.

Excretion: mean
^a n=2

2.6.5.15 A 薬物動態試験：薬物相互作用（たん白結合）

Test Article: Ibrutinib

Study No. ■-144-Hu-X-PKX (FK10377)		
Location in CTD 4.2.2.6.1		
Type of Study: An in vitro study on the interaction of ibrutinib on the protein binding of [¹⁴ C]-warfarin in human plasma.		
Method: Human plasma was incubated for 10 minutes at 37°C with [¹⁴ C]-warfarin (s.a. 2.17 GBq/mmol) at 2 µg/mL (14.1 kBq/ml) with various concentrations (0.030 to 1.0 µg/mL) of ibrutinib. Following ultrafiltration centrifugation, radioactivity in the filtrate was measured by liquid scintillation counting and the unbound fraction of [¹⁴ C]-warfarin was calculated.		
Tabulated Results		
Ibrutinib Concentration (µg/mL)	Fraction Unbound [¹⁴ C]-Warfarin ^a	Percent Displacement of [¹⁴ C]-Warfarin
0	0.0109	--
0.030	0.0108	-0.92
0.10	0.0108	-0.92
0.30	0.0112	2.75
1.0	0.0110	0.92
Additional Information		
The displacement of warfarin from plasma protein by ibrutinib was negligible (< 3%).		

^a Mean value of plasma samples from 3 different subjects

s.a. = specific activity

2.6.5.15 B 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：基質）

Test Article: Ibrutinib/PCI-45227 (M37)

Study No.		-103-V-X-TS (FK10340)				
Location in CTD		4.2.2.6.2				
Type of Study: An in vitro study on the transport of ibrutinib and PCI-45227 (M37, dihydrodiol metabolite) by OATP1B1 (SLCO1B1), OATP1B3 (SLCO1B3) and OATP2B1 (SLCO2B1).						
Method: Ibrutinib and PCI-45227 (M37) concentrations were 0.2, 1 and 5 μ M. Transport was determined after incubation at 37 $^{\circ}$ C for 0.5 min, 1, 5 or 10 min. Estradiol-17 β -glucuronide was included as reference substrate and rifampicin was used as a reference inhibitor. All incubations were carried out in triplicate. Data for similar time points (0.5 min) and compound concentration (1 μ M) are shown in this table.						
Tabulated Results						
Cell Line	Ibrutinib (1 μ M, 0.5 min)		Cellular Uptake (pmol/mg protein) PCI-45227 (M37) (1 μ M, 0.5 min)		Estradiol-17 β -glucuronide (1 μ M, 0.5 min)	
	- Rifampicin (25 μ M)	+ Rifampicin (25 μ M)	- Rifampicin (25 μ M)	+ Rifampicin (25 μ M)	- Rifampicin (25 μ M)	+ Rifampicin (25 μ M)
HEK293 Parent	79.5	79.7	74.6	76.9	3.38	3.33
HEK293 OATP1B1	71.5	70.2	76.3	70.2	34.2	4.87
HEK293 OATP1B3	63.9	69.5	68.4	58.5	9.30	3.19
HEK293 OATP2B1	75.6	69.4	70.4	69.6	42.2	8.43
Additional Information						
Ibrutinib and PCI-45227 (M37) have extensive passive permeability in HEK293 cell lines and are not substrates for OATPs in the current in vitro model						
HEK = human embryonic kidney; OATP = organic anion transporting polypeptide						

2.6.5.15 B 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：基質）（続き）

Test Article: M23

Study No.		191-V-X-TS (FK10643)						
Location in CTD		4.2.2.6.3						
Type of Study:	In vitro evaluation of P-gp (MDR1) mediated transport of metabolite M23 in single-transfected LLC-PK1 cell lines							
Method	Test system: LLC-PK1 cell lines, parental and overexpressing MDR1 (P-gp, also known as ABCB1), triplicate determinations Experiment was performed in the presence of 1% BSA Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below							
Tabulated Results								
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	Direction	LLC-PK1 – Parental		LLC-PK1 – MDR1		Ratio MDR1/ ratio parent	
			P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB	P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	-	AB	1.34 ± 0.08	3.78	1.00 ± 0.13	8.33	2.20	
		BA	5.07 ± 0.14		8.36 ± 0.12			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ GF120918 (5 µM) (Reference inhibitor)	AB	2.52 ± 0.17	0.97	3.26 ± 0.37	0.90	0.93	
		BA	2.43 ± 0.22		2.93 ± 0.30			
M23 (0.23 µM)	-	AB	16.8 ± 0.75	0.36	4.84 ± 0.09	3.19	8.86	
		BA	6.08 ± 0.15		15.4 ± 0.71			
M23 (0.23 µM)	+ GF120918 (5 µM) (Reference inhibitor)	AB	22.5 ± 0.40	0.43	23.7 ± 1.58	0.37	0.86	
		BA	9.69 ± 0.24		8.77 ± 0.33			
M23 (1.13 µM)	-	AB	21.0 ± 0.98	0.38	6.56 ± 1.99	1.30	3.42	
		BA	8.05 ± 0.60		8.55 ± 0.05			
M23 (1.13 µM)	+ GF120918 (5 µM) (Reference inhibitor)	AB	17.4 ± 0.78	0.48	17.6 ± 1.38	0.46	0.96	
		BA	8.41 ± 0.38		8.09 ± 0.35			
Additional Information								
M23 is a substrate of the P-gp transporter at 0.23 and 1.13 µM								
The decrease in efflux ratio (in the absence of GF120918) between 0.23 and 1.13 µM indicates a saturation of the P-gp transporter with increasing concentration of M23								
AB = apical to basolateral; BA = basolateral to apical; BSA = bovine serum albumin; MDR = multidrug resistance; P _{app} = apparent permeability								

(Continued)

2.6.5.15 B 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：基質）（続き）

Test Article: M25

Study No.		-157-V-X-TS (FK10576)						
Location in CTD		4.2.2.6.4						
Type of Study:	In vitro evaluation of P-gp (MDR1) mediated transport of metabolite M25 in single-transfected LLC-PK1 cell lines							
Method	Test system: LLC-PK1 cell lines, parental and overexpressing MDR1 (P-gp, also known as ABCB1), triplicate determinations							
	Experiment was performed in the presence of 1% BSA							
	Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below							
Tabulated Results								
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	Direction	LLC-PK1 – Parental			LLC-PK1 – MDR1		Ratio MDR1/ ratio parent
			P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB		P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB	
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	-	AB	2.21 ± 0.03	1.09		0.75 ± 0.10	12.25	11.24
		BA	2.40 ± 0.14			9.23 ± 0.47		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ GF120918 (5 µM) (Reference inhibitor)	AB	2.34 ± 0.29	0.90		2.75 ± 0.29	0.94	1.04
		BA	2.11 ± 0.23			2.58 ± 0.18		
M25 (0.2 µM)	-	AB	0.09 ± 0.01	0.91		0.32 ± 0.08	0.68	0.75
		BA	0.08 ± 0.01			0.21 ± 0.04		
M25 (0.2 µM)	+ GF120918 (5 µM) (Reference inhibitor)	AB	0.10 ± 0.02	0.79		0.27 ± 0.04	0.77	0.97
		BA	0.08 ± 0.01			0.20 ± 0.03		
M25 (1.0 µM)	-	AB	0.08 ± 0.01	0.91		0.33 ± 0.02	0.83	0.91
		BA	0.07 ± 0.01			0.27 ± 0.01		
M25 (1.0 µM)	+ GF120918 (5 µM) (Reference inhibitor)	AB	0.08 ± 0.01	1.00		0.28 ± 0.05	0.89	0.89
		BA	0.08 ± 0.01			0.25 ± 0.02		
Additional Information								
M25 is not a substrate of the P-gp transporter at 0.2 and 1.0 µM								
AB = apical to basolateral; BA = basolateral to apical; BSA = bovine serum albumin; MDR = multidrug resistance; P _{app} = apparent permeability								

(Continued)

2.6.5.15 B 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：基質）（続き）

Test Article: M34

Study No.		-158-V-X-TS (FK10577)						
Location in CTD		4.2.2.6.5						
Type of Study:	In vitro evaluation of P-gp (MDR1) mediated transport of metabolite M34 in single-transfected LLC-PK1 cell lines							
Method	Test system: LLC-PK1 cell lines, parental and overexpressing MDR1 (P-gp, also known as ABCB1), triplicate determinations							
	Experiment was performed in the presence of 1% BSA							
		Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below						
Tabulated Results								
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	Direction	LLC-PK1 – Parental		LLC-PK1 – MDR1		Ratio MDR1/ ratio parent	
			P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB	P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	-	AB	2.21 ± 0.03	1.09	0.75 ± 0.10	12.3	11.28	
		BA	2.40 ± 0.14		9.23 ± 0.47			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ GF120918 (5 µM) (Reference inhibitor)	AB	2.34 ± 0.29	0.90	2.75 ± 0.29	0.94	1.04	
		BA	2.11 ± 0.23		2.58 ± 0.18			
M34 (0.2 µM)	-	AB	0.85 ± 0.08	4.55	≤ 0.6**	≥ 7.85**	≥ 1.73	
		BA	3.85 ± 0.34		4.71 ± 0.08			
M34 (0.2 µM)	+ GF120918 (5 µM) (Reference inhibitor)	AB	1.11 ± 0.05	2.75	1.26 ± 0.08	1.17	0.43	
		BA	3.04 ± 0.26		1.48 ± 0.09			
M34 (1.0 µM)	-	AB	0.91 ± 0.04	2.13	0.22 ± 0.04	18.1	8.50	
		BA	1.94 ± 0.06		4.05 ± 0.96			
M34 (1.0 µM)	+ GF120918 (5 µM) (Reference inhibitor)	AB	1.08 ± 0.04	1.12	1.29 ± 0.10	1.08	0.96	
		BA	1.22 ± 0.15		1.40 ± 0.08			
Additional Information								
M34 is a substrate of the P-gp transporter at 0.2 and 1.0 µM								
** Test concentration in acceptor compartment was below the limit of quantitation (BQL). Calculations were made using the BQL level (0.5 ng/mL)								
AB = apical to basolateral; BA = basolateral to apical; BSA = bovine serum albumin; MDR = multidrug resistance; P _{app} = apparent permeability								

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Study No. ■-028-V-X-TS (FK10654)

Location in CTD: 4.2.2.6.6

Type of Study:	In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of OATP1B1 and OATP1B3 transport in HEK293 cell lines stably transfected with OATP1B1 or OATP1B3						
Method	Test system: HEK293 cell lines, mock and overexpressing OATP1B1 (SLCO1B1) and OATP1B3 (SLCO1B3), triplicate determinations Experiment with OATP1B1 cells were performed in the presence of 1% BSA. Experiment with OATP1B3 cells were performed in the absence of BSA. Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below						
Tabulated Results							
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	HEK293 – Mock		HEK293 – OATP1B1		Transport (%)	Inhibition (%)
		Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)		Rate of Transport (\$) (pmol/mg membrane protein/min)			
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	2.79	± 0.11	45.8	± 0.57	100	0
	+ cyclosporin A (25 μM) (Reference Inhibitor)	3.05	± 0.63	2.45	± 2.08	5.3	94.7
	+ rifampicin (25 μM) (Reference Inhibitor)	3.53	± 0.92	6.78	± 0.32	14.8	85.2
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	2.79	± 0.11	45.8	± 0.57	100	0
	+ ibrutinib (0.1 μM)	3.03	± 0.75	39.2	± 0.52	85.7	14.3
	+ ibrutinib (1 μM)	2.64	± 0.56	39.5	± 0.25	86.4	13.6
	+ ibrutinib (10 μM)	2.51	± 0.30	30.5	± 1.35	66.6	33.4
	+ ibrutinib (100 μM)	2.74	± 0.29	9.19	± 0.65	20.1	79.9
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	3.96	± 0.54	45.9	± 1.48	100	0
	+ M23 (0.1 μM)	2.85	± 0.39	43.4	± 0.44	94.6	5.4
	+ M23 (1 μM)	2.67	± 0.59	44.6	± 0.78	97.2	2.8
	+ M23 (10 μM)	3.64	± 0.25	40.5	± 1.11	88.3	11.7
	+ M23 (100 μM)	2.45	± 0.48	33.7	± 1.53	73.5	26.5
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	1.81	± 0.37	53.0	± 1.81	100	0
	+ M25 (0.1 μM)	2.70	± 0.44	51.5	± 0.54	97.2	2.8
	+ M25 (1 μM)	2.84	± 0.10	50.1	± 1.95	94.5	5.5
	+ M25 (10 μM)	3.05	± 0.44	44.0	± 2.06	83.0	17.0
	+ M25 (100 μM)	1.84	± 0.07	26.4	± 7.78	49.8	50.2

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Study No. ■-028-V-X-TS (FK10654)

Location in CTD: 4.2.2.6.6

Type of Study:	In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of OATP1B1 and OATP1B3 transport in HEK293 cell lines stably transfected with OATP1B1 or OATP1B3						
Tabulated Results							
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	HEK293 – Mock		HEK293 – OATP1B1		Transport (%)	Inhibition (%)
		Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)		Rate of Transport (\$) (pmol/mg membrane protein/min)			
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	2.06	± 0.31	44.9	± 0.35	100	0
	+ M34 (0.1 μM)	2.79	± 0.15	45.4	± 1.46	101	NI
	+ M34 (1 μM)	2.50	± 0.48	44.9	± 0.79	99.8	0.2
	+ M34 (10 μM)	3.18	± 0.52	38.7	± 2.42	86.0	14.0
	+ M34 (100 μM)	1.96	± 0.25	13.8	± 0.68	30.6	69.4
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	3.27	± 0.74	45.9	± 4.42	100	0
	+ PCI-45227(M37) (0.1 μM)	2.69	± 0.30	49.3	± 2.08	107	NI
	+ PCI-45227(M37) (1 μM)	2.99	± 0.62	50.3	± 2.11	110	NI
	+ PCI-45227(M37) (10 μM)	2.79	± 0.45	39.1	± 1.35	85.2	14.8
	+ PCI-45227(M37) (100 μM)	2.60	± 0.38	12.1	± 0.62	26.3	73.7

Additional InformationIC₅₀ values for ibrutinib, PCI-45227(M37) and M34 of 26.4 μM, 36.6 μM and 47.9 μM, respectively were determined.For M23 and M25 of a maximal inhibition of OATP1B1 mediated ³H-EG transport of 26.5% and 50.2% at the highest concentration tested (100 μM) was observed.

(\$): Net influx rate

BSA = bovine serum albumin; EG = estradiol-17β-glucuronide; HEK = human embryonic kidney; NI = no inhibition

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Study No. ■-028-V-X-TS (FK10654)

Location in CTD: 4.2.2.6.6

Type of Study:	In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of OATP1B1 and OATP1B3 transport in HEK293 cell lines stably transfected with OATP1B1 or OATP1B3						
Tabulated Results							
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration) ^a	HEK293 – Mock		HEK293 – OATP1B3		Transport (%)	Inhibition (%)
		Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)		Rate of Transport (\$ (pmol/mg membrane protein/min)			
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	2.56	± 0.28	17.5	± 0.48	100	0
	+ cyclosporin A (25 μM) (Reference Inhibitor)	2.65	± 0.55	-0.13	± 0.15	0	100
	+ rifampicin (25 μM) (Reference Inhibitor)	2.44	± 0.25	0.14	± 0.16	0.8	99.2
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	2.56	± 0.28	17.5	± 0.48	100	0
	+ ibrutinib (0.03/0.02 μM)	3.13	± 0.59	16.4	± 0.36	93.7	6.33
	+ ibrutinib (0.3/0.21 μM)	2.99	± 0.30	15.0	± 0.12	85.8	14.2
	+ ibrutinib (1/0.74 μM)	2.33	± 0.14	15.3	± 0.41	87.7	12.3
	+ ibrutinib (3/2.18 μM)	2.83	± 0.41	14.9	± 0.65	85.3	14.7
	+ ibrutinib (10/7.84 μM)	2.69	± 0.66	12.2	± 0.93	69.8	30.2
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	3.26	± 0.52	15.2	± 0.23	100	0
	+ M23 (0.03/0.01 μM)	4.30	± 0.63	15.4	± 0.29	101	NI
	+ M23 (0.3/0.10 μM)	4.79	± 0.73	14.8	± 0.79	97.8	2.17
	+ M23 (1/0.39 μM)	3.10	± 0.27	12.4	± 0.59	81.9	18.1
	+ M23 (3/1.14 μM)	3.02	± 0.39	13.4	± 0.38	88.1	11.9
	+ M23 (10/4.71 μM)	3.62	± 0.22	13.6	± 0.41	89.4	10.6
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	2.39	± 0.13	16.6	± 0.48	100	0
	+ M25 (0.03/0.03 μM)	2.96	± 0.40	17.8	± 1.04	107	NI
	+ M25 (0.3/0.32 μM)	3.04	± 0.35	17.5	± 0.83	105	NI
	+ M25 (1/1.03 μM)	3.21	± 0.40	13.2	± 1.09	79.4	20.6
	+ M25 (3/3.24 μM)	3.24	± 0.41	13.3	± 1.13	80.2	19.8
	+ M25 (10/9.22 μM)	3.55	± 0.73	10.6	± 0.75	64.1	35.9
(Continued)							

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Study No. ■-028-V-X-TS (FK10654)

Location in CTD: 4.2.2.6.6

Type of Study:	In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of OATP1B1 and OATP1B3 transport in HEK293 cell lines stably transfected with OATP1B1 or OATP1B3				
Tabulated Results					
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration) ^a	HEK293 – Mock	HEK293 – OATP1B3	Transport (%)	Inhibition (%)
		Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)	Rate of Transport (\$ (pmol/mg membrane protein/min)		
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	2.87 ± 0.25	18.2 ± 1.20	100	0
	+ M34 (0.03/0.03 μM)	3.43 ± 0.42	18.0 ± 1.09	99.4	0.59
	+ M34 (0.3/0.27 μM)	3.07 ± 0.69	18.1 ± 1.61	99.5	0.45
	+ M34 (1/0.90 μM)	2.94 ± 0.33	14.2 ± 0.62	78.4	21.6
	+ M34 (3/2.75 μM)	3.59 ± 0.66	13.6 ± 0.54	75.2	24.8
	+ M34 (10/9.04 μM)	2.77 ± 0.61	11.7 ± 0.27	64.3	35.7
³ H-EG (1 μM) (Control substrate)	-	2.41 ± 0.48	17.9 ± 0.52	100	0
	+ PCI-45227 (M37) (0.03/0.02 μM)	2.85 ± 0.34	17.5 ± 1.29	97.9	2.10
	+ PCI-45227 (M37) (0.3/0.26 μM)	3.17 ± 0.66	16.9 ± 1.85	94.5	5.50
	+ PCI-45227 (M37) (1/0.85 μM)	3.21 ± 0.45	14.6 ± 0.98	81.5	18.5
	+ PCI-45227 (M37) (3/2.60 μM)	3.86 ± 0.54	12.9 ± 0.48	72.2	27.8
	+ PCI-45227 (M37) (10/9.25 μM)	3.99 ± 0.64	11.0 ± 0.71	61.6	38.4

Additional Information

A maximal inhibition of ³H-EG transport of 30.2, 38.4, 35.7, 35.9 and 10.6 % was observed at the highest concentration tested (10 μM) for ibrutinib, PCI-45227(M37), M34, M25 and M23, respectively.

(\$): Net influx rate

^a Concentration listed as (theoretical/experimental measured at end of incubation) for ibrutinib, PCI-45227 (M37), M34, M25 and M23

BSA = bovine serum albumin; EG = estradiol-17β-glucuronide; HEK = human embryonic kidney; NI = no inhibition

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Study No. ■-025-V-X-TS (FK10656)

Location in CTD: 4.2.2.6.7

Type of Study:	In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of OAT1 and OCT2 transport in CHO cell lines stably transfected with OAT1 or OCT2						
Method	Test system: CHO cell lines, parental and overexpressing OAT1 (<i>SLC22A6</i>) or OCT2 (<i>SLC22A2</i>), triplicate determinations Experiment was performed in the presence of 1% BSA. Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below						
Tabulated Results							
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	CHO – Parental		CHO – OAT1		Transport (%)	Inhibition (%)
		Rate of Transport		Rate of Transport (\$)			
		(pmol/mg membrane protein/min)		(pmol/mg membrane protein/min)			
¹⁴ C-PAH (5 μM) (Control substrate)	-	2.61	± 0.41	112	± 4.31	100	0
	+ probenecid (300 μM) (Reference Inhibitor)	2.48	± 0.10	15.7	± 0.76	14.0	86.0
¹⁴ C-PAH (5 μM) (Control substrate)	-	2.58	± 0.20	121	± 3.77	100	0
	+ ibrutinib (10 μM)	2.45	± 0.41	133	± 5.92	109	NI
	+ ibrutinib (30 μM)	2.13	± 0.38	151	± 10.2	125	NI
	+ ibrutinib (100 μM) (*)	2.73	± 0.45	168	± 20.6	139	NI
¹⁴ C-PAH (5 μM) (Control substrate)	-	4.84	± 2.13	82.7	± 11.9	100	0
	+ M23 (10 μM)	10.5	± 3.08	84.6	± 3.62	102	NI
	+ M23 (30 μM)	12.6	± 1.12	92.5	± 0.70	112	NI
	+ M23 (100 μM) (*)	6.40	± 0.98	118	± 24.7	143	NI
¹⁴ C-PAH (5 μM) (Control substrate)	-	4.54	± 0.15	102	± 7.02	100	0
	+ M25 (10 μM)	4.99	± 1.11	98.6	± 10.3	96.3	3.70
	+ M25 (30 μM)	4.21	± 0.71	94.4	± 5.12	92.2	7.78
	+ M25 (100 μM)	5.18	± 0.70	86.3	± 4.62	84.3	15.7
¹⁴ C-PAH (5 μM) (Control substrate)	-	2.85	± 0.80	114	± 15.4	100	0
	+ M34 (10 μM)	3.72	± 0.99	98.0	± 3.91	85.7	14.3
	+ M34 (30 μM)	3.25	± 0.34	102	± 8.92	89.4	10.6
	+ M34 (100 μM) (*)	3.65	± 1.16	124	± 7.73	109	NI
¹⁴ C-PAH (5 μM) (Control substrate)	-	2.32	± 0.31	122	± 3.78	100	0
	+ PCI-45227(M37) (10 μM)	2.85	± 0.48	133	± 4.82	109	NI
	+ PCI-45227(M37) (30 μM)	2.00	± 0.19	139	± 9.15	114	NI
	+ PCI-45227(M37) (100 μM) (*)	2.37	± 0.43	165	± 5.80	135	NI

Additional Information

No inhibition of ¹⁴C-PAH transport was observed for ibrutinib, PCI-45227(M37), M34, M23 up to the highest nominal concentration of 100 μM tested. A slight inhibition of ¹⁴C-PAH transport was observed for M25 with an IC₅₀ > 100 μM (15.7% inhibition).

(\$): Net influx rate, (*): cloudy medium, compound was not completely solubilized at the highest concentration

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Study No. ■-025-V-X-TS (FK10656)

Location in CTD: 4.2.2.6.7

Type of Study: In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of OAT1 and OCT2 transport in CHO cell lines stably transfected with OAT1 or OCT2

Tabulated Results							
		CHO – Parental		CHO – OCT2		Transport (%)	Inhibition (%)
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)		Rate of Transport (\$) (pmol/mg membrane protein/min)			
¹⁴ C-metformin (10 μM) (Control substrate)	-	2.29	± 0.53	30.1	± 3.43	100	0
	+ verapamil (93 μM) (Reference Inhibitor)	3.47	± 0.33	0.35	± 0.85	1.17	98.8
	+ quinidine (300 μM) (Reference Inhibitor)	3.07	± 0.32	0.07	± 0.87	0.23	99.8
¹⁴ C-metformin (10 μM) (Control substrate)	+ ibrutinib (0.1 μM)	2.03	± 0.57	28.5	± 1.26	94.8	5.23
	+ ibrutinib (1 μM)	2.78	± 0.37	23.8	± 1.57	79.3	20.7
	+ ibrutinib (10 μM)	2.23	± 0.45	8.06	± 0.63	26.8	73.2
	+ ibrutinib (100 μM)	2.24	± 0.17	0.87	± 0.12	2.89	97.1
¹⁴ C-metformin (10 μM) (Control substrate)	+ M23 (0.096 μM)	3.17	± 0.56	34.9	± 2.68	116	NI
	+ M23 (0.96 μM)	3.60	± 0.95	16.2	± 0.72	53.8	46.2
	+ M23 (9.6 μM)	3.26	± 0.91	2.09	± 0.71	6.95	93.1
	+ M23 (96 μM)	4.53	± 0.81	0.20	± 0.65	0.68	99.3
¹⁴ C-metformin (10 μM) (Control substrate)	+ M25 (0.1 μM)	3.15	± 0.92	37.2	± 1.88	124	NI
	+ M25 (1 μM)	4.38	± 1.24	32.3	± 1.28	107	NI
	+ M25 (10 μM)	3.85	± 0.81	33.2	± 2.29	110	NI
	+ M25 (100 μM)	4.29	± 0.03	28.0	± 0.77	93.0	7.03
¹⁴ C-metformin (10 μM) (Control substrate)	+ M34 (0.2 μM)	2.94	± 0.48	34.8	± 3.06	116	NI
	+ M34 (2 μM)	3.67	± 0.25	31.3	± 0.61	104	NI
	+ M34 (20 μM)	5.41	± 2.90	28.0	± 0.96	93.0	6.96
	+ M34 (200 μM)	5.08	± 0.32	7.90	± 0.50	26.3	73.7
¹⁴ C-metformin (10 μM) (Control substrate)	+ PCI-45227(M37) (0.1 μM)	2.41	± 0.78	36.7	± 4.29	122	NI
	+ PCI-45227(M37) (1 μM)	3.78	± 0.85	29.3	± 0.62	97.4	2.64
	+ PCI-45227(M37) (10 μM)	2.73	± 0.43	17.8	± 0.78	59.1	40.9
	+ PCI-45227(M37) (100 μM)	3.62	± 0.59	2.29	± 0.40	7.60	92.4

Additional Information

Minimal inhibition of ¹⁴C-metformin transport was observed for M25 up to the highest concentration tested (100 μM). IC₅₀ values of 3.92, 12.6, 84.8 and 0.95 μM for ibrutinib, PCI-45227(M37), M34 and M23, respectively, were determined

(\$): Net influx rate

BSA = bovine serum albumin; CHO = Chinese Hamster Ovarian; OAT = organic anion transporter; OCT = organic cation transporter; NI = no inhibition; PAH = para-aminohippurate

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Study No. ■-027-V-X-TS (FK10655)

Location in CTD: 4.2.2.6.8

Type of Study:	In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of OAT3 in MDCK II cell lines stably transfected with OAT3
Method	Test system: MDCK II cell lines, parental and overexpressing OAT3 (<i>SLC22A8</i>), triplicate determinations Experiment was performed in the presence of 1% BSA. Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below

Tabulated Results

		MDCK II – Parental		MDCK II – OAT3		Transport (%)	Inhibition (%)
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)		Rate of Transport (\$) (pmol/mg membrane protein/min)			
³ H-Estrone-3-sulfate (2 μM) (Control substrate)	-	0.48	± 0.12	3.07	± 0.22	100	0
	+ probenecid (1000 μM) (Reference Inhibitor)	0.57	± 0.08	0.13	± 0.05	4.2	95.8
	+ furosemide (1000 μM) (Reference Inhibitor)	0.56	± 0.12	0.06	± 0.07	1.9	98.1
³ H-Estrone-3-sulfate (2 μM) (Control substrate)	-	0.48	± 0.12	3.07	± 0.22	100	0
	+ ibrutinib (1 μM)	0.65	± 0.20	2.77	± 0.09	90.1	9.92
	+ ibrutinib (10 μM)	0.64	± 0.12	2.97	± 0.04	96.4	3.56
	+ ibrutinib (25 μM)	0.53	± 0.05	2.43	± 0.28	79.0	21.0
	+ ibrutinib (50 μM)	0.55	± 0.04	1.45	± 0.06	47.1	52.9
	+ ibrutinib (100 μM)	0.60	± 0.10	0.46	± 0.06	15.0	85.0
³ H-Estrone-3-sulfate (2 μM) (Control substrate)	-	0.88	± 0.14	3.13	± 0.09	100	0
	+ PCI-45227(M37) (1 μM)	0.68	± 0.06	3.18	± 0.10	101	NI
	+ PCI-45227(M37) (10 μM)	0.85	± 0.09	3.19	± 0.10	102	NI
	+ PCI-45227(M37) (25 μM)	1.18	± 0.26	2.82	± 0.06	89.9	10.1
	+ PCI-45227(M37) (50 μM)	0.93	± 0.13	2.56	± 0.23	81.8	18.2
	+ PCI-45227(M37) (100 μM)	0.83	± 0.13	1.64	± 0.05	52.4	47.6
³ H-Estrone-3-sulfate (2 μM) (Control substrate)	-	0.91	± 0.11	2.69	± 0.10	100	0
	+ M25 (1 μM)	0.88	± 0.03	3.34	± 0.18	124	NI
	+ M25 (10 μM)	0.97	± 0.13	3.20	± 0.08	119	NI
	+ M25 (25 μM)	0.90	± 0.12	2.30	± 0.04	85.6	14.4
	+ M25 (50 μM)	0.85	± 0.23	1.93	± 0.32	71.7	28.3
	+ M25 (100 μM)	1.02	± 0.14	1.00	± 0.29	37.3	62.7

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Study No. ■-027-V-X-TS (FK10655)

Location in CTD: 4.2.2.6.8

Type of Study: In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of OAT3 in MDCK II cell lines stably transfected with OAT3**Tabulated Results**

Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	MDCK II – Parental		MDCK II – OAT3		Transport (%)	Inhibition (%)
		Rate of Transport		Rate of Transport (\$)			
		(pmol/mg membrane protein/min)		(pmol/mg membrane protein/min)			
³ H-Estrone-3-sulfate (2 μM) (Control substrate)	-	0.92	± 0.21	1.31	± 0.33	100	0
	+ probenecid (1000 μM) (Reference Inhibitor)	0.78	± 0.12	0.01	± 0.11	0.5	99.5
	+ furosemide (1000 μM) (Reference Inhibitor)	1.12	± 0.15	-0.37	± 0.12	-28.2	100
³ H-Estrone-3-sulfate (2 μM) (Control substrate)	-	1.30	± 0.24	2.05	± 0.06	100	0
	+ M34 (0.1 μM)	1.02	± 0.10	2.04	± 0.30 (*)	99.7	0.29
	+ M34 (1 μM)	1.20	± 0.23	2.01	± 0.14	98.4	1.55
	+ M34 (10 μM)	1.18	± 0.12	1.92	± 0.19	93.9	6.06
	+ M34 (100 μM)	0.94	± 0.12	1.03	± 0.05	50.4	49.6
³ H-Estrone-3-sulfate (2 μM) (Control substrate)	-	1.28	± 0.18	1.64	± 0.13	100	0
	+ M23 (0.1 μM)	0.99	± 0.20	2.28	± 0.20	139	NI
	+ M23 (1 μM)	1.16	± 0.17	2.14	± 0.28	130	NI
	+ M23 (10 μM)	1.10	± 0.13	2.13	± 0.15	129	NI
	+ M23 (100 μM)	1.10	± 0.21	1.75	± 0.20	107	NI

Additional InformationNo inhibition was observed for M23 up to 100 μM. IC₅₀ values for ibrutinib, PCI-45227(M37), M34 and M25 were 48.4, >100, >100 and 56.4 μM, respectively.

(\$): Net influx rate, (*): n=2

BSA = bovine serum albumin; OAT = organic anion transporter; MDCK = Madin-Darby canine kidney; NI = no inhibition

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib		
Type of Study: Determination of the P-gp IC ₅₀ value of ibrutinib in the MDR1-MDCK cell line	Study No.: -005-MDCK-X-TI	Location in CTD: 4.2.2.6.9
Method: The IC ₅₀ value for ibrutinib as a P-gp inhibitor in MDR1-MDCK cells was evaluated using loperamide as the P-gp substrate. Cells were incubated with ibrutinib (0.1 to 50 μM or 0.044 to 22.0 μg/mL) and loperamide (5 μM) for 1 hour and transport was measured in basolateral to apical and apical to basolateral directions. The amount of loperamide permeated into receiver compartments was measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry.		
Results: Ibrutinib inhibited the transport of the P-gp substrate loperamide with an IC ₅₀ value of 4.88 μM or 2.15 μg/mL. The positive controls cyclosporine A and ketoconazole also inhibited the efflux of loperamide with IC ₅₀ values of 0.783 and 1.18 μM, respectively. P-gp = P-glycoprotein		

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: M23
Study No. ■-191-V-X-TS (FK10643)
Location in CTD: 4.2.2.6.3

Type of Study:	In vitro evaluation of M23 as inhibitor of P-gp (MDR1) mediated transport in single-transfected LLC-PK1 cell lines
Method	Test system: LLC-PK1 cell lines, parental and overexpressing MDR1 (P-gp, also known as ABCB1), triplicate determinations Experiment was performed in the presence of 1% BSA Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below

Tabulated Results								
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	Direction	LLC-PK1 – Parental		LLC-PK1 – MDR1		Ratio MDR1/ ratio parent	
			P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB	P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	-	AB	1.34 ± 0.08	3.78	1.00 ± 0.13	8.33	2.20	
		BA	5.07 ± 0.14		8.36 ± 0.12			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ GF120918 (5 μM) (Reference inhibitor)	AB	2.52 ± 0.17	0.97	3.26 ± 0.37	0.90	0.93	
		BA	2.43 ± 0.22		2.93 ± 0.30			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M23 (0.11 μM)	AB	1.28 ± 0.06	4.31	0.79 ± 0.04	11.3	2.62	
		BA	5.53 ± 0.24		8.95 ± 0.52			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M23 (0.34 μM)	AB	1.45 ± 0.09	3.91	0.93 ± 0.11	9.49	2.43	
		BA	5.69 ± 0.44		8.80 ± 0.23			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M23 (1.13 μM)	AB	1.60 ± 0.18	3.08	1.10 ± 0.05	8.70	2.82	
		BA	4.92 ± 0.21		9.55 ± 0.31			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M23 (3.39 μM)	AB	1.84 ± 0.13	2.34	1.08 ± 0.04	8.50	3.63	
		BA	4.31 ± 0.31		9.15 ± 0.41			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M23 (11.3 μM)	AB	2.03 ± 0.23	1.42	1.17 ± 0.04	7.60	5.35	
		BA	2.88 ± 0.12		8.91 ± 0.60			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M23 (33.9 μM)	AB	**	**	1.98 ± 0.17	3.54	**	
		BA	**		7.01 ± 0.28			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M23 (113 μM)	AB	**	**	**	**	**	
		BA	**		**			

Additional Information

M23 is not an inhibitor of the P-gp transporter up to 11.3 μM

**Cytotoxic effect of M23 was observed at the higher concentrations of 33.9 μM in the parental cell line and 113 μM in the parental and MDR1-transduced cell line.

AB = apical to basolateral; BA = basolateral to apical; BSA = bovine serum albumin; MDR = multidrug resistance; P_{app} = apparent permeability

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: M25
Study No. ■-157-V-X-TS (FK10576)
Location in CTD: 4.2.2.6.4

Type of Study:	In vitro evaluation of M25 as inhibitor of P-gp (MDR1) mediated transport in single-transfected LLC-PK1 cell lines							
Method	Test system: LLC-PK1 cell lines, parental and overexpressing MDR1 (P-gp, also known as ABCB1), triplicate determinations Experiment was performed in the presence of 1% BSA Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below							
Tabulated Results								
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	Direction	LLC-PK1 – Parental		LLC-PK1 – MDR1		Ratio MDR1/ ratio parent	
			P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB	P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	-	AB	2.21 ± 0.03	1.09	0.75 ± 0.10	12.25	11.24	
		BA	2.40 ± 0.14		9.23 ± 0.47			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ GF120918 (5 μM) (Reference inhibitor)	AB	2.34 ± 0.29	0.90	2.75 ± 0.29	0.94	1.04	
		BA	2.11 ± 0.23		2.58 ± 0.18			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M25 (0.1 μM)	AB	1.92 ± 0.19	1.53	0.66 ± 0.06	14.5	9.48	
		BA	2.95 ± 0.07		9.50 ± 0.35			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M25 (0.3 μM)	AB	2.01 ± 0.20	1.50	0.78 ± 0.06	13.0	8.67	
		BA	3.02 ± 0.11		10.2 ± 0.67			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M25 (1.0 μM)	AB	2.13 ± 0.15	1.30	0.73 ± 0.04	13.2	10.15	
		BA	2.77 ± 0.07		9.54 ± 0.30			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M25 (3.0 μM)	AB	2.28 ± 0.08	1.31	0.84 ± 0.11	12.0	9.16	
		BA	2.98 ± 0.17		10.1 ± 0.63			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M25 (10 μM)	AB	2.05 ± 0.22	1.48	0.86 ± 0.09	11.9	8.04	
		BA	3.03 ± 0.17		10.2 ± 0.51			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M25 (30 μM)	AB	2.12 ± 0.12	1.40	0.82 ± 0.07	12.7	9.07	
		BA	2.96 ± 0.19		10.4 ± 0.32			
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M25 (100 μM)	AB	2.39 ± 0.06	1.22	0.77 ± 0.07	12.5	10.25	
		BA	2.92 ± 0.16		9.60 ± 0.22			

Additional Information

M25 is not an inhibitor of the P-gp transporter up to 100 μM

AB = apical to basolateral; BA = basolateral to apical; BSA = bovine serum albumin; MDR = multidrug resistance; P_{app} = apparent permeability

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: M34
Study No. ■-158-V-X-TS (FK10577)
Location in CTD: 4.2.2.6.5

Type of Study:	In vitro evaluation of M34 as inhibitor of P-gp (MDR1) mediated transport in single-transfected LLC-PK1 cell lines
Method	Test system: LLC-PK1 cell lines, parental and overexpressing MDR1 (P-gp, also known as ABCB1), triplicate determinations Experiment was performed in the presence of 1% BSA Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below

Tabulated Results							
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	Direction	LLC-PK1 – Parental		LLC-PK1 – MDR1		Ratio MDR1/ ratio parent
			P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB	P _{app} (10 ⁻⁶ cm/s)	Ratio BA/AB	
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	-	AB	2.21 ± 0.03	1.09	0.75 ± 0.10	12.3	11.28
		BA	2.40 ± 0.14		9.23 ± 0.47		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ GF120918 (5 μM) (Reference inhibitor)	AB	2.34 ± 0.29	0.90	2.75 ± 0.29	0.94	1.04
		BA	2.11 ± 0.23		2.58 ± 0.18		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M34 (0.1 μM)	AB	1.98 ± 0.02	2.57	0.79 ± 0.06	12.8	4.98
		BA	5.09 ± 0.15		10.1 ± 0.99		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M34 (0.3 μM)	AB	1.99 ± 0.17	2.11	0.69 ± 0.04	14.4	6.82
		BA	4.20 ± 0.21		9.89 ± 0.13		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M34 (1.0 μM)	AB	1.77 ± 0.09	3.02	1.06 ± 0.50	9.61	3.18
		BA	5.34 ± 0.13		10.2 ± 0.76		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M34 (3.0 μM)	AB	1.77 ± 0.11	**	0.64 ± 0.01	15.2	**
		BA	**		9.74 ± 0.39		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M34 (10 μM)	AB	2.51 ± 0.13	1.40	0.70 ± 0.05	15.3	10.93
		BA	3.51 ± 0.06		10.7 ± 0.88		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M34 (30 μM)	AB	2.37 ± 0.16	1.38	0.68 ± 0.06	16.3	11.81
		BA	3.27 ± 0.19		11.1 ± 0.17		
³ H-Digoxin (30 nM) (Control substrate)	+ M34 (100 μM)	AB	2.54 ± 0.24	1.22	0.84 ± 0.02	13.6	11.15
		BA	3.10 ± 0.19		11.4 ± 0.66		

Additional Information

M34 is not an inhibitor of the P-gp transporter up to 100 μM

** Integrity of monolayer could not be guaranteed (high ¹⁴C-mannitol concentrations were measured in the acceptor compartment)AB = apical to basolateral; BA = basolateral to apical; BSA = bovine serum albumin; MDR = multidrug resistance; P_{app} = apparent permeability

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Study No. ■-180-V-X-TS (FK10657)

Location in CTD: 4.2.2.6.10

Type of Study:		In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of BCRP transport in inside-out vesicles							
Method		Test system: inside-out vesicles expressing BCRP (also known as ABCG2), triplicate determinations Experiment was performed in the presence of 1% BSA Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below							
Tabulated Results									
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	ATP-dependent transport (cpm)		Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)		ATP-dependent transport (%)			
³ H-Estrone-3-sulfate (1 μM) (Probe substrate)	-	642	± 65.1	38.5	± 3.90	100	± 10.1		
	+ Ko143 (1 μM) (Reference inhibitor)	35.3	± 47.0	2.12	± 2.82	5.50	± 7.33		
³ H-Estrone-3-sulfate (1 μM) (Probe substrate)	Ibrutinib (0.1 μM)	422	± 71.4	25.3	± 4.28	65.7	± 11.1		
	Ibrutinib (1 μM)	371	± 164	22.2	± 9.86	57.7	± 25.6		
	Ibrutinib (10 μM)	144	± 63.0	8.62	± 3.78	22.4	± 9.81		
	Ibrutinib (100 μM)	-29.7	± 22.3	-1.78	± 1.34	-4.62	± 3.47		
	Ibrutinib (350 μM)	67.0	± 54.0	4.02	± 3.24	10.4	± 8.42		
³ H-Estrone-3-sulfate (1 μM) (Probe substrate)	-	774	± 113	42.2	± 6.17	100	± 14.6		
	+ Ko143 (1 μM) (Reference inhibitor)	62.3	± 28.6	3.40	± 1.56	8.05	± 3.70		
³ H-Estrone-3-sulfate (1 μM) (Probe substrate)	M23 (0.1 μM)	812	± 45.2	44.3	± 2.47	105	± 5.84		
	M23 (1 μM)	847	± 99.4	46.2	± 5.43	109	± 12.8		
	M23 (10 μM)	744	± 153.4	40.6	± 8.37	96.1	± 19.8		
	M23 (100 μM)	142	± 23.1	7.73	± 1.26	18.3	± 2.99		

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)

Study No. ■-180-V-X-TS (FK10657)

Location in CTD: 4.2.2.6.10

Type of Study: In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of BCRP transport in inside-out vesicles				
Tabulated Results				
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	ATP-dependent transport (cpm)	Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)	ATP-dependent transport (%)
³ H-Estrone-3-sulfate (1 μM) (Probe substrate)	-	635 ± 160	32.7 ± 8.23	100 ± 25.2
	+ Ko143 (1 μM) (Reference inhibitor)	-24.7 ± 30.6	-1.27 ± 1.57	-3.88 ± 4.81
³ H-Estrone-3-sulfate (1 μM) (Probe substrate)	M25 (0.1 μM)	561 ± 18.7	28.9 ± 0.97	88.4 ± 2.95
	M25 (1 μM)	687 ± 263	35.4 ± 13.6	108 ± 41.4
	M25 (10 μM)	596 ± 129	30.7 ± 6.65	93.9 ± 20.3
	M25 (100 μM)	366 ± 22.3	18.9 ± 1.15	57.6 ± 3.51
³ H-Estrone-3-sulfate (1 μM) (Probe substrate)	-	488 ± 152	26.5 ± 8.26	100 ± 31.2
	+ Ko143 (1 μM) (Reference inhibitor)	54 ± 73.5	2.91 ± 3.99	11.0 ± 15.1
³ H-Estrone-3-sulfate (1 μM) (Probe substrate)	M34 (0.1 μM)	495 ± 75.5	26.8 ± 4.10	101 ± 15.5
	M34 (1 μM)	545 ± 33.0	29.6 ± 1.79	112 ± 6.76
	M34 (10 μM)	442 ± 104	24.0 ± 5.67	90.5 ± 21.4
	M34 (100 μM)	218 ± 68.5	11.8 ± 3.72	44.7 ± 14.0

(Continued)

2.6.5.15 C 薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：阻害）（続き）

Test Article: Ibrutinib, M23, M25, M34, PCI-45227(M37)
Study No. ■-180-V-X-TS (FK10657)
Location in CTD: 4.2.2.6.10

Type of Study:		In vitro evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227(M37) as inhibitor of BCRP transport in inside-out vesicles					
Tabulated Results							
Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration)	ATP-dependent transport (cpm)		Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)		ATP-dependent transport (%)	
³ H-Estrone-3-sulfate (1 μM) (Probe substrate)	-	558	± 101	31.5	± 5.70	100	± 18.1
	+ Ko143 (1 μM)	-61.0	± 42.6	-3.44	± 2.40	-10.9	± 7.63
	(Reference inhibitor)						
³ H-Estrone-3-sulfate (1 μM) (Probe substrate)	PCI-45227 (M37) (0.1 μM)	509	± 159	28.7	± 8.95	91.2	± 28.4
	PCI-45227 (M37) (1 μM)	383	± 87.9	21.6	± 4.96	68.6	± 15.7
	PCI-45227 (M37) (10 μM)	503	± 57.3	28.4	± 3.23	90.1	± 10.3
	PCI-45227 (M37) (100 μM)	124	± 82.7	6.96	± 4.66	22.1	± 14.8
Additional Information							
Ibrutinib inhibited the BCRP-mediated efflux of ³ H-estrone-3-sulfate with an IC ₅₀ value of 0.99 μM.							
M25 slightly inhibited the BCRP-mediated efflux of ³ H-estrone-3-sulfate with an IC ₅₀ value of > 100 μM, with 42.4% inhibition at highest concentration tested.							
M23 inhibited the BCRP-mediated efflux of ³ H-estrone-3-sulfate with an IC ₅₀ value of 40.6 μM.							
M34 inhibited the BCRP-mediated efflux of ³ H-estrone-3-sulfate with an IC ₅₀ value of 74.4 μM.							
PCI-45227 (M37) inhibited the BCRP-mediated efflux of ³ H-estrone-3-sulfate with an IC ₅₀ value of 90.1 μM.							
BCRP = breast cancer resistance protein; BSA = bovine serum albumin; cpm = counts per minute							

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

Test Article: Ibrutinib

No Tabulation