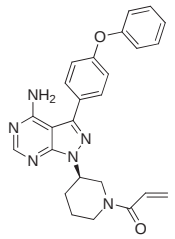
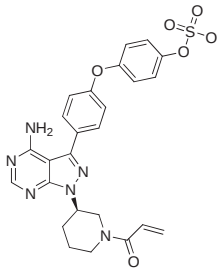
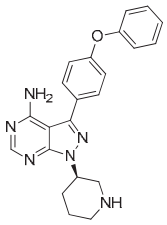
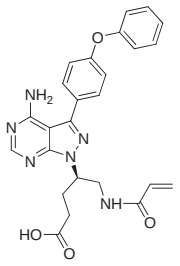
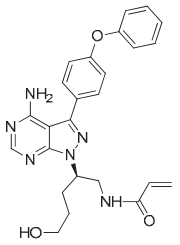
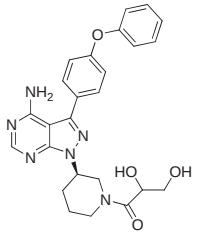
目次

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 6
2.6.4.3 吸収 8
2.6.4.4 分布 9
2.6.4.5 代謝 10
2.6.4.6 排泄 21
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 22
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 35
2.6.4.9 考察及び結論 36
2.6.4.10 図表 37
2.6.4.11 参考文献 39
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-{(3*R*)-3-[4-Amino-3-(4-phenoxyphenyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl]piperidin-1-yl}prop-2-en-1-one		主薬
PCI-45994（JNJ-63788621）	末端フェニル基水酸化体の硫酸抱合体（M21）		代謝物
PCI-7503（JNJ-54243696）	アミド加水分解体（M23）		代謝物
PCI-45741（JNJ-55499730）	ピペリジン環の酸化的開環及びカルボン酸への酸化体（M25）		代謝物
PCI-45752（JNJ-55499743）	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（M34）		代謝物
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
ATP	adenosine triphosphate
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve）
AUCR	AUC 比（AUC ratio）
BCRP	breast cancer resistance protein
BSA	ウシ血清アルブミン（bovine serum albumin）
BTK	ブルトン型チロシンキナーゼ（Bruton’s tyrosine kinase）
CAR	constitutive androstane receptor
CHO	Chinese hamster ovary
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum plasma concentration）
CYP	チトクローム P450（cytochrome P450）
E3S	エストロン-3-硫酸抱合体（estrone-3-sulfate）
EG	エストラジオール-17β-グルクロン酸抱合体（estradiol-17β-glucuronide）
FDA	Food and Drug Administration
GLP	Good Laboratory Practice
HEK	human embryonic kidney
[I]	inhibitor concentration
IC_{50}	50%阻害濃度（50% inhibitory concentration）
k_{deg}	apparent first order degradation rate constant of the affected enzyme
K_i	阻害定数（inhibition constant）
K_I	apparent inactivation constant
k_{inact}	maximal inactivation rate constant
K_{obs}	apparent inactivation rate constant
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィーータンデム質量分析（liquid chromatography-tandem mass spectrometry）
LLC-PK	Lilly Laboratories cell-porcine kidney
LTC	ロイコトリエン C4（leukotriene C4）
MDCK	Madin-Darby canine kidney
MF	メトホルミン（metformin）
M/P	代謝物/未変化体比（metabolite-to-parent ratio）
mRNA	messenger ribonucleic acid
MRP	multidrug resistance-associated protein
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form)
NOAEL	無毒性量（no-observed-adverse-effect level）
OAT	organic anion transporter
OATP	organic anion transporting polypeptide
OCT	organic cation transporter
PAH	パラアミノ馬尿酸（para-aminohippurate）
PBPK	生理学的薬物速度論（physiologically-based pharmacokinetics）
P-gp	P-glycoprotein
TEA	テトラエチルアンモニウム（tetraethylammonium）
TK	トキシコキネティクス（toxicokinetics）

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（PCI-32765，JNJ-54179060）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【1.13 2.6.2.1.1 参照】。また本剤は，イブルチニブ 140 mg を含有する経口投与用の硬ゼラチンカプセル剤であり，国内では「再発又は難治性の慢性リンパ性白血病（小リンパ球性リンパ腫を含む）」の効能・効果，並びに「通常、成人にはイブルチニブとして 420mg を 1 日 1 回経口投与する」用法・用量で平成 26 年に承認申請（初回申請）し，平成 28 年に承認された。

本申請は，「再発又は難治性のマントル細胞リンパ腫」の効能・効果追加にかかわる医薬品製造販売承認事項一部変更承認申請であり，当該適応に対する用量は 560 mg/日を予定している。

イブルチニブの非臨床薬物動態試験は初回申請時に提出した資料に基づき審査されたが，本申請では，マウスを用いた 7 及び 28 日間反復投与毒性試験，ラットを用いた 6 カ月間反復投与毒性試験，イヌを用いた 9 カ月間反復投与毒性試験，並びに妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において，トキシコキネティクス（TK）を評価した。また，イブルチニブの重要なヒト血漿中代謝物の 1 つである M21（末端フェニル基水酸化体の硫酸抱合体）の標品を入手することができたため，M21 を用い，血漿たん白結合，チトクローム P450（CYP）に対する阻害能，並びにトランスポーターに対する基質性及び阻害能について新たに検討した。さらに，イブルチニブ又はその他の重要なヒト血漿中代謝物を用い，CYP に対する誘導及び阻害能，並びにトランスポーターに対する基質性及び阻害能について再度又は新たに検討した。560 mg/日の臨床用量で，イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物が CYP 及びトランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性についても評価した。

今回実施した非臨床薬物動態試験の一覧を薬物動態試験概要表【2.6.5.1 参照】に示す。なお，未変化体と代謝物の曝露量比は，分子量で補正して（モル濃度を用いて）評価した。

2.6.4.1.1 吸収

マウス，ラット，イヌ及び妊娠ウサギを用いた毒性試験においてイブルチニブを反復経口投与したとき，イブルチニブの曝露量は，おおむねイブルチニブの用量の増加とともに増加したが，顕著な個体間変動が認められた。また，マウスでは反復投与により曝露量が減少し，80 mg/kg/日投与群のイヌでは反復投与により曝露量が増加する傾向を示したものの，それ以外では，初回及び反復投与時の曝露量は，おおむね同程度であった。さらに，イブルチニブの曝露量は，マウス及びラットでは雄に比べて雌の方が高かったものの，イヌでは雌雄で同程度であった。

2.6.4.1.2 分布

M21 の *in vitro* ヒト血漿たん白非結合率は 2.8%であり，主にヒト血清アルブミンと結合することが示された。

2.6.4.1.3　代謝

イブルチニブを 560 mg/日の用量でヒトに反復経口投与したとき，定常状態における最高血漿中濃度（C_{max}）は，M23（アミド加水分解体）では未変化体の 10%未満であったが，M21，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），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）及び PCI-45227（M37；ジヒドロジオール体）では未変化体と同程度であった［M21，M25，M34 及び PCI-45227（M37）の代謝物/未変化体 C_{max} 比は 0.7～1.7］。また，定常状態における血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）は，M23 では未変化体の 25%であり，M21，M25，M34 及び M37 では未変化体より大きかった［M21，M25，M34 及び PCI-45227（M37）の代謝物/未変化体 AUC 比は 1.2～2.7］。このように，定常状態における M21，M23，M25，M34 及び PCI-45227（M37）の AUC は未変化体の 25%以上であったことから，これらはイブルチニブの重要なヒト血漿中代謝物であることが示された。また，M23 を除く各代謝物の AUC は総 AUC の 10%超であったことから，M21，M25，M34 及び PCI-45227（M37）は主要なヒト血漿中代謝物であることが示された。すべての重要なヒト血漿中代謝物は，マウス，ラット，イヌ及び妊娠ウサギで認められ，PCI-45227（M37）の曝露量は，おおむね未変化体と同程度であったが，その他の重要なヒト血漿中代謝物である M21，M23，M25 及び M34 の曝露量は，おおむね未変化体より低いか同程度であった。

M21，M23，M25，M34 及び PCI-45227（M37）の BTK 阻害活性は，イブルチニブのそれぞれ約 1/1500，1/80，1/2000，1/200 及び 1/15 であった【2.6.2.6 参照】。*In vivo* における寄与率は不明であるものの，血漿たん白結合率で補正した定常状態における AUC を考慮すると，イブルチニブ投与後の BTK 阻害は，大部分（約 75%）がイブルチニブによるものであり，PCI-45227（M37）は最大 20%寄与するものの，M34 及びその他の重要なヒト血漿中代謝物の寄与はそれぞれ約 5%及び 1%未満であると考えられる【2.6.2.6 参照】。なお，M21，M25 及び M34 は BTK 活性部位の Cys-481 と共有結合するアクリロイル基を有するため，イブルチニブと同様に，理論上 BTK を不可逆的に阻害することができると考えられるが，M23 はアクリロイル基を有しておらず，M37 はアクリロイル基の酸化及び加水分解により生成するため，M23 及び M37 による BTK 阻害は可逆的であると考えられる【2.6.2.6 及び 1.13 2.4.1.4 参照】。

2.6.4.1.4　薬物動態学的薬物相互作用

In vitro 試験結果から，イブルチニブは CYP2B6 の弱い誘導剤であることが示された。したがって，constitutive androstane receptor（CAR）による調節を受ける他の酵素及びトランスポーターの発現にも影響する可能性が考えられる。また，イブルチニブは CYP3A4 の弱い阻害剤であることが示された。

In vitro 試験結果から，イブルチニブは OCT2 基質であること，M21 は BCRP，OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であること，並びに M23，M34 及び PCI-45227（M37）は P-gp 基質であることが示された。また，イブルチニブが全身性の P-gp を阻害する可能性は低いものの，消化管の P-gp 及び BCRP を阻害する可能性は否定することができない。さらに，イブルチニブは全身性の BCRP を，M21 は全身性の BCRP 及び MRP1 を阻害する可能性がある。

2.6.4.2　分析法

イブルチニブ及び PCI-45227（M37）の血漿中濃度は液体クロマトグラフィーータンデム質量分析（LC-MS/MS）法により測定し，初回申請時は[redacted]（マウス），Janssen Research & Development（ラット）及び[redacted]（ラット及びイヌ）で実施したバリデーション試験報告書を提出した【1.13 2.6.4.2.1 参照】。今回実施した GLP 毒性試験で得られた血漿検体は[redacted]で測定する予定であったため，[redacted]でラット，イヌ及びウサギの血漿中濃度定量法バリデーション試験を実施した。しかし，肝機能障害を有する被験者を対象とした臨床試験で得られた血漿検体において，PCI-45227（M37）の内標準物質と同じマストランジション及び保持時間を有する内因性の干渉物質が認められ【1.13 2.7.1.1.3.2】，この干渉物質は胆汁酸（タウロコール酸及びその代謝物）であると同定された。これらの胆汁酸は，肝機能が正常な被験者及び健康な動物でも存在するものの，その濃度は非常に低く，また動物において肝臓は毒性標的器官ではないため，これまで実施した非臨床試験では検出されておらず，今回実施した毒性試験でも検出される可能性は低いと考えられる。しかし，その可能性を完全に排除するために，PCI-45227（M37）の内標準物質と内因性の干渉物質をクロマトグラム上で分離できるように分析法を変更し，[redacted]でマウス，ラット，イヌ及びウサギの血漿中濃度定量法バリデーション試験を実施した。今回実施したイブルチニブ及び PCI-45227（M37）のバリデーション試験結果を，それぞれ表 2.6.4-1 及び表 2.6.4-2 に示す。イブルチニブ及び PCI-45227（M37）の定量下限は 1 ng/mL であった。なお，検体の処理方法及び保存条件は変更していないため，実施済みの安定性データを利用することは可能であると考えられる。

M23，M25 及び M34 の血漿中濃度は qualified LC-MS/MS 法により測定し，TK 試験におけるそれらの定量下限は 0.1 ng/mL 以上であった。また，M21 の血漿中濃度は，既知の放射能濃度を含むサンプルを用いて MS レスポンスを比較することによる半定量分析，又は qualified LC-MS/MS 法（定量下限は 0.5 ng/mL 以上）により測定した。

In vitro トランスポーター試験では，^{14}C-イブルチニブも用いた（図 2.6.4-1）。

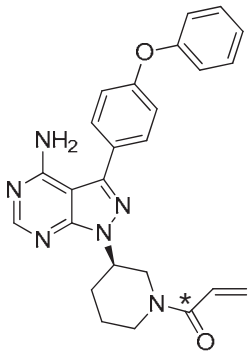


図 2.6.4-1 ^{14}C-イブルチニブの化学構造式

* denotes position of [^{14}C] label.

表 2.6.4-1 血漿中イブルチニブ濃度定量法バリデーションの概要

Testing Facility	Species	Anticoagulant	Validated Range (ng/mL)	Stability Time RT/ice (h)	Stability Time LTS at -20/-70°C (days)	F/T Cycles	Study Reference	Supported GLP Studies
[redacted]	Mouse	Na heparin	1.00 - 500	18/18 [a]	57/57 [a]	3 [a]	【4.2.2.1.4】	28-Day Study
	Rat	Na heparin	1.00 - 500	6.5/-	-	3	【4.2.2.1.1】	-
	Rat	Na heparin	1.00 - 500	6.5/- [b]	146/146	3 [b]	【4.2.2.1.5】	6-Month Study
	Dog	Na heparin	1.00 - 500	-/4.25	-	3	【4.2.2.1.2】	-
	Dog	Na heparin	1.00 - 500	-/4.25 [c]	157/157	3 [c]	【4.2.2.1.6】	9-Month Study
	Rabbit	Na heparin	1.00 - 500	6/-	-	3	【4.2.2.1.3】	-
	Rabbit	Na heparin	1.00 - 500	6/- [d]	-/118	3 [d]	【4.2.2.1.7】	Embryo/Fetal Development Study

[a]【1.13 2.6.4.2.1.1】, [b]【4.2.2.1.1】, [c]【4.2.2.1.2】, [d]【4.2.2.1.3】
F/T = freeze/thaw; GLP = good laboratory practice; LTS = long-term stability; Na heparin = sodium heparin; RT = room temperature

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

Testing Facility	Species	Anticoagulant	Validated Range (ng/mL)	Stability Time RT/ice (h)	Stability Time LTS at -20/-70°C (days)	F/T Cycles	Study Reference	Supported GLP Studies
[redacted]	Mouse	Na heparin	1.00 - 500	18/18 [a]	57/57 [a]	3 [a]	【4.2.2.1.4】	28-Day Study
	Rat	Na heparin	1.00 - 500	6.5/-	-	3	【4.2.2.1.1】	-
	Rat	Na heparin	1.00 - 500	6.5/- [b]	146/146	3 [b]	【4.2.2.1.5】	6-Month Study
	Dog	Na heparin	1.00 - 500	-/4.25	-	3	【4.2.2.1.2】	-
	Dog	Na heparin	1.00 - 500	-/4.25 [c]	157/157	3 [c]	【4.2.2.1.6】	9-Month Study
	Rabbit	Na heparin	1.00 - 500	6/-	-	3	【4.2.2.1.3】	-
	Rabbit	Na heparin	1.00 - 500	6/- [d]	-/118	3 [d]	【4.2.2.1.7】	Embryo/Fetal Development Study

[a]【1.13 2.6.4.2.1.1】, [b]【4.2.2.1.1】, [c]【4.2.2.1.2】, [d]【4.2.2.1.3】
F/T = freeze/thaw; GLP = good laboratory practice; LTS = long-term stability; Na heparin = sodium heparin; RT = room temperature

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 マウス

【参考資料 4.2.3.4.2.1，参考資料 4.2.3.4.2.2】

マウスを用いた 7 日間及び 28 日間反復投与毒性試験において，TK を評価した【2.6.5.4A 参照】。

マウスにイブルチニブを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，初回投与後に比べて反復投与後の曝露量は，イブルチニブではおおむね同程度～若干低く，PCI-45227（M37）ではおおむね同程度であった。さらに，雄に比べて雌の曝露量は，イブルチニブ及び PCI-45227（M37）ともに同程度～3 倍高かった。28 日間反復投与毒性試験の無毒性量（NOAEL；雌雄とも 1000 mg/kg/日）における AUC は，PCI-45227（M37）では未変化体より最高 4 倍高く，M21，M23，M25，M34 ではそれぞれ未変化体の 101，1，62 及び 14%以下であった。

2.6.4.3.2 ラット

【評価資料 4.2.3.2.1】

ラットを用いた 6 カ月間反復投与毒性試験において，TK を評価した【2.6.5.4B 参照】。

ラットにイブルチニブを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，イブルチニブ及び PCI-45227（M37）の曝露量は，初回及び反復投与後でおおむね同程度であり，雄に比べて雌の方が 2～3 倍高かった。NOAEL（雄は 100 mg/kg/日，雌は 50 mg/kg/日）における AUC は，PCI-45227（M37）では未変化体と同程度～若干低く，M21，M25，M34 ではそれぞれ未変化体の 25，5 及び 4%以下であり，M23 では大部分が定量下限未満であったため評価できなかった。

2.6.4.3.3 イヌ

【評価資料 4.2.3.2.2】

イヌを用いた 9 カ月間反復投与毒性試験において，TK を評価した【2.6.5.4C 参照】。

イヌにイブルチニブを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が，顕著な個体間変動が認められた。また，イブルチニブ及び PCI-45227（M37）の曝露量は，高用量（80 mg/kg/日）群では若干累積が認められたものの，いずれの投与群においても顕著な性差は認められなかった。NOAEL（雌雄とも 80 mg/kg/日）における AUC は，M21，M23，M25，M34 及び PCI-45227（M37）ではそれぞれ未変化体の 67，1，2，43 及び 35%以下であった。

2.6.4.3.4 ウサギ

【評価資料 4.2.3.5.2.1】

妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において，TK を評価した【2.6.5.7 参照】。

妊娠ウサギにイブルチニブを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，イブルチニブの曝露量は，初回及び反復投与後でおおむね同程度であった。PCI-45227（M37）の AUC は未変化体と同程度であり，M21，M23，M25，M34 の AUC はそれぞれ未変化体の 3，9，87 及び 28%以下であった。

2.6.4.3.5 ヒト

ヒトにおける曝露量は，2.6.4.5.1.5 に記載する。

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 たん白結合

【評価資料 4.2.2.3.1】

M21 の *in vitro* 血漿たん白結合について検討した【2.6.5.6 参照】。ヒト血漿中における 500 ng/mL の濃度での M21 のたん白非結合率を，イブルチニブ及びその他の重要なヒト血漿中代謝物とともに表 2.6.4-3 に示す。

M21 のヒト血漿たん白非結合率は 2.8%であり，この値はイブルチニブ（2.7%）と同程度であった。また，イブルチニブと同様に，M21 は主にヒト血清アルブミンと結合することが示された。

表 2.6.4-3 ヒト血漿中におけるイブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物のたん白非結合率

Test Article	F_u (%)	Source
Ibrutinib	2.7	【1.13 2.6.5.6B】
M21	2.8	【4.2.2.3.1】
M23	7.7	【1.13 2.6.5.6A】
M25	25.5	【1.13 2.6.5.6A】
M34	22.9	【1.13 2.6.5.6A】
PCI-45227 (M37)	9.0	【1.13 2.6.5.6A】

F_u = unbound fraction

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 *In vivo* 試験

マウス，ラット，イヌ，妊娠ウサギ及びヒトにイブルチニブを反復経口投与したときの重要なヒト血漿中代謝物について，C_{max} 及び AUC の平均値を用いて代謝物/未変化体比（M/P）を算出した。詳細を，以下及び図（図 2.6.4-2 及び図 2.6.4-3）に示す。なお，動物及びヒトの曝露量比較は【2.4.3.6】に記載する。

2.6.4.5.1.1 マウス

【参考資料 4.2.3.4.2.2】

マウスを用いた 28 日間反復投与毒性試験において，雌雄マウスにイブルチニブを 100，500 及び 1000 mg/kg/日の用量で反復経口投与したときの，Day 1 及び 28 におけるイブルチニブ及び PCI-45227（M37）の曝露量，並びに Day 28 における M21，M23，M25 及び M34 の曝露量を測定した【2.6.5.4A 参照】。

イブルチニブ及び各代謝物の曝露量は，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，雌の曝露量は，雄に比べておおむね高かった。

PCI-45227（M37）の曝露量は未変化体に比べて高かった。C_{max} の M/P は，雄で 1.79～2.17，雌で 1.18～1.26，AUC の M/P は，雄で 2.33～4.15，雌で 1.51～2.17 であった。

M21 の曝露量には用量依存的な傾向が認められた。C_{max} 及び AUC の M/P は，雄ではそれぞれ 0.59～3.29 及び 0.89～2.60 であり，用量が高いほど M/P が低い傾向を示したが，雌ではそれぞれ 1.02～2.05 及び 0.90～1.63 であり，明らかな用量依存性は認められなかった。

M23 の曝露量は未変化体に比べて低かった。C_{max} 及び AUC の M/P は，いずれも 0.01 未満であった。

M25 の曝露量は未変化体に比べておおむね低かった。C_{max} 及び AUC の M/P は，雄ではそれぞれ 0.40～1.14 及び 0.44～0.72 であり，用量が高いほど M/P が低い傾向を示したが，雌ではそれぞれ 0.40～1.01 及び 0.28～0.78 であり，明らかな用量依存性は認められなかった。

M34 の曝露量は未変化体に比べて低かった。C_{max} の M/P は，雄で 0.06～0.13，雌で 0.06～0.15，AUC の M/P は，雄で 0.05～0.14，雌で 0.06～0.13 であった。

2.6.4.5.1.2 ラット

【評価資料 4.2.3.2.1】

ラットを用いた 6 カ月間反復投与毒性試験において，雌雄ラットにイブルチニブを 25，50 及び 100（雄）又は 80（雌） mg/kg/日の用量で反復経口投与したときの，Day 1 及び 177 におけるイブルチニブ及び PCI-45227（M37）の曝露量，並びに Day 42 における M21，M23，M25 及び M34 の曝露量を測定した【2.6.5.4B 参照】。

M23 の血漿中濃度は大部分が定量下限未満であり，評価できなかったが，イブルチニブ及び各代謝物の曝露量は，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 M25 を除き，雌の曝露量は，雄に比べておおむね高かった。

PCI-45227（M37）の曝露量は未変化体に比べて同程度～若干低かった。C_{max} の M/P は，雄で 0.55～0.80，雌で 0.38～0.56，AUC の M/P は，雄で 0.75～1.00，雌で 0.70～0.73 であった。

M21 の曝露量は未変化体に比べて低かった。C_{max} の M/P は，雄で 0.21～0.24，雌で 0.08～0.12，AUC の M/P は，雄で 0.21～0.25，雌で 0.11～0.13 であり，雌に比べて雄の方が高い傾向を示した。

M25 の曝露量は未変化体に比べて低かった。C_{max} の M/P は，雄で 0.08～0.09，雌で 0.02，AUC の M/P は，雄で 0.03～0.05，雌で 0.01 であり，雌に比べて雄の方が若干高い傾向を示した。

M34 の曝露量は未変化体に比べて低かった。C_{max} の M/P は，雄で 0.06，雌で 0.02～0.04，AUC の M/P は，雄で 0.03～0.04，雌で 0.01～0.02 であり，雌に比べて雄の方が若干高い傾向を示した。

2.6.4.5.1.3　イヌ

【評価資料 4.2.3.2.2】

イヌを用いた 9 カ月間反復投与毒性試験において，雌雄イヌにイブルチニブを 30，50 及び 80 mg/kg/日の用量で反復経口投与したときの，Day 1 及び 271 におけるイブルチニブ及び PCI-45227（M37）の曝露量，並びに Day 42 における M21，M23，M25 及び M34 の曝露量を測定した【2.6.5.4C 参照】。

M25 の曝露量は用量間で同程度であったが，イブルチニブ及び各代謝物（M25 を除く）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，いずれの曝露量にも明らかな性差は認められなかった。

PCI-45227（M37）の曝露量は未変化体に比べて低かった。雌雄における C_{max} の M/P は 0.20～0.51，AUC の M/P は 0.33～0.72 であり，用量が高いほど M/P が低い傾向を示した。

M21 の曝露量には用量依存的な傾向が認められた。雌雄における C_{max} の M/P は 0.20～0.85，AUC の M/P は 0.44～2.16 であり，用量が高いほど M/P が低い傾向を示した。

M23 の定量下限を上回る曝露量は最高用量で得られ，その曝露量は未変化体に比べて低かった。雌雄における C_{max} 及び AUC の M/P は 0.01 未満であった。

M25 の曝露量は未変化体に比べて低かった。雌雄における C_{max} の M/P は 0.01～0.10，AUC の M/P は 0.02～0.17 であり，特に最高用量で低い M/P を示した。

M34 の曝露量は低及び中用量では未変化体と同程度であったが，最高用量では未変化体より低かった。雌雄における C_{max} の M/P は 0.18～0.70，AUC の M/P は 0.29～1.65 であった。

2.6.4.5.1.4　ウサギ

【評価資料 4.2.3.5.2.1】

妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において，雌ウサギにイブルチニブを 5，15 及び 45 mg/kg/日の用量で反復経口投与したときの，妊娠 6 及び 19 日におけるイブルチニブ，M21，M23，M25，M34 及び PCI-45227（M37）の曝露量を測定した【2.6.5.7 参照】。

イブルチニブ及び各代謝物の曝露量は，おおむねイブルチニブの用量の増加とともに増加した。

PCI-45227（M37）の曝露量は未変化体と同程度であった。C_{max} の M/P は初回投与では 0.57～1.12，反復投与では 0.63～0.89，AUC の M/P は初回投与では 0.89～1.35，反復投与では 0.72～1.15 であり，用量が高いほど M/P が高い傾向を示した。

M21 の曝露量は未変化体に比べて低かった。初回及び反復投与後の C_{max} の M/P は 0.01～0.03，AUC の M/P は 0.02～0.03 であった。

M23 の曝露量は未変化体に比べて低かった。初回及び反復投与後の C_{max} の M/P は 0.01～0.04，AUC の M/P は 0.05～0.09 であった。

M25 の曝露量は未変化体と同程度であった。初回及び反復投与後の C_{max} の M/P は 0.71～1.20，AUC の M/P は 0.70～0.87 であった。

M34 の曝露量は未変化体に比べて低かった。C_{max} の M/P は初回投与では 0.07～0.12，反復投与では 0.11～0.21，AUC の M/P は初回投与では 0.10～0.15，反復投与では 0.13～0.28 であり，用量が高いほど M/P が高い傾向を示した。

2.6.4.5.1.5　ヒト

【評価資料 4.2.2.4.1】

イブルチニブを 560 mg/日の用量で反復経口投与した臨床試験（PCI-32765FLR2002）で得られた血漿検体（n=20）を用い，M21，M23，M25 及び M34 の曝露量を測定した【2.6.5.10 参照】。なお，血漿検体は，PCI-45227（M37）の曝露量が比較的高値を示した被験者のものを用いた。PCI-45227（M37）を含むすべての重要なヒト血漿中代謝物は CYP3A による代謝を経て生成するため，そのような被験者では M21，M23，M25 及び M34 についても比較的高い曝露量を示すと考えられる。また，$AUC_{0\text{-}24h}$ は，既定の採取時間（投与前，並びに投与後 1，2 及び 4 時間）及び 24 時間値として投与前値を用いて算出した。ヒトにおける 560 mg/日の用量での M21，M23，M25 及び M34 の曝露量を，イブルチニブ及び PCI-45227（M37）とともに表 2.6.4-4 に示す。

M21，M23，M25，M34 及び PCI-45227（M37）の AUC は未変化体の 25%以上であったことから，これらの代謝物は重要なヒト血漿中代謝物であり，薬物相互作用の可能性を評価すべきであることが示された。また，M23 を除く各代謝物の AUC は総 AUC の 10%超であったことから，M21，M25，M34 及び PCI-45227（M37）は主要なヒト血漿中代謝物であり，安全性評価を行う上で考慮すべきであることが示された。

表 2.6.4-4 ヒトにおけるイブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物の曝露量

Test Article	C_{max} (µg/mL)	(µmol/L)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·h/mL)	(µmol·h /L)	% of UD	% of total	Source
Ibrutinib	0.164	0.372	0.953	2.163	NA	11.6	PCYC-1104 CA [a]
M21	0.341	0.635	3.170	5.908	273	31.8	【4.2.2.4.1】
M23	0.010	0.026	0.210	0.543	25.1	2.92	【4.2.2.4.1】
M25	0.267	0.565	1.910	4.042	187	21.7	【4.2.2.4.1】
M34	0.205	0.447	1.500	3.271	151	17.6	【4.2.2.4.1】
PCI-45227 (M37)	0.122	0.257	1.263	2.662	123	14.3	PCYC-1104 CA [a]

[a] 【1.13 2.7.2.5】

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; NA = not applicable; UD = unchanged drug

2.6.4.5.2　酵素誘導及び阻害

2.6.4.5.2.1　酵素誘導

【評価資料 4.2.2.4.2】

実験を通して適切なイブルチニブ濃度が維持されるような試験デザインで，3 例のドナーの培養ヒト肝細胞を用い，CYP1A2 及び CYP2B6 に対するイブルチニブの誘導能について再度検討した【2.6.5.12A 参照】。すなわち，少なくとも最高濃度において，560 mg/日の用量でヒトに反復経口投与したときの非結合型イブルチニブの C_{max} の 50 倍以上の濃度（0.5 μmol/L）を維持できるよう，添加時のイブルチニブの濃度範囲（0.05，0.2，1 及び 2 μmol/L）及びインキュベーション溶媒交換回数（1 日 2 回）等を設定し，インキュベーション溶媒交換時及びインキュベーション終了時にイブルチニブのトラフ濃度を測定することにより確認した。また，この試験条件において，陽性対照として用いたオメプラゾール及びフェノバルビタールは，それぞれ CYP1A2 及び CYP2B6 の mRNA を適切に増加させることを確認した。

1 例のドナーの肝細胞（ロット 8130）において，CYP1A2 mRNA の誘導（溶媒対照の約 140%増）がみられた。しかし，これは 0.5 μmol/L を超えるトラフ濃度（0.691～1.28 μmol/L）のみでみられたものであるため，イブルチニブを 560 mg/日の用量でヒトに反復経口投与したときの誘導能を予測するものではないと考えられる。また，0.5 μmol/L と同程度の濃度（トラフ濃度：0.22～0.63 μmol/L）では，いずれのドナーの肝細胞においても CYP1A2 mRNA の誘導はみられなかった。これらのことから，*in vitro* においてイブルチニブは，560 mg/日の臨床用量における非結合型イブルチニブの C_{max} の 50 倍までの濃度で CYP1A2 を誘導しないと考えられる。

一方，1 及び 2 μmol/L の設定濃度で，CYP2B6 mRNA の誘導（溶媒対照の 2 倍超及び陽性対照の 20%超）がみられた。また，1 μmol/L の設定濃度でのトラフ濃度は 0.22～0.63 μmol/L であった。これらのことから，*in vitro* においてイブルチニブは，560 mg/日の臨床用量における非結合型イブルチニブの C_{max} の 50 倍程度の濃度で CYP2B6 を誘導すると考えられる。しかし，生理学的薬物速度論（PBPK）モデルを用いたシミュレーションでは，560 mg/日のイブルチニブを併用投与したとき，CYP2B6 の基質であるブプロピオンの AUC は減少しないことが予測された【5.3.5.4.2 参照】。

初回申請時に提出した試験【1.13 2.6.4.5.5.1 参照】では，イブルチニブによる CYP3A4 の誘導は認められなかったものの，イブルチニブはヒト肝細胞中で速やかに代謝されるため，この解釈には注意が必要である可能性がある。しかし，これまでに得られた臨床薬物動態試験結果から，イブルチニブは CYP3A4 活性の変動に大きく影響を受ける CYP3A4 基質であることが示されているが【1.13 2.7.2.3.5 参照】，単剤反復投与時のイブルチニブの曝露量は単剤単回投与データから予測可能であること【1.13 2.7.2.2.1.5 参照】を考慮すると，イブルチニブの投与により，臨床上重大な CYP3A4 の誘導が起こる可能性は低いと考えられる。

2.6.4.5.2.2　酵素阻害

【評価資料 4.2.2.4.3，4.2.2.4.4，4.2.2.4.5】

初回申請時に提出した試験結果【1.13 2.6.4.5.5.2 参照】及び追加試験結果【2.6.5.12 B 参照】に基づき，臨床用量の増加に伴い，イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物が主な CYP 分子種を阻害する可能性について再評価した。

(1) イブルチニブ（表 2.6.4-5）

インキュベーション中のイブルチニブの代謝を減らすため，ヒト肝ミクロソームたん白濃度を下げ（0.05 mg/mL），インキュベーション時間を短くして（10 分間），CYP3A4 に対するイブルチニブの可逆的阻害の阻害定数（K_i）について再度検討した。添加時のイブルチニブの濃度範囲は 0.1～30 μmol/L に設定し，インキュベーション終了時に測定した濃度は 0.01～11.4 μmol/L であった。したがって，初回申請時では，インキュベーション終了時の推定濃度に基づき算出した K_i を用いて評価したが【1.13 2.6.4.5.5.2 (1)参照】，本申請では，より信頼性のある K_i を用いて評価することができたと考えられる。

新たに実施した試験において算出した K_i は，設定濃度を用いたときでは 5.79 μmol/L であり，インキュベーション後の濃度を用いた worst case では 1.34 μmol/L であった。また，worst case での K_i 及び PBPK モデルを用いたシミュレーションでは，560 mg のイブルチニブ及び 1 mg のミダゾラムを併用経口投与したとき，CYP3A4 の基質であるミダゾラムの C_{max} 及び AUC は 1.15 倍に増加することが予測された【5.3.5.4.1 参照】。この値は，薬物相互作用に関する FDA のドラフトガイダンスに記載されているカットオフ値（1.25）より低いことから，イブルチニブは併用投与した CYP3A4 基質の曝露量に臨床上重大な影響を及ぼさないと考えられる。

初回申請時に提出した試験【1.13 2.6.4.5.5.2 (1)参照】では，イブルチニブによる CYP3A4 の時間依存的阻害は認められなかったものの，イブルチニブはヒト肝ミクロソーム中で速やかに代謝されるため，この解釈には注意が必要である可能性がある。しかし，これまでに得られた臨床薬物動態試験結果から，イブルチニブは CYP3A4 活性の変動に大きく影響を受ける CYP3A4 基質であることが示されているが【1.13 2.7.2.3.5 参照】，単剤反復投与時のイブルチニブの曝露量は単剤単回投与データから予測可能であること【1.13 2.7.2.2.1.5 参照】を考慮すると，イブルチニブの投与により，臨床上重大な CYP3A4 の時間依存的阻害が起こる可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-5 イブルチニブによる CYP 分子種阻害能

CYP Enzyme	Substrate	Substrate Conc (µmol/L)	Based on nominal ibrutinib levels incubated: IC_{50} (µmol/L)	K_i [a] (µmol/L)	[I]/K_i	AUCR [c]	Prediction	Based on 1/12 of nominal ibrutinib levels incubated as estimated ibrutinib levels at the end of the incubations (worst case) [b]: IC_{50} (µmol/L)	K_i [a] (µmol/L)	[I]/K_i	AUCR [c]	Prediction
1A2	Ethoxyresorufin	1	> 100	> 50	< 0.007	--	remote	> 8.3	> 4.2	< 0.09	--	remote
2B6	Bupropion	100	9.6	4.8	0.08	--	remote	0.80	0.40	0.93	1.14	remote
2C8	Paclitaxel	10	24	12	0.03	--	remote	2.0	1.0	0.37	1.10	remote
2C9	Diclofenac	10	12	6	0.06	--	remote	1.0	0.50	0.74	1.06	remote
2C19	Omeprazole	0.5	13	6.5	0.06	--	remote	1.1	0.54	0.69	1.14	remote
2D6	Dextromethorphan	5	25	12.5	0.03	--	remote	2.1	1.0	0.36	1.09	remote
2E1	Chlorzoxazone	100	NC	> 50	< 0.007	--	remote	NC	> 4.2	< 0.09	--	remote
3A4	Midazolam	5	24	12	$[I]_1/K_i$: 0.03 $[I]_2/K_i$: 29	1.65	weak inhibitor	2.0	1.0	$[I]_1/K_i$: 0.37 $[I]_2/K_i$: 343	2.25	weak inhibitor
3A4	Testosterone	50	20	10	$[I]_1/K_i$: 0.04 $[I]_2/K_i$: 34	1.70	weak inhibitor PBPK simulations predict 1.1-fold increase	1.7	0.83	$[I]_1/K_i$: 0.45 $[I]_2/K_i$: 412	2.30	weak inhibitor PBPK simulations predict 1.6-fold increase
								Based on ibrutinib levels measured at the end of the incubations (worst case)【4.2.2.4.3】				
3A4	Midazolam	0.5-8	NA	5.79				NA	1.34	$[I]_1/K_i$: 0.28 $[I]_2/K_i$: 256	2.18	weak inhibitor PBPK simulations predict 1.15-fold increase 【5.3.5.4.1】

[I] or $[I]_1$ = 0.372 µmol/L (Source:表 2.6.4-4)

$[I]_2$ = 343 µmol/L (Solubility in FeSSIF; Source:【1.13 2.6.4.5.5.2 (1)】)

[a] Assuming competitive inhibition.

[b] Worst case value taking into account a maximal (12-fold) decline in ibrutinib concentrations during 15-min incubation【1.13 2.6.4.5.5.2 (1)】.

[c] AUC ratio with and without inhibitor calculated according to the mechanistic static equation in the FDA 2012 Draft DDI Guidance.

CYP = cytochrome P450; DDI = drug-drug interaction; FDA = Food and Drug Administration; FeSSIF = Fed State Simulated Intestinal Fluid; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; K_i = inhibition constant; NA = not applicable; NC = not calculated due to no inhibition up to the highest (nominal) concentration of 100 µmol/L tested

イブルチニブ（設定濃度：0.07～50 μmol/L）による CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 の時間依存的阻害について，NADPH 存在下，プレインキュベーションの有無により検討した。すなわち，Berry 等の方法[1]に従い，同じ条件のサテライト実験でプレインキュベーションの実施及び非実施時に測定したイブルチニブ濃度を用いて 50%阻害濃度（IC_{50}）を算出し，評価した。その結果，CYP1A2 では時間依存的阻害は認められなかった。一方，CYP2B6，CYP2C19 及び CYP2D6 では IC_{50} のシフトは 1.11～1.40 であり，軽微な時間依存的阻害であることが示された。また，CYP2C8 及び CYP2C9 では IC_{50} のシフトはそれぞれ 1.62 及び 1.97 であり，中程度の時間依存的阻害であることが示された。なお，重大な時間依存的阻害を示唆する 10 倍超の IC_{50} のシフトは認められなかった。

このように，IC_{50} の最も大きなシフトは CYP2C9 で認められた。このシフトがイブルチニブの代謝物による可逆的阻害によるものではないと仮定し（worst case），プレインキュベーション後の濃度でのイブルチニブによる可逆的阻害を補正した結果，K_I 及び k_{inact} はそれぞれ 6.5 μmol/L 及び 0.015 min^{-1} と算出された。そこで，これらの値を用いて，薬物相互作用に関する FDA のドラフトガイダンスに基づき，イブルチニブの存在下及び非存在下における CYP2C9 を介したクリアランス比を予測した［$R=(K_{obs}+k_{deg})/k_{deg}$，ここで $K_{obs}=k_{inact}\times[I]/(K_I+[I])$，$k_{deg}=0.000322$ min^{-1}（SimCYP version 13 の Sim-S-Warfarin compound file），[I]=0.372 μmol/L（表 2.6.4-4）］。その結果，R は 3.5 と算出された。すなわち，worst case では，イブルチニブによる CYP2C9 の時間依存的阻害により，CYP2C9 基質の曝露量は最大 3.5 倍増加すると予測された。

次に，薬物相互作用に関する FDA のドラフトガイダンスに基づき，静的薬物速度論モデルを用いてイブルチニブの存在下及び非存在下における CYP2C9 基質の AUC 比（AUCR）を予測した［k_{inact}，K_I 及び k_{deg} は上述の値，肝細胞内濃度（$[I]_h$）は 560 mg/日投与時における非結合型イブルチニブの最高門脈中濃度（$[I]_{u,inlet,max}$=0.103 μmol/L），寄与率（f_m）は薬物動態学的薬物相互作用を受けやすい CYP2C9 基質である S-ワルファリンの値（0.98；SimCYP version 13 の Sim-S-Warfarin compound file）］。その結果，AUCR は 1.70 と算出された。すなわち，worst case では，イブルチニブによる CYP2C9 の時間依存的阻害により，S-ワルファリンの曝露量は最大 70%増加すると予測された。

最後に，PBPK モデルを用いて S-ワルファリンの曝露量に及ぼすイブルチニブ併用投与の影響を予測した（k_{inact}，K_I 及び k_{deg} は上述の値，S-ワルファリンは SimCYP version 13 の Sim-S-Warfarin compound file）。その結果，560 mg のイブルチニブ併用投与により，S-ワルファリンの C_{max} は影響を受けず（1.01 倍の増加），AUC は 1.04 倍に増加すると予測された。しかし，この値は薬物相互作用に関する FDA のドラフトガイダンスに記載されているカットオフ値（1.25）より低いことから，イブルチニブは併用投与した S-ワルファリンの曝露量に臨床上重大な影響を及ぼさないと考えられる。

以上のように，イブルチニブによる時間依存的阻害により IC_{50} の最も大きなシフトが認められた CYP 分子種である CYP2C9 について，PBPK モデルを用いたシミュレーションでは，薬物動態学的薬物相互作用を受けやすい CYP2C9 基質である S-ワルファリンの曝露量に臨床上重大な影響を及ぼさないことが示されたことから，イブルチニブの投与により，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 の臨床上重大な時間依存的阻害が生じる可能性は低いと考えられる。

(2) M21（表 2.6.4-6）

M21 は，CYP2C8 の比較的強い阻害薬であり（IC_{50}：9.5 μmol/L），CYP2C9 の弱い阻害薬であるが（IC_{50}：54～75 μmol/L），その他の分子種では阻害はほとんど認められなかった。CYP2C9 については，[I]/K_i が 0.1 未満であったことから，M21 による可逆的阻害により薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。CYP2C8 については，薬物相互作用に関する FDA のドラフトガイダンスに基づき，静的薬物速度論モデルを用い，消化管で代謝されたイブルチニブはすべて M21 に変換され（未変化体のまま門脈に入るイブルチニブの割合は 0.47【1.13 2.6.4.5.5.2 (4)参照】），消化管で生成した M21 はすべて門脈に入ると仮定して（worst case）評価した。その結果，算出された AUCR（1.023）は，薬物相互作用に関する FDA のドラフトガイダンスに記載されているカットオフ値（1.25）より低かったことから，M21 による CYP2C8 の可逆的阻害を介した重大な薬物相互作用が生じる可能性も低いと考えられる。

表 2.6.4-6 M21 による CYP 分子種阻害能

CYP Enzyme	Substrate	Substrate Conc (μmol/L)	IC_{50} (μmol/L)	K_i [a] (μmol/L)	[I]/K_i	AUCR [b]	Prediction
1A2	Phenacetin	80	NC	--	--		remote
2A6	Coumarin	2	NC	--	--		remote
2B6	Bupropion	25	> 100	> 50	< 0.013		remote
2C8	Amodiaquine	2	9.5	4.75	0.134	1.023	remote
2C9	Tolbutamide	100	75	37.5	0.017		remote
2C9	Diclofenac	5	54	27	0.024		remote
2C19	S-Mephenytoin	30	> 100	> 50	< 0.013		remote
2D6	Dextromethorphan	3	97	48.5	0.013		remote
2E1	Chlorzoxazone	45	NC	--	--		remote
3A4	Testosterone	25	> 100	> 50	< 0.013		remote
3A4	Midazolam	2	95	--	--		remote
3A4	Nifedipine	10	98	49	0.013		remote

[I] = 0.635 μmol/L (Source:表 2.6.4-4)

[a] Assuming competitive inhibition.

[b] AUC ratio with and without inhibitor calculated according to the mechanistic static equation in the FDA 2012 Draft DDI Guidance.

CYP = cytochrome P450; DDI = drug-drug interaction; FDA = Food and Drug Administration; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; K_i = inhibitory constant; NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μmol/L tested

(3) M23（表 2.6.4-7）

M23 は，CYP1A2，CYP2A6，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2E1 の阻害薬ではなかったが，CYP2B6，CYP2C8 及び CYP3A4 の弱い阻害薬であり（IC_{50}：51～79 μmol/L），CYP2D6 の比較的強い阻害薬であった（IC_{50}：2.8 μmol/L）【1.13 2.6.4.5.5.2 (2)参照】。しかし，[I]/K_i はいずれも 0.1 未満であったことから，M23 による可逆的阻害により薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-7 M23 による CYP 分子種阻害能

CYP Enzyme	Substrate	Substrate Conc (μmol/L)	IC_{50} (μmol/L)	K_i [a] (μmol/L)	[I]/K_i	Prediction
1A2	Phenacetin	80	NC	--	--	remote
2A6	Coumarin	2	> 100	> 50	< 0.001	remote
2B6	Bupropion	25	51	25.5	0.001	remote
2C8	Amodiaquine	2	79	39.5	< 0.001	remote
2C9	Tolbutamide	100	> 100	> 50	< 0.001	remote
2C9	Diclofenac	5	> 100	> 50	< 0.001	remote
2C19	S-Mephenytoin	30	> 100	> 50	< 0.001	remote
2D6	Dextromethorphan	3	2.8	1.4	0.019	remote
2E1	Chlorzoxazone	45	NC	--	--	remote
3A4	Testosterone	25	76	38	< 0.001	remote
3A4	Midazolam	2	NC	--	--	remote
3A4	Nifedipine	10	57	28.5	< 0.001	remote

[I] = 0.026 μmol/L (Source:表 2.6.4-4)
[a] Assuming competitive inhibition.
CYP = cytochrome P450; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; K_i = inhibitory constant; NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μmol/L tested

(4) M25（表 2.6.4-8）

M25 は，CYP2C8 の弱い阻害薬であるが（IC_{50}：78 μmol/L），その他の分子種では阻害はほとんど認められなかった【1.13 2.6.4.5.5.2 (3)参照】。また，[I]/K_i はいずれも 0.1 未満であったことから，M25 による可逆的阻害により薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-8 M25 による CYP 分子種阻害能

CYP Enzyme	Substrate	Substrate Conc (μmol/L)	IC_{50} (μmol/L)	K_i [a] (μmol/L)	[I]/K_i	Prediction
1A2	Phenacetin	80	NC	--	--	remote
2A6	Coumarin	2	NC	--	--	remote
2B6	Bupropion	25	NC	--	--	remote
2C8	Amodiaquine	2	78	39	0.014	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	> 50	< 0.011	remote
3A4	Nifedipine	10	> 100	> 50	< 0.011	remote

[I] = 0.565 μmol/L (Source:表 2.6.4-4)
[a] Assuming competitive inhibition.
CYP = cytochrome P450; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; K_i = inhibitory constant; NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μmol/L tested

(5) M34（表 2.6.4-9）

M34 は，テストステロンを基質に用いたときの CYP3A4 を除き（IC_{50}：7.6 μmol/L），CYP1A2，CYP2A6，CYP2B6，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP2E1 の阻害薬ではなかったが，CYP2C8，CYP2C9 及び CYP3A4 の弱い阻害薬であった（IC_{50}：22～76 μmol/L）【1.13 2.6.4.5.5.2 (4)参照】。しかし，[I]/K_i はいずれも 0.1 未満であったことから，M34 による可逆的阻害により薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。テストステロンを基質に用いたときの CYP3A4 については，薬物相互作用に関する FDA のドラフトガイダンスに基づき，静的薬物速度論モデルを用い，消化管で代謝されたイブルチニブはすべて M34 に変換され（未変化体のまま門脈に入るイブルチニブの割合は 0.47【1.13 2.6.4.5.5.2 (4)参照】），消化管で生成した M34 はすべて門脈に入ると仮定して（worst case）評価した。その結果，算出された AUCR（1.19）は，薬物相互作用に関する FDA のドラフトガイダンスに記載されているカットオフ値（1.25）より低かったことから，M34 による CYP3A4 の可逆的阻害を介した重大な薬物相互作用が生じる可能性も低いと考えられる。また，これまでに得られた臨床薬物動態試験結果から，イブルチニブは CYP3A4 活性の変動に非常に影響される CYP3A4 基質であることが示されているが【1.13 2.7.2.3.5 参照】，イブルチニブの曝露量は用量にほぼ比例して増加すること【1.13 2.7.2.2.1.5 参照】を考慮すると，イブルチニブの投与時に生成した M34 により，臨床上重大な CYP3A4 の阻害が起こる可能性も低いと考えられる。

表 2.6.4-9 M34 による CYP 分子種阻害能

CYP Enzyme	Substrate	Substrate Conc (μmol/L)	IC_{50} (μmol/L)	K_i [a] (μmol/L)	[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	0.026	--	remote
2C9	Tolbutamide	100	26	13	0.034	--	remote
2C9	Diclofenac	5	29	14.5	0.031	--	remote
2C19	S-Mephenytoin	30	> 100	> 50	< 0.009	--	remote
2D6	Dextromethorphan	3	> 100	> 50	< 0.009	--	remote
2E1	Chlorzoxazone	45	> 100	> 50	< 0.009	--	remote
3A4	Testosterone	25	7.6	3.8	0.118	1.19	remote
3A4	Midazolam	2	76	38	0.012	--	remote
3A4	Nifedipine	10	22	11	0.041	--	remote

[I] = 0.447 μmol/L (Source:表 2.6.4-4)
[a] Assuming competitive inhibition.
[b] AUC ratio with and without inhibitor calculated according to the mechanistic static equation in the FDA 2012 Draft DDI Guidance.
CYP = cytochrome P450; DDI = drug-drug interaction; FDA = Food and Drug Administration; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; K_i = inhibitory constant; NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 μmol/L tested

(6) PCI-45227（M37）（表 2.6.4-10）

PCI-45227（M37）は，CYP1A2，CYP2C19，CYP2E1 及び CYP3A4 の阻害薬ではなかったが，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9 及び CYP2D6 の弱い阻害薬であった（IC_{50}：17～76 µmol/L）【1.13 2.6.4.5.5.2 (5)参照】。しかし，[I]/K_i はいずれも 0.1 未満であったことから，PCI-45227（M37）による可逆的阻害により薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-10 PCI-45227（M37）による CYP 分子種阻害能

CYP Enzyme	Substrate	Substrate Conc (µmol/L)	IC_{50} (µmol/L)	K_i [a] (µmol/L)	[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	Midazolam	5	NC	--	--	remote
3A4	Testosterone	50	> 100	--	--	remote

[I] = 0.257 µmol/L (Source:表 2.6.4-4)
[a] Assuming competitive inhibition.
CYP = cytochrome P450; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; K_i = inhibitory constant; NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 µmol/L tested

2.6.4.6 排泄

該当資料なし

2.6.4.7　薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1　トランスポーターを介した薬物相互作用

2.6.4.7.1.1　イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物を輸送するトランスポーター

【評価資料 4.2.2.6.1，4.2.2.6.2，4.2.2.6.3，4.2.2.6.4，4.2.2.6.5，4.2.2.6.6，4.2.2.6.7，4.2.2.6.8】

イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物のトランスポーター基質性について，今回実施した試験結果を薬物動態試験概要表【2.6.5.15A 参照】に示す。

(1) P-gp，BCRP 及び MRP1

1) P-gp

P-gp を過剰発現させた LLC-PK1 細胞及びその親細胞を用い，頂側膜側から側底膜側及び側底膜側から頂側膜側への透過を測定することにより P-gp を介した M21 の輸送について検討した。M21 は 0.2 及び 1 μmol/L の設定濃度で実験を行い，インキュベーション後の回収率は 79.0～100%であった。P-gp 基質として ^{3}H-ジゴキシン（0.03 μmol/L）及び P-gp 阻害剤として GF120918（5 μmol/L）を用いた。

GF120918 の有無にかかわらず，0.2 及び 1 μmol/L の設定濃度における M21 の efflux ratio は約 1 であり，M21 は P-gp の基質ではないことが示された。

2) BCRP

BCRP を過剰発現させた反転膜小胞及びコントロールの反転膜小胞を用い，BCRP を介したイブルチニブ，M21 及び PCI-45227（M37）の輸送について検討した。各被験物質は 0.2 及び 1 μmol/L の設定濃度で実験を行い，インキュベーション後の濃度は，イブルチニブでは 0.1～0.6 μmol/L，PCI-45227（M37）では 0.2～1.0 μmol/L であった（M21 では測定せず）。BCRP 基質として ^{3}H-エストロン-3-硫酸抱合体（^{3}H-E3S，1 μmol/L）及び BCRP 阻害剤として KO143（1 μmol/L）を用いた。また，受動輸送とトランスポーターを介した取込みを区別するために，ATP の存在下及び非存在下でインキュベーションを行った。^{3}H-E3S の ATP 依存性の取込みは，コントロール小胞に比べて BCRP 発現小胞の方が高く，KO143 によりほぼ完全に阻害された。

イブルチニブ及び PCI-45227（M37）の取込みは，ATP の有無にかかわらず両小胞で同程度であり，BCRP 発現小胞における ATP の存在下及び非存在下での取込み比は 0.74～1.10 であった。また，KO143 の阻害効果も認められなかった。一方，M21 の取込みには濃度依存性がみられ，1 μmol/L の設定濃度での ATP 依存性の取込み活性は，0.2 μmol/L に比べて約 4～5 倍高かった。また，検討したすべての条件において，KO143 は M21 の取込みをほぼ完全に阻害した。

以上のことから，*in vitro* において，検討した濃度でイブルチニブ及び PCI-45227（M37）は BCRP 基質ではないが，M21 は BCRP 基質であることが示された。

3) MRP1

MRP1 を過剰発現させた反転膜小胞及びコントロールの反転膜小胞を用い，MRP1 を介したイブルチニブ及び PCI-45227（M37）の輸送について検討した。両被験物質は 0.2 及び 1 μmol/L の設定濃度で実験を行い，インキュベーション後の濃度は，イブルチニブでは 0.1～0.6 μmol/L，PCI-45227（M37）では 0.2～1.0 μmol/L であった。MRP1 基質として ^{3}H-ロイコトリエン C4（^{3}H-LTC，5 μmol/L）及び MRP1 阻害剤として MK571（150 μmol/L）を用いた。また，受動輸送とトランスポーターを介した取込みを区別するために，ATP の存在下及び非存在下でインキュベーションを行った。MRP1 発現小胞における ATP 存在下での ^{3}H-LTC の ATP 依存性の取込みは，ATP 非存在下に比べて 10～12 倍高く，MK571 によりほぼ完全に阻害された。

イブルチニブ及び PCI-45227（M37）の取込みは，両小胞で同程度であった。イブルチニブでは，MRP1 発現小胞における ATP の存在下及び非存在下での取込み比は 1.12～2.26 であったが、この比はコントロール小胞でも同様であった。また，ATP 存在下，両小胞におけるイブルチニブの取込みは MRP1 阻害剤により同様に阻害された。これらのことから，イブルチニブの取込みに MRP1 は関与していないことが確認された。PCI-45227（M37）では，MRP1 発現小胞における ATP の存在下及び非存在下での取込み比は 0.76～1.47 であり，PCI-45227（M37）の取込みに MRP1 は関与していないことが示された。なお，低濃度（0.2 μmol/L）の短いインキュベーション時間の多くでは，両小胞とも PCI-45227（M37）の取込みは定量下限未満であった。

以上のことから，*in vitro* において，検討した濃度でイブルチニブ及び PCI-45227（M37）は MRP1 基質ではないことが示された。

(2) OATP1B1，OATP1B3 及び OATP2B1

OATP1B1 又は OATP1B3 を過剰発現させた HEK293 細胞及びその親細胞を用い，OATP1B1 及び OATP1B3 を介した M21 の輸送について検討した。M21 は 0.2 及び 1 μmol/L の設定濃度で実験を行い，インキュベーション後の回収率は良好であった。OATP 基質として ^{3}H-エストラジオール-17β-グルクロン酸抱合体（^{3}H-EG，1 μmol/L）及び OATP 阻害剤としてリファンピシン（25 μmol/L）を用いた。また，OATP1B1 では被験物質の沈殿を避けるため 1%ウシ血清アルブミン（BSA）存在下，OATP1B3 では親細胞に対する取込み比を上げるため BSA 非存在下，それぞれ実験を行った。両 OATP 発現細胞における ^{3}H-EG の取込みは，親細胞に比べて高く，リファンピシンにより阻害された。

両 OATP 発現細胞における M21 の取込みには濃度依存性がみられ，1 μmol/L の設定濃度での取込み活性は，0.2 μmol/L に比べて約 3.5～4.5 倍高かった。また，リファンピシンは，M21 の取込みを OATP1B1 発現細胞では 77.4～95.0%，OATP1B3 発現細胞では 83.9～101%阻害した。

さらに，プレートに接着させたヒト肝細胞を用い，1 μmol/L の設定濃度で OATP を介した ^{14}C-イブルチニブの輸送について検討した。OATP 基質として ^{3}H-EG（1 μmol/L），OATP1B1 阻害剤として E3S（30 μmol/L），OATP1B1，OATP1B3 及び OATP2B1 の阻害剤としてリファマイシン SV（100 μmol/L），並びに CYP を介したイブルチニブの代謝を阻害するために，1-アミノベンゾトリアゾール（1000 μmol/L）を用いた。

^{14}C-イブルチニブの受動輸送による肝取込みは高く，^{3}H-EG の 10 倍以上であることが示された。また，リファマイシン SV による ^{14}C-イブルチニブの肝取込み阻害はわずかであり，E3S による

阻害は認められなかった。なお，^{3}H-EG の肝取込みは，リファマイシン SV により阻害された。したがって，イブルチニブの肝取込みに OATP1B1，OATP1B3 及び OATP2B1 はほとんど関与していないと考えられ，このことは，初回申請時に提出した OATP1B1，OATP1B3 又は OATP2B1 を過剰発現させた HEK293 細胞を用いた試験結果【1.13 2.6.4.7.3.1 (1)参照】と一致した。

以上のことから，*in vitro* において，検討した濃度でイブルチニブは OATP 基質ではないが，M21 は OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であることが示された。

(3) OCT1 及び OCT2

OCT1 又は OCT2 を過剰発現させた CHO 細胞及びその親細胞を用い，OCT1 及び OCT2 を介したイブルチニブ及び PCI-45227（M37）の輸送について検討した。両被験物質は 0.2 及び 1 μmol/L の設定濃度で実験を行い，インキュベーション後の濃度は，イブルチニブでは 0.16 及び 0.78 μmol/L，PCI-45227（M37）では 0.18 及び 0.99 μmol/L であった。OCT1 及び OCT2 の基質として，それぞれ ^{14}C-テトラエチルアンモニウム（^{14}C-TEA，5 μmol/L）及び ^{14}C-メトホルミン（^{14}C-MF，10 μmol/L）を用いた。また，OCT1 及び OCT2 の阻害剤として，ベラパミル（100 μmol/L）及びキニジン（300 μmol/L）を用いた。OCT1 発現細胞における ^{14}C-TEA の取込み及び OCT2 発現細胞における ^{14}C-MF の取込みは，親細胞に比べてそれぞれ 50 倍以上及び約 25 倍高く，ベラパミル及びキニジンにより 90%以上阻害された。

1) OCT1

イブルチニブ及び PCI-45227（M37）の取込みは，親細胞及び OCT1 発現細胞で同程度であり，親細胞及び OCT1 発現細胞における取込み比は 1 に近かった［イブルチニブでは 0.99～1.16，PCI-45227（M37）では 1.00～1.09］。また，OCT1 発現細胞におけるイブルチニブの取込みは，ベラパミル（0.2 μmol/L の設定濃度では 20.8%阻害，1.0 μmol/L の設定濃度では 14.6%阻害）及びキニジン（0.2 μmol/L の設定濃度では 40.0%阻害，1.0 μmol/L の設定濃度では 10.2%阻害）により若干阻害されたが，PCI-45227（M37）の取込み阻害は認められなかった。

2) OCT2

イブルチニブ及び PCI-45227（M37）の取込みは，親細胞及び OCT2 発現細胞で同程度であり，親細胞及び OCT2 発現細胞における取込み比は，イブルチニブでは 1.03～2.10，PCI-45227（M37）では 1.23～1.30 であった。また，OCT2 発現細胞におけるイブルチニブの取込みは，ベラパミル（0.2 μmol/L の設定濃度では 49.3%阻害，1.0 μmol/L の設定濃度では 7.02%阻害）及びキニジン（0.2 μmol/L の設定濃度では 51.0%阻害，1.0 μmol/L の設定濃度では 11.1%阻害）により阻害されたが，PCI-45227（M37）の取込み阻害は認められなかった。

以上のことから，*in vitro* において，検討した濃度でイブルチニブ及び PCI-45227（M37）は OCT1 及び OCT2 を介して顕著に取り込まれることはないものの，低濃度（インキュベーション後 0.16 μmol/L）でのみ，イブルチニブは中程度の OCT2 基質であることが示された。

(4) OAT1 及び OAT3

1) OAT1

OAT1 を過剰発現させた CHO 細胞及びその親細胞を用い，OAT1 を介したイブルチニブ及び PCI-45227（M37）の輸送について検討した。両被験物質は 0.2 及び 1 μmol/L の設定濃度で実験を行い，インキュベーション後の濃度は，イブルチニブでは 0.16 及び 0.78 μmol/L，PCI-45227（M37）では 0.17 及び 0.88 μmol/L であった。OAT1 基質として ^{14}C-パラアミノ馬尿酸（^{14}C-PAH, 5 μmol/L）及び OAT1 阻害剤としてプロベネシド（300 μmol/L）を用いた。OAT1 発現細胞における ^{14}C-PAH の取込みは，親細胞に比べて 25 倍以上高く，プロベネシドにより 80%以上阻害された。

イブルチニブ及び PCI-45227（M37）の取込みは，親細胞及び OAT1 発現細胞で同程度であり，親細胞及び OAT1 発現細胞における取込み比は，イブルチニブでは 1.16～1.60，PCI-45227（M37）では 1 に近かった。また，OAT1 発現細胞におけるイブルチニブの取込みは，プロベネシドにより若干阻害されたが（0.2 μmol/L の設定濃度では 38%阻害，1.0 μmol/L の設定濃度では 18.9%阻害），PCI-45227（M37）の取込み阻害は認められなかった。

以上のことから，*in vitro* において，検討した濃度でイブルチニブ及び PCI-45227（M37）は OAT1 基質ではないと考えられる。

2) OAT3

OAT3 を過剰発現させた MDCK-II 細胞及びその親細胞を用い，OAT3 を介したイブルチニブ及び PCI-45227（M37）の輸送について検討した。両被験物質は 0.2 及び 1 μmol/L の設定濃度で実験を行い，インキュベーション後の濃度は，イブルチニブでは 0.1 及び 0.5 μmol/L，PCI-45227（M37）では 0.2 及び 0.9 μmol/L であった。OAT3 基質として ^{3}H-E3S（1 μmol/L）及び OAT3 阻害剤としてプロベネシド（300 μmol/L）及びフロセミド（300 μmol/L）を用いた。OAT3 発現細胞における ^{3}H-E3S の取込みは，親細胞に比べて 21 倍高く，プロベネシド及びフロセミドによりそれぞれ 91.6 及び 91.4%阻害された。

イブルチニブ及び PCI-45227（M37）の取込みは，親細胞及び OAT3 発現細胞で同程度であり，親細胞及び OAT3 発現細胞における取込み比は 1 に近かった（0.99～1.26）。また，OAT3 発現細胞におけるイブルチニブの取込みは，プロベネシド及びフロセミドにより阻害されず，PCI-45227（M37）の取込み阻害はわずかであった（7.34～19.2%）。

以上のことから，*in vitro* において，検討した濃度でイブルチニブ及び PCI-45227（M37）は OAT3 基質ではないことが示された。

(5) トランスポーター基質性の評価

初回申請時に提出した試験結果【1.13 2.6.4.7.3.1 参照】及び追加試験結果【2.6.5.15A 参照】に基づき再評価した，イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物のトランスポーター基質性を表 2.6.4-11 に要約する。

表 2.6.4-11 イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物の *in vitro* におけるトランスポーター基質性

Transporter	Ibrutinib	M21	M23	M25	M34	PCI-45227 (M37)
P-gp/MDR1	not substrate	not substrate	**substrate**	not substrate	**substrate**	**substrate**
BCRP	not substrate	**substrate**	n/t	n/t	n/t	not substrate
MRP1	not substrate	n/t	n/t	n/t	n/t	not substrate
OATP1B1	not substrate	**substrate**	n/t	n/t	n/t	not substrate
OATP1B3	not substrate	**substrate**	n/t	n/t	n/t	not substrate
OATP2B1	not substrate	n/t	n/t	n/t	n/t	not substrate
OCT1	not substrate	n/t	n/t	n/t	n/t	not substrate
OCT2	**moderate substrate**	n/t	n/t	n/t	n/t	not substrate
OAT1	not substrate	n/t	n/t	n/t	n/t	not substrate
OAT3	not substrate	n/t	n/t	n/t	n/t	not substrate

BCRP = breast cancer resistance protein; MDR = multidrug resistance; MRP = multidrug resistance-associated protein; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein; n/t = not tested

2.6.4.7.1.2　イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物によるトランスポーター阻害

【評価資料 4.2.2.6.1，4.2.2.6.3，4.2.2.6.4，4.2.2.6.6，4.2.2.6.9，4.2.2.6.10，4.2.2.6.11】

イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物によるトランスポーター阻害について，今回実施した試験結果を薬物動態試験概要表【2.6.5.15B 参照】に示す。

(1) P-gp，BCRP 及び MRP1

1) P-gp

P-gp を過剰発現させた LLC-PK1 細胞及びその親細胞を用い，1% BSA 存在下，M21 の P-gp 阻害能について検討した。P-gp 基質として ^{3}H-ジゴキシン（0.03 μmol/L）及び P-gp 阻害剤として GF120918（5 μmol/L）を用いた。GF120918 は，ジゴキシンの efflux ratio を 90%以上減少させた。

M21（最高約 80 μmol/L）の有無にかかわらず，ジゴキシンの efflux ratio は同程度であったことから，M21 は P-gp を介したジゴキシンの輸送を阻害しないことが示された。

2) BCRP

BCRP を過剰発現させた反転膜小胞を用い，BSA 非存在下，M21 の BCRP 阻害能について検討した。BCRP 基質として ^{3}H-E3S（1 μmol/L）及び BCRP 阻害剤として KO143（1 μmol/L）を用いた。KO143 は，BCRP を介した ^{3}H-E3S の取込みを 90%以上阻害した。

M21 は，BCRP を介した ^{3}H-E3S の取込みを阻害した。インキュベーション後の濃度に基づき算出した IC_{50} は 2.31 μmol/L であった。

3) MRP1

MRP1 を過剰発現させた反転膜小胞及びコントロールの反転膜小胞を用い，BSA 非存在下，イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物の MRP1 阻害能について検討した。MRP1 基質として ^{3}H-LTC（5 μmol/L）及び MRP1 阻害剤として MK571（150 μmol/L）を用いた。また，受動輸送とトランスポーターを介した取込みを区別するために，ATP の存在下及び非存在下でインキュベーションを行った。MK571 は，MRP1 発現小胞における ^{3}H-LTC の取込みをほぼ完全に（97%超）阻害した。

イブルチニブ，M21 及び M25 は，MRP1 を介した ^{3}H-LTC の取込みを阻害した。設定濃度に基づき算出したイブルチニブ及び M25 の IC_{50} はそれぞれ 5.06 及び 66.9 μmol/L であり，インキュベーション後の濃度に基づき算出した M21 の IC_{50} は 0.123 μmol/L であった。一方，M23，M34 及び PCI-45227（M37）では，検討した最高設定濃度（M23 及び M37 では 100 μmol/L，M34 では 92.7 μmol/L）において，それぞれ 24.8，9.0 及び 44.3%の阻害が認められた。

(2) OATP1B1 及び OATP1B3

OATP1B1 又は OATP1B3 を過剰発現させた HEK293 細胞及びその親細胞を用い，それぞれ 1% BSA の存在下又は非存在下，M21 の OATP1B1 及び OATP1B3 阻害能について検討した。OATP 基質として ^{3}H-EG（1 μmol/L），並びに OATP 阻害剤としてシクロスポリン A（25 μmol/L）及び

リファンピシン（25 μmol/L）を用いた。シクロスポリン A 及びリファンピシンは，^{3}H-EG の取込みを 81.2～98.7%阻害した。

M21 は，OATP1B1 及び OATP1B3 を介した ^{3}H-EG の取込みを阻害した。インキュベーション後の濃度に基づき算出した M21 の IC_{50} は，OATP1B1 では 5.26 μmol/L であり，OATP1B3 では 6.64 μmol/L であった。

(3) OCT2

OCT2 を過剰発現させた CHO 細胞及びその親細胞を用い，1% BSA 存在下，M21 の OCT2 阻害能について検討した。OCT2 基質として ^{14}C-MF（10 μmol/L），並びに OCT2 阻害剤としてベラパミル（100 μmol/L）及びキニジン（300 μmol/L）を用いた。ベラパミル及びキニジンは，^{14}C-MF の取込みを 97%以上阻害した。

検討した最高濃度（設定濃度は 100 μmol/L，インキュベーション後の濃度は 76.5 μmol/L）までにおいて認められた，M21 による OCT2 を介した ^{14}C-MF の取込み阻害は 2%のみであった。

(4) OAT1 及び OAT3

1) OAT1

OAT1 を過剰発現させた CHO 細胞及びその親細胞を用い，1% BSA 存在下，M21 の OAT1 阻害能について検討した。OAT1 基質として ^{14}C-PAH（5 μmol/L）及び OAT1 阻害剤としてプロベネシド（300 μmol/L）を用いた。プロベネシドは，^{14}C-PAH の取込みを 85%以上阻害した。

M21 は，OAT1 を介した ^{14}C-PAH の取込みを阻害した。インキュベーション後の濃度に基づき算出した M21 の IC_{50} は 73.2 μmol/L であった。

2) OAT3

OAT3 を過剰発現させた MDCK-II 細胞及びその親細胞を用い，BSA 非存在下，M21 の OAT3 阻害能について検討した。OAT3 基質として ^{3}H-E3S（1 μmol/L）並びに OAT3 阻害剤としてプロベネシド（300 μmol/L）及びフロセミド（300 μmol/L）を用いた。プロベネシド及びフロセミドは，^{3}H-E3S の取込みをそれぞれ 94 及び 93%以上阻害した。

M21 は，OAT3 を介した ^{3}H-E3S の取込みを阻害した。インキュベーション後の濃度に基づき算出した M21 の IC_{50} は 4.63 μmol/L であった。

(5) トランスポーター阻害能の評価

初回申請時に提出した試験結果【1.13 2.6.4.7.3.2 参照】及び追加試験結果【2.6.5.15B 参照】に基づき，臨床用量の増加に伴い，イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物が主なトランスポーターを阻害する可能性について再評価した。イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物のトランスポーター阻害能を表 2.6.4-12 に要約する。

表 2.6.4-12 イブルチニブ及びその重要なヒト血漿中代謝物の *in vitro* におけるトランスポーター阻害能

Transporter	Ibrutinib	M21	M23	M25	M34	PCI-45227 (M37)
P-gp/MDR1	IC_{50}: 4.88 µmol/L	no inhibition	no inhibition	no inhibition	no inhibition	no inhibition
BCRP	IC_{50}: 0.99 µmol/L	IC_{50}: 2.31 µmol/L	IC_{50}: 40.6 µmol/L	IC_{50}: > 100 µmol/L	IC_{50}: 74.4 µmol/L	IC_{50}: 90.1 µmol/L
MRP1	IC_{50}: 5.06 µmol/L	IC_{50}: 0.123 µmol/L	IC_{50}: > 100 µmol/L	IC_{50}: 66.9 µmol/L	IC_{50}: > 92.7 µmol/L	IC_{50}: > 100 µmol/L
OATP1B1	IC_{50}: 26.4 µmol/L	IC_{50}: 5.26 µmol/L	IC_{50}: > 100 µmol/L	IC_{50}: > 100 µmol/L	IC_{50}: 47.9 µmol/L	IC_{50}: 36.6 µmol/L
OATP1B3	IC_{50}: > 7.84 µmol/L	IC_{50}: 6.64 µmol/L	IC_{50}: > 4.71 µmol/L	IC_{50}: > 9.22 µmol/L	IC_{50}: > 9.04 µmol/L	IC_{50}: > 9.25 µmol/L
OCT2	IC_{50}: 3.92 µmol/L	IC_{50}: > 76.5 µmol/L	IC_{50}: 0.95 µmol/L	IC_{50}: > 100 µmol/L	IC_{50}: 84.8 µmol/L	IC_{50}: 12.6 µmol/L
OAT1	no inhibition	IC_{50}: 73.2 µmol/L	no inhibition	IC_{50}: > 100 µmol/L	no inhibition	no inhibition
OAT3	IC_{50}: 48.4 µmol/L	IC_{50}: 4.63 µmol/L	no inhibition	IC_{50}: 56.4 µmol/L	IC_{50}: > 100 µmol/L	IC_{50}: > 100 µmol/L

BCRP = breast cancer resistance protein; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; MDR = multidrug resistance; MRP = multidrug resistance-associated protein; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein

1) イブルチニブ（表 2.6.4-13）

臨床曝露量で，イブルチニブが全身性の P-gp 及び MRP1 を阻害する可能性は低いものの，全身性の BCRP を阻害する可能性は否定することができない。また，経口投与後の推定濃度で，消化管上部の P-gp 及び BCRP を阻害する可能性がある。しかし，消化管滞留時間を考慮した PBPK シミュレーション結果に基づくと，IC_{50} を超える消化管細胞内非結合型濃度は，P-gp については十二指腸及び空腸上部における投与後 1 時間までであり，BCRP については十二指腸から回腸上部における投与後 1.5 時間までであると推定されることから，消化管の P-gp 及び BCRP に対するイブルチニブの阻害は顕著ではないと考えられる【1.13 2.6.4.7.3.2 (4) 1)参照】。

臨床曝露量で，イブルチニブが OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1，OAT3 及び MRP1 を阻害する可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-13 イブルチニブによるトランスポーター阻害能

Transporter	Test System	Substrate [Concentration]	IC_{50} (µmol/L)	FDA Guidance	Prediction
P-gp/MDR1	MDCK	Loperamide [5 µmol/L]	4.88	$[I]_1/IC_{50}$: 0.076 $[I]_2/IC_{50}$: 70	remote possible
BCRP	Inside-out vesicles	Estrone-3-sulfate [1 µmol/L]	0.99	$[I]_1/IC_{50}$: 0.376 $[I]_2/IC_{50}$: 347	possible possible
MRP1	Inside-out vesicles	Leukotriene C4 [5 µmol/L]	5.06	$[I]_1/IC_{50}$: 0.074	remote
OATP1B1	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	26.4	$[I]_1/IC_{50}$: 0.014	remote
OATP1B3	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	> 7.84	$[I]_1/IC_{50}$: < 0.048	remote
OCT2	CHO	Metformin [10 µmol/L]	3.92	$[I]_{1u}/IC_{50}$: 0.003	remote
OAT1	CHO	Para-aminohippurate [5 µmol/L]	NC	--	remote
OAT3	MDCK-II	Estrone-3-sulfate [2 µmol/L]	48.4	$[I]_{1u}/IC_{50}$: 0.0002	remote

$[I]_1$ = 0.372 µmol/L (Source:表 2.6.4-4), $[I]_{1u}$ = 0.010 µmol/L based on F_u 2.7% (Source:表 2.6.4-3)
$[I]_2$ = 343 µmol/L (Solubility in FeSSIF; Source: 【1.13 2.6.4.7.3.2 (4) 1)】)
BCRP = breast cancer resistance protein; CHO = Chinese hamster ovary; FDA = Food and Drug Administration; F_u = unbound fraction; HEK = human embryonic kidney; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR = multidrug resistance; MRP = multidrug resistance-associated protein, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 µmol/L tested; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein

2) M21（表 2.6.4-14）

BCRP 及び MRP1 では[I]/IC_{50}が 0.1 以上であったことから，臨床曝露量で，M21 が BCRP 及び MRP1 を阻害する可能性は否定することができない。一方，臨床曝露量で，M21 が P-gp，OCT2，OAT1 及び OAT3 を阻害する可能性は低いと考えられる。

OATP1B1 及び OATP1B3 については，イブルチニブはすべて M21 に代謝されると仮定して算出した R 値を用いて評価した。その結果，算出された R 値は，薬物相互作用に関する FDA のドラフトガイダンスに記載されているカットオフ値（1.25）より低かったことから，臨床曝露量で，M21 が OATP1B1 及び OATP1B3 を顕著に阻害する可能性も低いと考えられる。

表 2.6.4-14 M21 によるトランスポーター阻害能

Transporter	Test System	Substrate [Concentration]	IC_{50} (µmol/L)	FDA Guidance	Prediction
P-gp/MDR1	LLC-PK1	Digoxin [0.03 µmol/L]	NC	--	remote
BCRP	Inside-out vesicles	Estrone-3-sulfate [1 µmol/L]	2.31	[I]/IC_{50}: 0.275	possible
MRP1	Inside-out vesicles	Leukotriene C4 [5 µmol/L]	0.123	[I]/IC_{50}: 5.16	possible
OATP1B1	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	5.26	[I]/IC_{50}: 0.121 R-value: 1.021	remote
OATP1B3	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	6.64	[I]/IC_{50}: 0.096 R-value: 1.016	remote
OCT2	CHO	Metformin [10 µmol/L]	> 76.5	$[I]_u/IC_{50}$: < 0.0002	remote
OAT1	CHO	Para-aminohippurate [5 µmol/L]	73.2	$[I]_u/IC_{50}$: 0.0002	remote
OAT3	MDCK-II	Estrone-3-sulfate [1 µmol/L]	4.63	$[I]_u/IC_{50}$: 0.0039	remote

[I] = 0.635 µmol/L (Source:表 2.6.4-4), $[I]_u$ = 0.018 µmol/L based on F_u 2.8% (Source:表 2.6.4-3)
BCRP = breast cancer resistance protein; CHO = Chinese hamster ovary; FDA = Food and Drug Administration; F_u = unbound fraction; HEK = human embryonic kidney; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LLC-PK = Lilly Laboratories cell-porcine kidney; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR = multidrug resistance; MRP = multidrug resistance-associated protein, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 µmol/L tested; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein

3) M23（表 2.6.4-15）

臨床曝露量で，M23 が P-gp，BCRP，MRP1，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 及び OAT3 を阻害する可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-15 M23 によるトランスポーター阻害能

Transporter	Test System	Substrate [Concentration]	IC_{50} (µmol/L)	FDA Guidance	Prediction
P-gp/MDR1	LLC-PK1	Digoxin [0.03 µmol/L]	NC	--	remote
BCRP	Inside-out vesicles	Estrone-3-sulfate [1 µmol/L]	40.6	[I]/IC_{50}: 0.001	remote
MRP1	Inside-out vesicles	Leukotriene C4 [5 µmol/L]	> 100	[I]/IC_{50}: < 0.0003	remote
OATP1B1	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	> 100	[I]/IC_{50}: < 0.0003	remote
OATP1B3	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	> 4.71	[I]/IC_{50}: < 0.006	remote
OCT2	CHO	Metformin [10 µmol/L]	0.95	$[I]_u$/IC_{50}: 0.002	remote
OAT1	CHO	Para-aminohippurate [5 µmol/L]	NC	--	remote
OAT3	MDCK-II	Estrone-3-sulfate [2 µmol/L]	NC	--	remote

[I] = 0.026 µmol/L (Source:表 2.6.4-4), $[I]_u$ = 0.002 µmol/L based on F_u 7.7% (Source:表 2.6.4-3)
BCRP = breast cancer resistance protein; CHO = Chinese hamster ovary; FDA = Food and Drug Administration; F_u = unbound fraction; HEK = human embryonic kidney; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LLC-PK = Lilly Laboratories cell-porcine kidney; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR = multidrug resistance; MRP = multidrug resistance-associated protein, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 µmol/L tested; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein

4) M25（表 2.6.4-16）

臨床曝露量で，M25 が P-gp，BCRP，MRP1，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 及び OAT3 を阻害する可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-16 M25 によるトランスポーター阻害能

Transporter	Test System	Substrate [Concentration]	IC_{50} (µmol/L)	FDA Guidance	Prediction
P-gp/MDR1	LLC-PK1	Digoxin [0.03 µmol/L]	NC	--	remote
BCRP	Inside-out vesicles	Estrone-3-sulfate [1 µmol/L]	> 100	[I]/IC_{50}: < 0.006	remote
MRP1	Inside-out vesicles	Leukotriene C4 [5 µmol/L]	66.9	[I]/IC_{50}: 0.008	remote
OATP1B1	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	> 100	[I]/IC_{50}: < 0.006	remote
OATP1B3	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	> 9.22	[I]/IC_{50}: < 0.061	remote
OCT2	CHO	Metformin [10 µmol/L]	> 100	$[I]_u$/IC_{50}: < 0.001	remote
OAT1	CHO	Para-aminohippurate [5 µmol/L]	> 100	$[I]_u$/IC_{50}: < 0.001	remote
OAT3	MDCK-II	Estrone-3-sulfate [2 µmol/L]	56.4	$[I]_u$/IC_{50}: 0.003	remote

[I] = 0.565 µmol/L (Source:表 2.6.4-4), $[I]_u$ = 0.144 µmol/L based on F_u 25.5% (Source:表 2.6.4-3)
BCRP = breast cancer resistance protein; CHO = Chinese hamster ovary; FDA = Food and Drug Administration; F_u = unbound fraction; HEK = human embryonic kidney; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LLC-PK = Lilly Laboratories cell-porcine kidney; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR = multidrug resistance; MRP = multidrug resistance-associated protein, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 µmol/L tested; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein

5) M34（表 2.6.4-17）

臨床曝露量で，M34 が P-gp，BCRP，MRP1，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 及び OAT3 を阻害する可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-17 M34 によるトランスポーター阻害能

Transporter	Test System	Substrate [Concentration]	IC_{50} (µmol/L)	FDA Guidance	Prediction
P-gp/MDR1	LLC-PK1	Digoxin [0.03 µmol/L]	NC	--	remote
BCRP	Inside-out vesicles	Estrone-3-sulfate [1 µmol/L]	74.4	[I]/IC_{50}: 0.006	remote
MRP1	Inside-out vesicles	Leukotriene C4 [5 µmol/L]	> 92.7	[I]/IC_{50}: < 0.005	remote
OATP1B1	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	47.9	[I]/IC_{50}: 0.009	remote
OATP1B3	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	> 8.44	[I]/IC_{50}: < 0.053	remote
OCT2	CHO	Metformin [10 µmol/L]	84.8	$[I]_u$/IC_{50}: 0.001	remote
OAT1	CHO	Para-aminohippurate [5 µmol/L]	NC	--	remote
OAT3	MDCK-II	Estrone-3-sulfate [2 µmol/L]	> 100	$[I]_u$/IC_{50}: < 0.001	remote

[I] = 0.447 µmol/L (Source:表 2.6.4-4), $[I]_u$ = 0.102 µmol/L based on F_u 22.9% (Source:表 2.6.4-3)
BCRP = breast cancer resistance protein; CHO = Chinese hamster ovary; FDA = Food and Drug Administration; F_u = unbound fraction; HEK = human embryonic kidney; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LLC-PK = Lilly Laboratories cell-porcine kidney; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR = multidrug resistance; MRP = multidrug resistance-associated protein, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 µmol/L tested; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein

6) PCI-45227（M37）（表 2.6.4-18）

臨床曝露量で，PCI-45227（M37）が P-gp，BCRP，MRP1，OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 及び OAT3 を阻害する可能性は低いと考えられる。

表 2.6.4-18 PCI-45227（M37）によるトランスポーター阻害能

Transporter	Test System	Substrate [Concentration]	IC_{50} (µmol/L)	FDA Guidance	Prediction
P-gp/MDR1	MDCK	Loperamide [5 µmol/L]	> 50	$[I]/IC_{50}$: < 0.005	remote
BCRP	Inside-out vesicles	Estrone-3-sulfate [1 µmol/L]	90.1	$[I]/IC_{50}$: 0.003	remote
MRP1	Inside-out vesicles	Leukotriene C4 [5 µmol/L]	> 100	$[I]/IC_{50}$: < 0.003	remote
OATP1B1	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	36.6	$[I]/IC_{50}$: 0.007	remote
OATP1B3	HEK293	Estradiol-17β-glucuronide [1 µmol/L]	> 9.25	$[I]/IC_{50}$: < 0.028	remote
OCT2	CHO	Metformin [10 µmol/L]	12.6	$[I]_u/IC_{50}$: 0.0018	remote
OAT1	CHO	Para-aminohippurate [5 µmol/L]	NC	--	remote
OAT3	MDCK-II	Estrone-3-sulfate [2 µmol/L]	> 100	$[I]_u/IC_{50}$: < 0.0002	remote

[I] = 0.257 µmol/L (Source:表 2.6.4-4), $[I]_u$ = 0.023 µmol/L based on Fu 9.0% (Source:表 2.6.4-3)
BCRP = breast cancer resistance protein; CHO = Chinese hamster ovary; FDA = Food and Drug Administration; F_u = unbound fraction; HEK = human embryonic kidney; [I] = inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR = multidrug resistance; MRP = multidrug resistance-associated protein, NC = not calculated due to no inhibition up to the highest concentration of 100 µmol/L tested; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

該当資料なし

2.6.4.9 考察及び結論

2.6.4.9.1 吸収

マウス，ラット，イヌ及び妊娠ウサギにイブルチニブを反復経口投与したとき，イブルチニブの曝露量は，おおむねイブルチニブの用量の増加とともに増加したが，顕著な個体間変動が認められた。また，マウスでは反復投与により曝露量が減少し，80 mg/kg/日投与群のイヌでは反復投与により曝露量が増加する傾向を示したものの，それ以外では，初回及び反復投与時の曝露量は，おおむね同程度であった。さらに，イブルチニブの曝露量は，マウス及びラットでは雄に比べて雌の方が高かったものの，イヌでは雌雄で同程度であった。ラットで認められた性差は，雄の方が雌に比べて CYP3A2 活性が高いことと関連している可能性が考えられる【1.13 2.6.4.9.1 参照】。

2.6.4.9.2 分布

M21 の *in vitro* ヒト血漿たん白非結合率は 2.8%であり，主にヒト血清アルブミンと結合することが示された。これらの結果は，イブルチニブと同様であった。

2.6.4.9.3 代謝

イブルチニブを 560 mg/日の用量でヒトに反復経口投与したとき，M21，M23，M25，M34 及び PCI-45227（M37）の AUC は，未変化体の 25%以上であった。また，M23 を除く各代謝物の AUC は，総 AUC の 10%超であった。いずれの代謝物もマウス，ラット，イヌ及び妊娠ウサギで認められ，PCI-45227（M37）の曝露量は，おおむね未変化体と同程度であったが，その他の重要なヒト血漿中代謝物である M21，M23，M25 及び M34 の曝露量は，おおむね未変化体より低いか同程度であった。

2.6.4.9.4 薬物動態学的薬物相互作用

In vitro 試験結果から，イブルチニブは CYP2B6 の弱い誘導剤であることが示された。したがって，CAR による調節を受ける他の酵素及びトランスポーターの発現にも影響する可能性が考えられるものの，現時点において，臨床上の重要性は不明である。また，イブルチニブは CYP3A4 の弱い阻害剤であることが示された。しかし，これまでに得られた臨床薬物動態試験結果から，イブルチニブは CYP3A4 活性の変動に大きく影響を受ける CYP3A4 基質であることが示されているが【1.13 2.7.2.3.5 参照】，イブルチニブの曝露量は用量にほぼ比例して増加し，単剤反復投与時のイブルチニブの曝露量は単剤単回投与データから予測可能であること【1.13 2.7.2.2.1.5 参照】を考慮すると，イブルチニブの投与により，CYP3A4 活性が顕著に変動する可能性は低いと考えられる。

In vitro 試験結果から，イブルチニブは OCT2 基質であること，M21 は BCRP，OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であること，並びに M23，M34 及び PCI-45227（M37）は P-gp 基質であることが示された。また，イブルチニブが全身性の P-gp を阻害する可能性は低いものの，消化管の P-gp 及び BCRP を阻害する可能性は否定することができない。しかし，消化管滞留時間を考慮し

た PBPK シミュレーション結果に基づくと，P-gp 又は BCRP に対する IC_{50} を超える消化管細胞内非結合型濃度となるのは，経口投与後 1.5 時間までの回腸上部までであると推定されることから，消化管の P-gp 及び BCRP に対するイブルチニブの阻害は顕著ではないと考えられる。さらに，イブルチニブは全身性の BCRP を，M21 は全身性の BCRP 及び MRP1 を阻害する可能性があるものの，それ以外では，トランスポーターを介した臨床上重大な薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられる。

2.6.4.10 図表

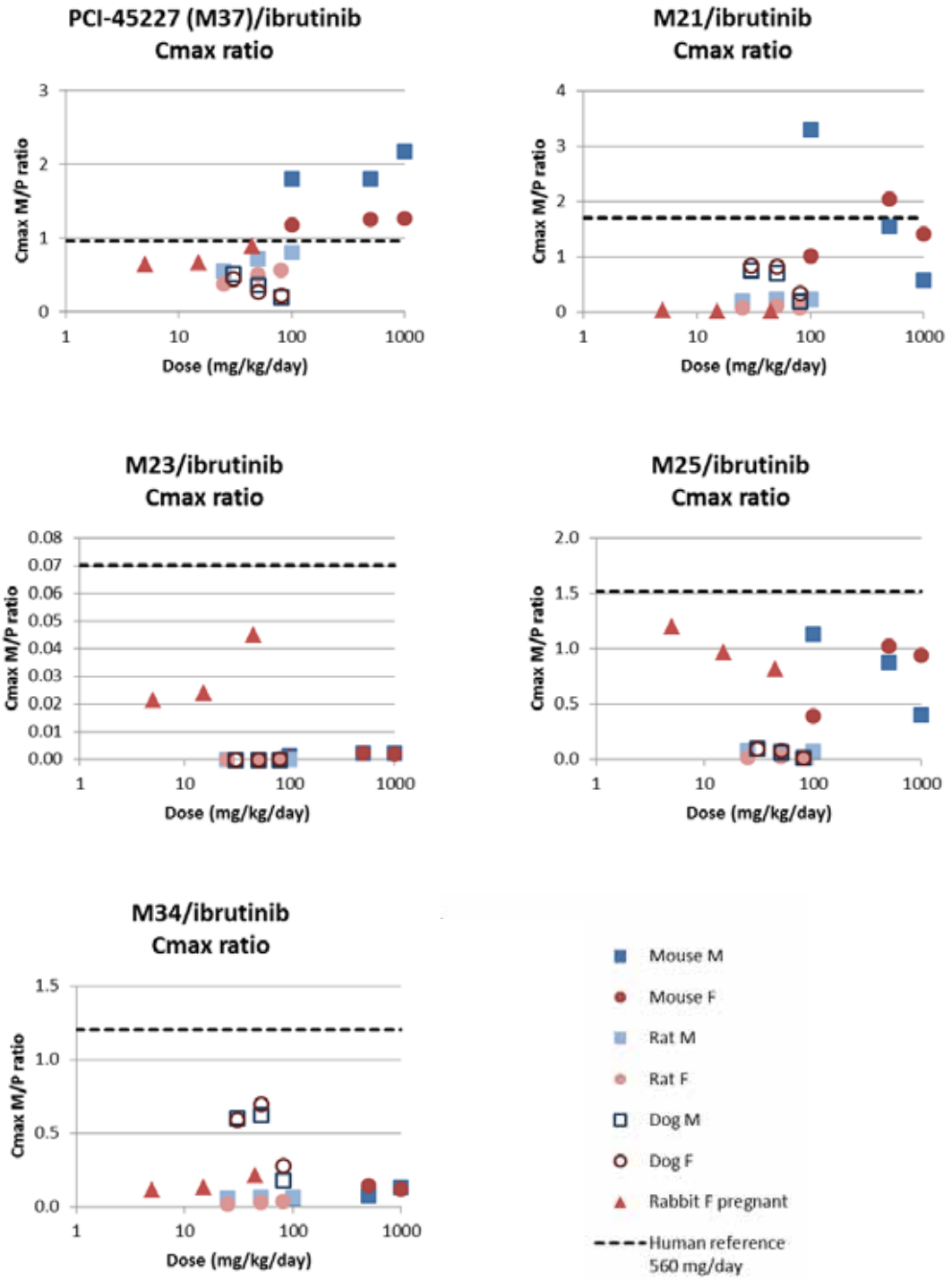


図 2.6.4-2 マウス，ラット，イヌ，妊娠ウサギ及びヒトにイブルチニブを反復経口投与したときの重要なヒト血漿中代謝物に関する C_{max} の代謝物/未変化体比

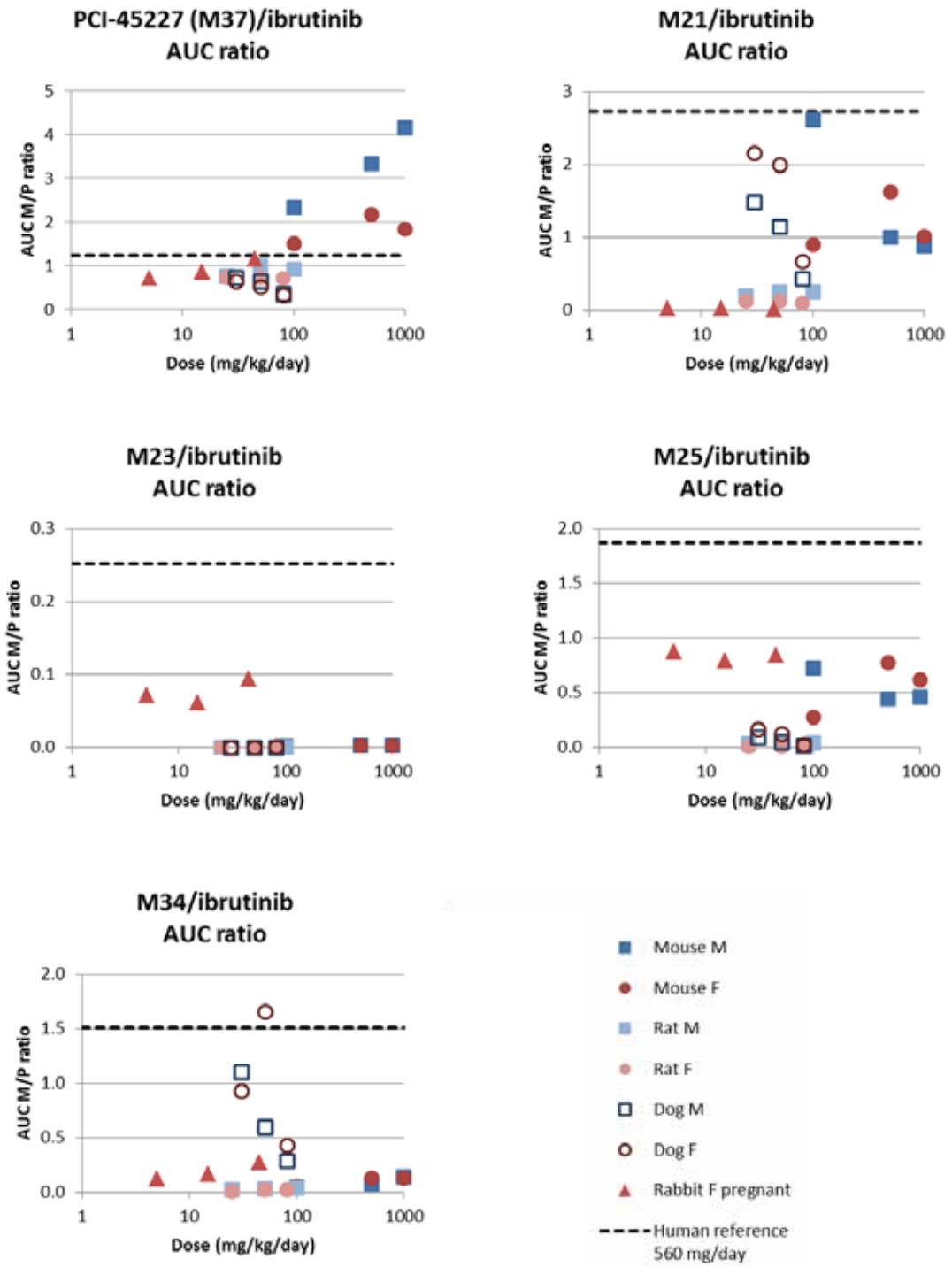


図 2.6.4-3 マウス，ラット，イヌ，妊娠ウサギ及びヒトにイブルチニブを反復経口投与したときの重要なヒト血漿中代謝物に関する AUC の代謝物/未変化体比

2.6.4.11　参考文献

1）　Berry LM, Zhao Z, Lin M-HJ. Dynamic Modeling of Cytochrome P450 Inhibition In Vitro: Impact of Inhibitor Depletion on IC_{50} Shift. Drug Metab Dispos. 2013;41:1433-41.

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 and its metabolites

Type of Study	Test System	Route	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Absorption (including *in vivo* metabolism)						
Toxicokinetics, 7 days repeat dose	Mouse (M, F)	PO	N	[redacted] US	[redacted]-238-M-PO-TXE (TOX11071)	【4.2.3.4.2.1】
Toxicokinetics, 28 days repeat dose	Mouse (M, F)	PO	Y	[redacted] US	[redacted]-239-M-PO-TX (TOX10814)	【4.2.3.4.2.2】
Toxicokinetics, 6 months repeat dose	Rat (M, F)	PO	Y	[redacted], US	[redacted]-057-R-PO-TX (TOX10827)	【4.2.3.2.1】
Toxicokinetics, 9 months repeat dose	Dog (M, F)	PO	Y	[redacted], US	[redacted]-060-D-PO-TX (TOX10828)	【4.2.3.2.2】
Toxicokinetics, embryo/fetal development	Rabbit (pregnant F)	PO	Y	JRD, Belgium	[redacted]-133-B-PO-TT (TOX10823)	【4.2.3.5.2.1】
Distribution						
Plasma protein binding of M21	Mouse, rat, dog, human plasma	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-184-V-X-PB (FK10606)	【4.2.2.3.1】
Metabolism						
Plasma PK for ibrutinib and five main circulating metabolites	Human plasma from Clinical Study PCI-32765FLR2002	PO	N	JRD, Belgium	[redacted]-201-Hu-PO-PK (FK11020)	【4.2.2.4.1】
CYP1A2 and CYP2B6 CYP induction	Human hepatocytes	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-210-Hu-X-INDC (FK10806)	【4.2.2.4.2】
CYP inhibition by ibrutinib - CYP3A K_i	Human liver microsomes	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-207-Hu-X-CYP (FK10805)	【4.2.2.4.3】
Time-dependent inhibition of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 by ibrutinib	Human liver microsomes	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-222-Hu-X-CYP (FK10804)	【4.2.2.4.4】
CYP inhibition by M21	Human liver microsomes	*In vitro*	N	JRD, US	[redacted]-018-Hu-X-CYP (FK10900)	【4.2.2.4.5】

(Continued)

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Type of Study	Test System	Route	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Pharmacokinetic Drug Interactions						
P-gp/MDR1: Substrate and inhibition potential of M21	LLC-PK1 cells	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-261-V-X-TS (FK10896)	【4.2.2.6.1】
BCRP: Substrate potential of ibrutinib and PCI-45227 (M37) [a]	Inside-out vesicles	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-203-V-X-TS (FK10816)	【4.2.2.6.2】
BCRP: Substrate and inhibition potential of M21	Inside-out vesicles	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-254-V-X-TS (FK10894)	【4.2.2.6.3】
MRP1: Substrate potential of ibrutinib and PCI-45227 (M37) [a]; Inhibition potential of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227 (M37) [a]	Inside-out vesicles	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-209-V-X-TS (FK10810)	【4.2.2.6.4】
Transport of ibrutinib	Human hepatocytes	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-145-Hu-X-TS (FK10575)	【4.2.2.6.5】
OATP1B1 – OATP1B3: Substrate and inhibition potential of M21	HEK293 cells	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-262-V-X-TS (FK10895)	【4.2.2.6.6】
OCT1 - OCT2 - OAT1: Substrate potential of ibrutinib and PCI-45227 (M37) [a]	CHO cells	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-165-V-X-TS (FK10812)	【4.2.2.6.7】
OAT3: Substrate potential of ibrutinib and PCI-45227 (M37) [a]	MDCK-II cells	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-164-V-X-TS (FK10811)	【4.2.2.6.8】
MRP1: Inhibition potential of M21	Inside-out vesicles	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-269-V-X-TS (FK10901)	【4.2.2.6.9】
OAT1 – OCT2: Inhibition potential of M21	CHO cells	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-263-V-X-TS (FK10897)	【4.2.2.6.10】
OAT3: Inhibition potential of M21	MDCK-II cells	*In vitro*	N	JRD, Belgium	[redacted]-264-V-X-TS (FK10898)	【4.2.2.6.11】

[a] PCI-45227 is the dihydrodiol metabolite of ibrutinib (M37).

BCRP = breast cancer resistance protein; CHO = Chinese hamster ovary; CYP = cytochrome P450; F = female; GLP = good laboratory practice; HEK = human embryonic kidney; [redacted] = [redacted] JRD = Janssen Research & Development; K_i = inhibition constant; LLC-PK = Lilly Laboratories cell-porcine kidney; M = male; Mx = metabolite x; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR = multidrug resistance; MRP = multidrug resistance-associated protein; N = no; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein; PK = pharmacokinetics; PO = oral; US = United States; Y = yes

2.6.5.2　分析方法及びバリデーション試験

Information concerning these studies can be found in【2.6.4.2】.

2.6.5.3　薬物動態試験：単回投与後の吸収

該当資料なし

2.6.5.4　A　薬物動態試験：マウスにおける反復投与後の吸収

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.3.4.2.1】											
Type of Study / Study No.	7-Day range-finding study / [redacted]-238-M-PO-TXE (TOX11071)											
Species	Mouse, CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates)											
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	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)	100	100	300	300	1000	1000	100	100	300	300	1000	1000
Duration of Dosing (days)	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Pharmacokinetic Parameters [a]												
C_{max} (ng/mL)	1460	1680	1570	2920	2830	4150	1880	1920	2700	3150	4980	6250
T_{max} (h)	0.5	0.5	1.0	1.0	2.0	4.0	0.5	0.5	1.0	1.0	4.0	4.0
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	4340	6170	6720	10200	20400	17000	8110	9460	19300	19600	48300	37600

[a] Pharmacokinetic parameters were estimated from mean plasma concentrations.

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

(Continued)

2.6.5.4　A　薬物動態試験：マウスにおける反復投与後の吸収（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.3.4.2.2】											
Type of Study / Study No.	28-Day range-finding study / [redacted]-239-M-PO-TX (TOX10814)											
Species	Mouse, CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates)											
Feeding Condition	Ad libitum											
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate											
Route	Oral gavage											
Sample	plasma											
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)	100	100	500	500	1000	1000	100	100	500	500	1000	1000
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	28	28	28	28	28	28
Pharmacokinetic Parameters [mean (SE)]												
Ibrutinib												
C_{max} (ng/mL)	1160	1460	5900	8620	5240	9980	870	1530	1630	3620	2030	4890
	(239)	(97.1)	(1380)	(1100)	(1370)	(819)	(80.8)	(243)	(429)	(515)	(696)	(398)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	3230	5060	31900	36100	44000	60200	2870	5720	8460	17900	9290	28400
	(359)	(474)	(4490)	(3700)	(14300)	(10200)	(182)	(328)	(2280)	(1650)	(2190)	(4260)
PCI-45227 (M37)												
C_{max} (ng/mL)	1860	1980	3590	3420	4710	4500	1690	1940	3150	4870	4750	6620
	(429)	(234)	(140)	(275)	(395)	(217)	(289)	(239)	(484)	(306)	(166)	(1320)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	8510	8610	33500	32800	45600	47300	7200	9290	30300	41900	41500	55900
	(726)	(1750)	(2350)	(2870)	(4350)	(2530)	(631)	(1260)	(6860)	(4960)	(14500)	(15200)

(Continued)

2.6.5.4　A　薬物動態試験：マウスにおける反復投与後の吸収（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.3.4.2.2】											
Type of Study / Study No.	28-Day range-finding study / [redacted]-239-M-PO-TX (TOX10814)											
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)	100	100	500	500	1000	1000	100	100	500	500	1000	1000
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	28	28	28	28	28	28
Metabolite profiling (non-GLP) [mean (SE)]												
M21												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	3490 (1980)	1910 (545)	3090 (1410)	9050 (7270)	1460 (1170)	8470 (8060)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	9110 (3660)	6280 (1250)	10300 (9830)	35500 (23100)	10100 (4310)	34800 (26300)
M23												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	1.13 (0.349)	1.13 (0.187)	3.24 (0.888)	7.49 (3.39)	4.34 (0.452)	8.95 (4.77)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	2.77 (0.732)	2.46 (0.447)	18.6 (2.24)	34.4 (10.3)	25.6 (2.47)	62.6 (15.5)
M25												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	1060 (635)	649 (184)	1530 (694)	3920 (2780)	874 (568)	4930 (4080)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	2220 (1110)	1710 (401)	3980 (4770)	14900 (8650)	4580 (2180)	18800 (12600)
M34												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	52.1 (2.65)	102 (11.9)	129 (38.9)	548 (72.1)	278 (79.1)	614 (88.2)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	148 (12.0)	343 (35.1)	683 (90.4)	2430 (231)	1360 (277)	3950 (931)

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = good laboratory practice; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; SE = standard error

2.6.5.4　B　薬物動態試験：ラットにおける反復投与後の吸収

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.3.2.1】											
Type of Study / Study No.	6-Month toxicity / [redacted]-057-R-PO-TX (TOX10827)											
Species	Rat, Sprague-Dawley											
Feeding Condition	Ad libitum											
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate											
Route	Oral gavage											
Sample	plasma											
Assay	LC-MS/MS											
Gender (M/F)/Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Dose (mg/kg)	25	25	50	50	100	80	25	25	50	50	100	80
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	177	177	177	177	177	177
Pharmacokinetic Parameters [mean (SD)]												
Ibrutinib												
C_{max} (ng/mL)	444	896	654	1720	937	1980	390	1220	555	1500	641	2290
	(141)	(77.9)	(163)	(252)	(138)	(447)	(103)	(465)	(213)	(235)	(50.7)	(488)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	1140	2610	2710	6820	4660	8150	1640	2990	2970	6820	4430	11200
	(191)	(315)	(649)	(410)	(615)	(2280)	(290)	(419)	(1240)	(2370)	(1090)	(2310)
PCI-45227 (M37)												
C_{max} (ng/mL)	284	524	457	787	552	849	229	501	424	810	555	1390
	(123)	(40.7)	(286)	(187)	(79.7)	(73.6)	(42.2)	(115)	(180)	(77.5)	(102)	(487)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	881	2310	2140	5010	3410	5470	1330	2350	3210	5350	4400	8470
	(313)	(607)	(1340)	(1030)	(621)	(1360)	(495)	(867)	(1790)	(799)	(766)	(2470)

(Continued)

2.6.5.4 B 薬物動態試験：ラットにおける反復投与後の吸収（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.3.2.1】											
Type of Study / Study No.	6-Month toxicity / [redacted]-057-R-PO-TX (TOX10827)											
Gender (M/F)/Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Dose (mg/kg)	25	25	50	50	100	80	25	25	50	50	100	80
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	42	42	42	42	42	42
Metabolite profiling (non-GLP) [mean (SD)]												
M21												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	99.5 (39.3)	126 (16.4)	158 (67.9)	223 (7.15)	185 (38.7)	244 (91.9)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	411 (29.9)	461 (153)	912 (213)	1100 (209)	1330 (400)	1450 (205)
M23												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	NC	NC	NC	NC	NC	NC
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	NC	NC	NC	NC	NC	NC
M25												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	35.0 (0.898)	21.3 (6.59)	51.7 (29.9)	36.9 (9.90)	51.9 (12.5)	48.6 (16.4)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	57.2 (6.94)	37.1 (16.9)	129 (58.2)	91.5 (15.7)	221 (89.5)	130 (33.9)
M34												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	23.2 (15.8)	22.0 (8.71)	35.3 (31.5)	51.5 (10.4)	41.8 (21.6)	85.9 (59.2)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	47.2 (35.2)	42.2 (13.9)	115 (107)	156 (33.4)	199 (90.7)	265 (169)

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = good laboratory practice; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; NC = not calculated (due to the low number of samples containing measurable concentrations of M23); SD = standard deviation

2.6.5.4　C　薬物動態試験：イヌにおける反復投与後の吸収

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.3.2.2】											
Type of Study / Study No.	9-Month toxicity / [redacted]-060-D-PO-TX (TOX10828)											
Species	Dog, Beagle											
Feeding Condition	Feed was presented for approximately 4-5 hours daily following dosing.											
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate											
Route	Oral gavage											
Sample	plasma											
Assay	LC-MS/MS											
Gender (M/F)/Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Dose (mg/kg)	30	30	50	50	80	80	30	30	50	50	80	80
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	271	271	271	271	271	271
Pharmacokinetic Parameters [mean (SD)]												
Ibrutinib												
C_{max} (ng/mL)	111	158	218	173	453	259	101	99.3	147	176	774	650
	(61)	(124)	(26)	(139)	(146)	(229)	(99)	(47.6)	(46)	(228)	(343)	(935)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	351	281	642	613	2070	1160	343	221	370	571	2990	3590
	(188)	(86)	(392)	(473)	(2240)	(1320)	(395)	(69)	(59)	(674)	(1630)	(5960)
PCI-45227 (M37)												
C_{max} (ng/mL)	51.7	70.1	109	64.8	123	73.2	55.8	48.8	57.0	51.9	168	157
	(17.0)	(14.6)	(20)	(23.2)	(36)	(41.7)	(50.8)	(13.3)	(25.3)	(48.2)	(73)	(179)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	199	174	424	253	672	402	267	152	257	324	1140	1280
	(81)	(19)	(162)	(123)	(491)	(374)	(304)	(46)	(79)	(317)	(640)	(1690)

(Continued)

2.6.5.4　C　薬物動態試験：イヌにおける反復投与後の吸収（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.3.2.2】											
Type of Study / Study No.	9-Month toxicity / [redacted]060-D-PO-TX (TOX10828)											
Gender (M/F)/Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Dose (mg/kg)	30	30	50	50	80	80	30	30	50	50	80	80
Duration of Dosing (days)	1	1	1	1	1	1	42	42	42	42	42	42
Metabolite profiling (non-GLP) [mean (SD)]												
M21												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	93.6 (18.0)	103 (22)	129 (21)	178 (85)	189 (88)	274 (144)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	620 (488)	582 (323)	517 (39)	1390 (1330)	1600 (1300)	2940 (1590)
M23												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	BQL	BQL	BQL	BQL	0.101[a] (0.083)	0.262[b] (0.213)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	BQL	BQL	BQL	BQL	1.03[a] (1.04)	2.68[b] (3.52)
M25												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	11.3 (5.0)	10.9 (4.4)	10.8 (5.3)	16.3 (4.3)	12.2 (5.5)	11.5 (6.3)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	35.5 (15.2)	39.5 (29.3)	19.4 (4.2)	75.4 (56.5)	54.7 (29.4)	92.2 (53.0)
M34												
C_{max} (ng/mL)	-	-	-	-	-	-	63.5 (11.3)	61.6 (15.5)	95.1 (24.6)	128 (85)	146 (64)	191 (81)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	-	-	-	-	396 (406)	215 (165)	232 (54)	982 (1173)	898 (631)	1620 (860)

[a] Three out of four animals had less than 3 plasma samples with quantifiable concentrations.
[b] Four out of six animals had only one plasma sample with quantifiable concentrations.
AUC = area under the plasma concentration-time curve; BQL = below quantification limit; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = good laboratory practice; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; SD = standard deviation

2.6.5.5　薬物動態試験：組織分布

該当資料なし

2.6.5.6 薬物動態試験：血漿たん白結合

Test Article: M21

Location in CTD		【4.2.2.3.1】							
Study No.		[redacted]-184-V-X-PB (FK10606)							
Study System		*In vitro*							
Test System		Test article was added to plasma of various species or to purified human plasma protein solutions of albumin and AAG 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
M21	Percent Unbound	BQL	0.3	2.0	1.7	2.9	2.3	2.7	2.8

Purified human plasma protein solutions (concentration)		**AAG (0.05%)**	**AAG (0.10%)**	**AAG (0.20%)**	**HSA (4.3%)**	**AAG+HSA (0.07+4.30%)**
Test Article	Concentration (ng/mL)	100	100	100	100	100
M21	Percent Unbound	71.0	63.0	39.7	2.0	2.0

AAG = α_1-acid glycoprotein; BQL = below quantification limit (< 0.500 ng/mL); HSA = human serum albumin

2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.3.5.2.1】					
Type of Study / Study No.	Embryo/fetal development / [redacted]-133-B-PO-TT (TOX10823)					
Species	Rabbit, New Zealand White					
Feeding Condition	Ad libitum					
Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose, 0.1% sodium lauryl sulfate					
Route	Oral gavage					
Sample	plasma					
Assay	LC-MS/MS					
Gender (M/F)/Number of Animals	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3	F: 3
Dose (mg/kg)	5	15	45	5	15	45
Gestation Day	6	6	6	19	19	19
Pharmacokinetic Parameters [mean (SD)]						
Ibrutinib						
C_{max} (ng/mL)	110 (62.4)	390 (125)	1030 (564)	133 (70.1)	349 (203)	597 (219)
AUC (ng·h/mL) [a]	618 [b, e]	1700 (563)	6700 (1360)	714 [d]	1920 (672)	4670 (1980)
PCI-45227 (M37)						
C_{max} (ng/mL)	67.9 (0.351)	313 (85.0)	1240 (544)	90.7 (7.71)	249 (45.8)	573 (168)
AUC (ng·h/mL) [a]	593 [d]	1740 (222)	9730 (2160)	553 (106)	1760 (106)	5760 (1980)
Metabolite profiling (non-GLP) [mean (SD)]						
M21						
C_{max} (ng/mL)	4.33 (2.19)	10.1 (3.04)	16.8 (6.00)	4.60 (1.01)	8.92 (3.51)	11.0 (5.85)
AUC (ng·h/mL) [a]	18.4 (4.33) [c]	44.4 [d]	151 (13.6)	24.6 [d]	56.2 [d]	102 (33.6)
M23						
C_{max} (ng/mL)	2.62 (0.462)	4.12 (0.830)	15.5 (3.03)	2.50 (0.543)	7.32 (0.870)	23.5 (6.54)
AUC (ng·h/mL) [a]	47.6 (11.1) [b]	80.6 (12.9) [b]	285 (45.3) [b]	45.0 (8.32)	103 (27.5)	384 (147)
M25						
C_{max} (ng/mL)	106 (48.5)	497 (44.3)	780 (183)	171 (22.6)	362 (162)	523 (207)
AUC (ng·h/mL) [a]	498 (69.2)	1590 (118)	5000 (671)	667 (112)	1630 (201)	4210 (594)
M34						
C_{max} (ng/mL)	7.56 (1.07)	40.2 (13.6)	126 (12.9)	15.6 (4.38)	47.9 (19.8)	131 (17.4)
AUC (ng·h/mL) [a]	62.5 (6.85)	221 (29.0)	1060 (298)	93.8 (20.3)	335 (56.3)	1350 (291)

[a] $AUC_{0-\infty}$ at Day 6 and AUC_{0-24h} at Day 19
[b] AUC_{0-24h}
[c] AUC_{0-7h}
[d] n=2
[e] n=1
AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = good laboratory practice; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = male; SD = standard deviation

2.6.5.8　薬物動態試験：その他の分布試験

該当資料なし

2.6.5.9　薬物動態試験：*In vitro* における代謝

該当資料なし

2.6.5.10　薬物動態試験：*In vivo* における代謝

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.2.4.1】
Study No.	[redacted]-201-Hu-PO-PK (FK11020)
Study System	Determination of Cycle 2 pharmacokinetics of 5 main ibrutinib metabolites in a subset of samples from clinical study PCI-32765FLR2002, in relation to unchanged ibrutinib. Subjects received 560 mg oral ibrutinib once daily, continuously on a 21-day cycle. By the start of Cycle 2, after 21 daily doses, steady state is assumed to be reached for both ibrutinib and its main metabolites. Plasma samples were selected from 20 subjects who had complete data for Cycle 2 and who showed relatively high PCI-45227 (M37) exposure. These subjects are expected to also show relatively high exposure to other metabolites, as all metabolites are formed via CYP3A metabolism as initial step.
Method	Plasma samples were analyzed for determination of ibrutinib and PCI-45227 concentrations using a validated LC-MS/MS method. Plasma samples were analyzed for determination of M23, M25 and M34 by means of a qualified LC-MS/MS method. M21 analysis was semi-quantitative estimating the concentrations by comparison of the MS response of the unlabeled sample to the MS response of a radioactive sample. Predose concentration values were used for the 24-hour timepoint for calculation of $AUC_{0\text{-}24h}$. Nominal sampling times (predose, 1, 2, and 4 hours post-dose) were used for calculation of AUC.

Mean (SD) Pharmacokinetic Parameters of Ibrutinib and Its Major Metabolites

Parameter	**Ibrutinib**	**M21**	**M23**	**M25**	**M34**	**PCI-45227 (M37)**
n	20	20	20	20	20	20
C_{max} (ng/mL)	205	341	10.1	267	205	196
	(175)	(331)	(22.0)	(174)	(95.9)	(82.5)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	1570	3170	210	1910	1500	2240
	(1070)	(3290)	(481)	(1290)	(863)	(876)

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; CYP = cytochrome P450; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; SD = standard deviation

2.6.5.11　薬物動態試験：推定代謝経路

該当資料なし

2.6.5.12　A　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.2.4.2】
Study No.	[redacted]-210-Hu-X-INDC (FK10806)
Type of Study	*In vitro* evaluation of ibrutinib as inducer of CYP1A2 and CYP2B6 in cultured human hepatocytes

Treatment	Nominal Concentration	Measured Trough Concentration Range	CYP1A2 mRNA: Fold induction versus solvent control [a] (mean)	CYP1A2 mRNA: Percent induction relative to positive control (%)	CYP2B6 mRNA: Fold induction versus solvent control [a] (mean)	CYP2B6 mRNA: Percent induction relative to positive control (%)
DMSO	0.1% (v/v)	NA	1.00	NA	1.00	NA
Ibrutinib	0.05 µmol/L	0.01 – 0.02 µmol/L	1.42	2.2	1.38	4.8
Ibrutinib	0.2 µmol/L	0.04 – 0.11 µmol/L	1.47	2.4	1.53	6.6
Ibrutinib	1 µmol/L	0.22 – 0.63 µmol/L	1.76	4.0	2.65	21.2
Ibrutinib	2 µmol/L	0.47 – 1.28 µmol/L	1.99	5.4	6.56	60.1
Omeprazole	50 µmol/L	NA	21.35	100	NA	NA
Phenobarbital	750 µmol/L	NA	NA	NA	5.20	NA
Phenobarbital	1000 µmol/L	NA	NA	NA	8.43	100

Additional Information

[a] Normalized to housekeeping gene PPIB.

Data are expressed as average of 3 human hepatocytes batches (triplicate determinations for every batch of hepatocytes) except for 2 human hepatocyte batches for 2 µmol/L ibrutinib.

CYP = cytochrome P450; DMSO = dimethyl sulfoxide; mRNA = messenger ribonucleic acid; NA = not applicable; PPIB = peptidylprolyl isomerase B (cyclophilin B)

2.6.5.12　B　薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.2.4.3】
Study No.	[redacted]-207-Hu-X-CYP (FK10805)
Type of Study	CYP3A K_i of ibrutinib evaluation in human liver microsomes
Method	Midazolam (CYP3A substrate) was incubated for 10 min with human liver microsomes at a microsomal protein concentration of 0.05 mg/mL. Midazolam concentrations incubated ranged 0.5, 1, 2, 4 and 8 µmol/L, or approximately 6-fold below through approximately 2.5-fold above K_m. Nominal concentrations of ibrutinib ranged from 0.1 to 30 µmol/L. The formation of the midazolam CYP3A metabolite, 1-OH midazolam, and the remaining ibrutinib concentration were measured at the end of the incubation.

Recovery:
nominal ibrutinib concentration range: 0.1 to 30 µmol/L
actual ibrutinib concentration range: 0.01 to 11.4 µmol/L

Enzyme kinetic parameters:

K_m =	3.17 µmol/L	
V_{max} =	0.560 nmol/mg/min	
K_i =	5.79 µmol/L	using the nominal concentrations of ibrutinib
K_i =	1.34 µmol/L	using the actual concentrations of ibrutinib measured at the end of the incubation. The assumption was made that concentrations of ibrutinib throughout the whole incubation are equal to the ibrutinib concentrations at the end of the incubation, which in reality is an underestimation, especially at the early time points of the incubation period.

CYP = cytochrome P450; K_m = Michaelis constant; K_i = inhibition constant; V_{max} = maximum velocity

(Continued)

2.6.5.12　B　薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害（続き）

Test Article: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.2.4.4】			
Study No.	[redacted]-222-Hu-X-CYP (FK10804)			
Type of Study	*In vitro* time dependent inhibition for CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 by ibrutinib in human liver microsomes			
Method	Assays were performed with and without a pre-incubation of ibrutinib in the presence of NADPH for 30 minutes. IC_{50} shift value was calculated according to the method described by Berry et al. (2013) using actual ibrutinib levels determined in a satellite experiment without and with pre-incubation.			
CYP Enzyme	**Measured Activity**	**IC_{50} (μmol/L) without pre-incubation**	**IC_{50} (μmol/L) with pre-incubation in the presence of NADPH**	**IC_{50} Shift Value**
CYP1A2	Phenacetin O-deethylation	> 37.6	> 33.3	NC
CYP2B6	Bupropion hydroxylation	4.77	3.40	1.40
CYP2C8	Amodiaquine N-deethylation	4.22	2.60	1.62
CYP2C9	Tolbutamide 4-methylhydroxylation	3.59	1.82	1.97
CYP2C19	S-Mephenytoin 4-hydroxylation	12.4	11.2	1.11
CYP2D6	Dextromethorphan O-demethylation	9.19	8.27	1.11

Additional Information
Based on development experience the company's internal threshold IC_{50} shift value suggesting the potential for clinically relevant TDI is set at > 2-fold.
Berry et al. (2013) defines a 0.7- to 1.5-fold IC_{50} shift value to indicate minimal TDI potential, a 1.5- to 10-fold IC_{50} shift value to indicate moderate TDI potential, and a >10-fold IC_{50} shift value to indicate substantial TDI potential.

CYP = cytochrome P450; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NC: not calculated; TDI = time dependent inhibition

(Continued)

2.6.5.12　B　薬物動態試験：薬物代謝酵素の阻害（続き）

Test Article: M21

Location in CTD	【4.2.2.4.5】
Study No.	[redacted]-018-Hu-X-CYP (FK10900)
Type of Study	*In vitro* inhibition potential of M21 towards specific isoenzymes of human hepatic cytochrome P450
Methods	Incubation System: Human Liver Microsomes (HLM) (in 100 mmol/L Potassium Phosphate Buffer, 5 mmol/L $MgCl_2$, 1 mmol/L EDTA) Analytical: LC-MS/MS Cocktail Assay (Sciex API 4000™, MRM Scan Mode, ESI) Monitoring Probe Metabolite Formation Experimental: REVERSIBLE INHIBITION (IC_{50} 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 37ºC

CYP Enzyme	Probe Substrate	Concentration (µmol/L)	HLM (mg/mL)	M21 IC_{50} (µmol/L)	Max. % Inhibition	Positive Control Inhibitor	Concentration Range (µmol/L)	IC_{50} (µmol/L)
CYP1A2	Phenacetin	80	0.2	n/a	6	α-Naphthoflavone	0.0005 – 0.5	0.029
CYP2A6	Coumarin	2	0.2	n/a	8	Tranylcypromine	0.02 – 20	0.98
CYP2B6	Bupropion	25	0.2	> 100	45	Ticlopidine	0.005 – 5	0.13
CYP2C8	Amodiaquine	2	0.1	9.5	93	Quercetin	0.03 – 30	4.2
CYP2C9	Tolbutamide	100	0.15	75	58	Sulphaphenazole	0.005 – 5	0.43
CYP2C9	Diclofenac	5	0.15	54	69	Sulphaphenazole	0.005 – 5	0.29
CYP2C19	S-(+)-Mephenytoin	30	0.2	> 100	16	N-3-BenzylPB	0.002 – 2	0.13
CYP2D6	Dextromethorphan	3	0.15	97	58	Quinidine	0.002 – 2	0.039
CYP2E1	Chlorzoxazone	45	0.2	n/a	< 5	4-Methylpyrazole	0.02 – 20	0.29
CYP3A4	Testosterone	25	0.15	> 100	46	Ketoconazole	0.002 – 2	0.022
CYP3A4	Midazolam	2	0.15	95	52	Ketoconazole	0.002 – 2	0.026
CYP3A4	Nifedipine	10	0.1	98	49	Ketoconazole	0.002 – 2	0.021

Additional Information
n/a = no concentration-dependent inhibition observed

CYP = cytochrome P450; EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; ESI = electrospray ionization; HLM = human liver microsomes; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LC-MS/MS = liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MRM = multiple reaction monitoring; N-3-BenzylPB = N-3-Benzylphenobarbital

2.6.5.13　薬物動態試験：尿･糞中排泄

該当資料なし

2.6.5.14　薬物動態試験：胆汁中排泄

該当資料なし

2.6.5.15　A　薬物動態試験：薬物相互作用（トランスポーター：基質）

Test Article: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.1】
Study No.	[redacted]-261-V-X-TS (FK10896)
Type of Study	*In vitro* evaluation of P-gp (MDR1) mediated transport of metabolite M21 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.

Test substrate (nominal concentration)	**Inhibitor (concentration)**	**Direction**	**LLC-PK1 – Parental**		**LLC-PK1 – MDR1**	
			P_{app} (10^{-6} cm/s)	**Ratio BA/AB**	**P_{app} (10^{-6} cm/s)**	**Ratio BA/AB**
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	-	AB	1.87 ± 0.18	2.77	0.56 ± 0.04	14.9
(Control substrate)		BA	5.19 ± 0.11		8.33 ± 0.19	
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	+ GF120918 (5 µmol/L)	AB	2.84 ± 0.33	0.95	2.51 ± 0.66	1.05
(Control substrate)	(Reference inhibitor)	BA	2.70 ± 0.13		2.63 ± 0.42	
M21 (0.2 µmol/L)	-	AB	0.12 ± 0	1.14	0.12 ± 0	1.59
		BA	0.13 ± 0.13		0.18 ± 0.12	
M21 (0.2 µmol/L)	+ GF120918 (5 µmol/L)	AB	0.12 ± 0.03	0.89	0.12 ± 0.04	1.34
	(Reference inhibitor)	BA	0.10 ± 0.01		0.16 ± 0.02	
M21 (1 µmol/L)	-	AB	0.04 ± 0.01	1.23	0.07 ± 0.04	1.17
		BA	0.05 ± 0.02		0.08 ± 0.03	
M21 (1 µmol/L)	+ GF120918 (5 µmol/L)	AB	0.05 ± 0.01	0.52	0.06 ± 0	1.17
	(Reference inhibitor)	BA	0.03 ± 0.01		0.07 ± 0.05	

Additional Information

M21 is not a substrate of the P-gp transporter at 0.2 and 1.0 µmol/L

The recovery of M21 (mass balance of donor + acceptor compartments after 120-min incubation as percent of the initial amount incubated) was 100% and 79.0% for incubations with 0.2 and 1 µmol/L M21, respectively.

AB = apical to basolateral; BA = basolateral to apical; BSA = bovine serum albumin; LLC-PK = Lilly Laboratories cell-porcine kidney; MDR = multidrug resistance; P_{app} = apparent permeability; P-gp = P-glycoprotein

(Continued)

2.6.5.15　A　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: Ibrutinib and PCI-45227 (M37)

Location in CTD	【4.2.2.6.2】
Study No.	[redacted]-203-V-X-TS (FK10816)
Type of Study	*In vitro* evaluation of BCRP (ABCG2) mediated transport of ibrutinib and PCI-45227 (M37) in membrane vesicles in the inside-out orientation
Method	Test system: inside-out vesicles, parental and overexpressing human BCRP, triplicate determinations Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below.

Test substrate	Test concentration Nominal	Test concentration Actual	Incubation	Reference Inhibitor (concentration)	Inside-out vesicles – Parental Uptake (cpm) -ATP	Inside-out vesicles – Parental Uptake (cpm) +ATP	Inside-out vesicles – BCRP Uptake (cpm) -ATP	Inside-out vesicles – BCRP Uptake (cpm) +ATP	Dynamic Range
^{3}H-E3S (Control substrate)	1 µmol/L	-	1 min	-	1600 ± 306	1115 ± 39	1182 ± 146	1624 ± 182	1.37
				+ KO143 (1 µmol/L)	1577 ± 210	1510 ± 174	1380 ± 100	1209 ± 168	
			5 min	-	916 ± 238	887 ± 59	846 ± 32	2279 ± 40	2.69
				+ KO143 (1 µmol/L)	877 ± 87	840 ± 27	777 ± 36	777 ± 64	
			10 min	-	914 ± 120	732 ± 366	825 ± 36	2150 ± 109	2.61
				+ KO143 (1 µmol/L)	909 ± 99	863 ± 50	831 ± 31	844 ± 28	
^{14}C-Ibrutinib	0.2 µmol/L	0.09 µmol/L	1 min	-	92 ± 10	90 ± 3	87 ± 2	78 ± 3	0.89
				+ KO143 (1 µmol/L)	82 ± 6	91 ± 6	92 ± 2	85 ± 5	
	0.2 µmol/L	0.12 µmol/L	5 min	-	129 ± 14	127 ± 9	115 ± 7	126 ± 7	1.10
				+ KO143 (1 µmol/L)	132 ± 4	126 ± 8	132 ± 8	128 ± 7	
	0.2 µmol/L	0.10 µmol/L	10 min	-	118 ± 19	114 ± 12	117 ± 6	109 ± 9	0.93
				+ KO143 (1 µmol/L)	118 ± 4	115 ± 4	117 ± 10	108 ± 3	
	0.2 µmol/L	0.11 µmol/L	30 min	-	104 ± 14	111 ± 7	105 ± 4	98 ± 3	0.94
				+ KO143 (1 µmol/L)	107 ± 6	107 ± 2	102 ± 5	98 ± 5	
^{14}C-Ibrutinib	1 µmol/L	0.57 µmol/L	1 min	-	934 ± 46	943 ± 33	931 ± 7	965 ± 34	1.04
				+ KO143 (1 µmol/L)	850 ± 13	999 ± 125	888 ± 59	907 ± 27	
	1 µmol/L	0.61 µmol/L	5 min	-	1100 ± 94	1055 ± 60	1100 ± 45	1056 ± 120	0.96
				+ KO143 (1 µmol/L)	1022 ± 63	1102 ± 36	1114 ± 41	1104 ± 44	
	1 µmol/L	0.56 µmol/L	10 min	-	998 ± 128	905 ± 87	985 ± 24	969 ± 53	0.98
				+ KO143 (1 µmol/L)	1040 ± 123	922 ± 103	1060 ± 36	1000 ± 24	
	1 µmol/L	0.62 µmol/L	30 min	-	945 ± 27	954 ± 53	1005 ± 59	933 ± 15	0.93
				+ KO143 (1 µmol/L)	927 ± 30	961 ± 27	949 ± 55	1005 ± 9	

(Continued)

2.6.5.15　A　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: Ibrutinib and PCI-45227 (M37)

Location in CTD	【4.2.2.6.2】
Study No.	[redacted]-203-V-X-TS (FK10816)
Type of Study	*In vitro* evaluation of BCRP (ABCG2) mediated transport of ibrutinib and PCI-45227 (M37) in membrane vesicles in the inside-out orientation

Test substrate	Test concentration Nominal	Test concentration Actual	Incubation	Reference Inhibitor (concentration)	Inside-out vesicles – Parental Uptake (ng/mL) -ATP	Inside-out vesicles – Parental Uptake (ng/mL) +ATP	Inside-out vesicles – BCRP Uptake (ng/mL) -ATP	Inside-out vesicles – BCRP Uptake (ng/mL) +ATP	Dynamic Range
PCI-45227 (M37)	0.2 µmol/L	0.20 µmol/L	1 min	-	0.73 ± 0.08	0.58 ± 0.10	0.67 ± 0.07	0.59 ± 0.07	0.88
				+ KO143 (1 µmol/L)	1.55 ± 1.28	0.59 ± 0.04	0.64 ± 0.08	0.58 ± 0.04	
	0.2 µmol/L	0.23 µmol/L	5 min	-	1.15 ± 0.11	1.10 ± 0.07	1.34 ± 0.07	1.19 ± 0.02	0.89
				+ KO143 (1 µmol/L)	1.21 ± 0.07	1.19 ± 0.01	1.42 ± 0.05	1.29 ± 0.16	
	0.2 µmol/L	0.23 µmol/L	10 min	-	1.14 ± 0.01	0.93 ± 0.10	1.08 ± 0.03	1.07 ± 0.07	0.99
				+ KO143 (1 µmol/L)	1.08 ± 0.23	0.92 ± 0.14	1.11 ± 0.07	1.04 ± 0.07	
	0.2 µmol/L	0.21 µmol/L	30 min	-	0.69 ± 0.08	0.72 ± 0.06	0.79 ± 0.05	0.72 ± 0.02	0.91
				+ KO143 (1 µmol/L)	0.66 ± 0.04	0.68 ± 0.02	0.83 ± 0.02	0.60 ± 0.06	
PCI-45227 (M37)	1 µmol/L	0.90 µmol/L	1 min	-	3.34 ± 0.85	3.39 ± 1.19	3.35 ± 0.29	2.82 ± 0.58	0.84
				+ KO143 (1 µmol/L)	2.78 ± 0.15	2.53 ± 0.34	3.38 ± 0.17	2.58 ± 0.42	
	1 µmol/L	0.92 µmol/L	5 min	-	4.85 ± 0.73	5.91 ± 1.07	5.95 ± 0.47	5.89 ± 0.49	0.99
				+ KO143 (1 µmol/L)	4.75 ± 0.35	5.05 ± 0.87	5.30 ± 0.17	4.98 ± 0.66	
	1 µmol/L	0.95 µmol/L	10 min	-	5.11 ± 0.35	4.96 ± 0.23	6.19 ± 1.02	6.09 ± 0.51	0.98
				+ KO143 (1 µmol/L)	4.51 ± 0.52	4.29 ± 0.38	5.37 ± 0.21	5.40 ± 0.86	
	1 µmol/L	0.99 µmol/L	30 min	-	2.67 ± 0.02	2.77 ± 0.27	3.52 ± 0.19	2.59 ± 0.23	0.74
				+ KO143 (1 µmol/L)	2.45 ± 0.51	3.13 ± 0.17	3.80 ± 0.27	2.79 ± 0.59	

Additional Information
Recoveries of ^{14}C-ibrutinib and PCI-45227 (M37) after different incubation times were determined and used to calculate actual test concentrations.

ATP = adenosine triphosphate; BCRP = breast cancer resistance protein; cpm = counts per minute; E3S = estrone-3-sulfate

(Continued)

2.6.5.15　A　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: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.3】
Study No.	[redacted]-254-V-X-TS (FK10894)
Type of Study	*In vitro* evaluation of BCRP (ABCG2) mediated transport of M21 in membrane vesicles in the inside-out orientation
Method	Test system: inside-out vesicles, parental and overexpressing human BCRP, triplicate determinations Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below.

Test substrate	**Test concentration**		**Incubation**	**Reference Inhibitor**	**Inside-out vesicles – BCRP Uptake (pmol/mg/min)**		**Dynamic Range**
	Nominal	**Actual**		**(concentration)**	**-ATP**	**+ATP**	
^{3}H-E3S	1 µmol/L	-	1 min	-	11.7 ± 0.2	57.2 ± 6.6	4.90
(Control substrate)				+ KO143 (1 µmol/L)	13.0 ± 2.0	11.8 ± 0.2	0.91
			5 min	-	2.76 ± 0.14	12.9 ± 0.3	4.69
				+ KO143 (1 µmol/L)	2.70 ± 0.05	3.31 ± 0.18	1.23
M21	0.2 µmol/L	NA	1 min	-	12.0 ± 1.2	599 ± 64	49.8
				+ KO143 (1 µmol/L)	10.6 ± 1.3	14.7 ± 3.5	1.39
	0.2 µmol/L	NA	5 min	-	1.9 ± 0.5	107 ± 3	57.9
				+ KO143 (1 µmol/L)	1.5 ± 0.1	2.8 ± 1.0	1.91
M21	1 µmol/L	NA	1 min	-	73.5 ± 32.4	2398 ± 70	32.6
				+ KO143 (1 µmol/L)	34.0 ± 10.9	102 ± 28.1	3.01
	1 µmol/L	NA	5 min	-	9.2 ± 2.5	572 ± 12	62.3
				+ KO143 (1 µmol/L)	5.3 ± 1.0	15 ± 11.2	2.87

Additional Information
Data from parental inside-out vesicles are not shown.
Recoveries of M21 after different incubation times were not determined.

ATP = adenosine triphosphate; BCRP = breast cancer resistance protein; E3S = estrone-3-sulfate; NA = not assessed

(Continued)

2.6.5.15　A　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: Ibrutinib and PCI-45227 (M37)

Location in CTD	【4.2.2.6.4】
Study No.	[redacted]-209-V-X-TS (FK10810)
Type of Study Method	*In vitro* evaluation of MRP1 (ABCC1) mediated transport of ibrutinib and PCI-45227 (M37) in membrane vesicles in the inside-out orientation Test system: inside-out vesicles, parental and overexpressing human MRP1, triplicate determinations Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below.

Test substrate	Test concentration Nominal	Test concentration Actual	Incubation	Reference Inhibitor (concentration)	Inside-out vesicles – Parental Uptake (cpm) -ATP	Inside-out vesicles – Parental Uptake (cpm) +ATP	Inside-out vesicles – MRP1 Uptake (cpm) -ATP	Inside-out vesicles – MRP1 Uptake (cpm) +ATP	Dynamic Range
^{3}H-LTC (Control substrate)	5 µmol/L	-	1 min	-	11 ± 7	22 ± 5	8 ± 1	96 ± 5	12.00
				MK571 (150 µmol/L)	10 ± 4	8 ± 3	9 ± 3	9 ± 2	
				-	12 ± 5	13 ± 1	8 ± 2	82 ± 3	10.29
				MK571 (150 µmol/L)	7 ± 3	7 ± 1	6 ± 2	8 ± 1	
^{14}C-Ibrutinib	0.2 µmol/L	0.09 µmol/L	1 min	-	21 ± 9	15 ± 2	12 ± 7	17 ± 3	1.46
				MK571 (150 µmol/L)	20 ± 9	14 ± 2	15 ± 1	15 ± 3	
	0.2 µmol/L	0.12 µmol/L	5 min	-	18 ± 4	16 ± 3	15 ± 1	18 ± 2	1.23
				MK571 (150 µmol/L)	20 ± 5	19 ± 3	18 ± 2	18 ± 2	
	0.2 µmol/L	0.10 µmol/L	10 min	-	18 ± 5	21 ± 1	16 ± 4	18 ± 2	1.12
				MK571 (150 µmol/L)	22 ± 4	18 ± 1	19 ± 1	17 ± 6	
	0.2 µmol/L	0.11 µmol/L	30 min	-	17 ± 5	22 ± 4	19 ± 4	23 ± 1	1.23
				MK571 (150 µmol/L)	16 ± 4	18 ± 2	19 ± 2	19 ± 3	
^{14}C-Ibrutinib	1 µmol/L	0.57 µmol/L	1 min	-	77 ± 4	94 ± 4	64 ± 6	116 ± 14	1.82
				MK571 (150 µmol/L)	81 ± 3	68 ± 3	72 ± 8	71 ± 7	
	1 µmol/L	0.61 µmol/L	5 min	-	88 ± 20	146 ± 10	73 ± 5	165 ± 7	2.26
				MK571 (150 µmol/L)	106 ± 8	99 ± 4	85 ± 4	92 ± 6	
	1 µmol/L	0.56 µmol/L	10 min	-	86 ± 13	175 ± 9	74 ± 2	165 ± 19	2.22
				MK571 (150 µmol/L)	95 ± 6	88 ± 1	92 ± 8	87 ± 5	
	1 µmol/L	0.62 µmol/L	30 min	-	141 ± 6	251 ± 22	146 ± 25	265 ± 8	1.82
				MK571 (150 µmol/L)	161 ± 29	131 ± 17	159 ± 14	150 ± 12	

(Continued)

2.6.5.15　A　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: Ibrutinib and PCI-45227 (M37)

Location in CTD	【4.2.2.6.4】
Study No.	[redacted]-209-V-X-TS (FK10810)
Type of Study	*In vitro* evaluation of MRP1 (ABCC1) mediated transport of ibrutinib and PCI-45227 (M37) in membrane vesicles in the inside-out orientation

Test substrate	Test concentration Nominal	Test concentration Actual	Incubation	Reference Inhibitor (concentration)	Inside-out vesicles – Parental Uptake (ng/mL) -ATP	Inside-out vesicles – Parental Uptake (ng/mL) +ATP	Inside-out vesicles – MRP1 Uptake (ng/mL) -ATP	Inside-out vesicles – MRP1 Uptake (ng/mL) +ATP	Dynamic Range
PCI-45227 (M37)	0.2 µmol/L	0.20 µmol/L	1 min	-	BQL	BQL	BQL	BQL	
				MK571 (150 µmol/L)	BQL	BQL	BQL	BQL	
	0.2 µmol/L	0.23 µmol/L	5 min	-	0.109 ± 0.006	BQL	BQL	BQL	
				MK571 (150 µmol/L)	BQL	0.116 ± 0.013	BQL	BQL	
	0.2 µmol/L	0.23 µmol/L	10 min	-	BQL	BQL	BQL	BQL	
				MK571 (150 µmol/L)	BQL	BQL	0.115 ± 0.013	BQL	
	0.2 µmol/L	0.21 µmol/L	30 min	-	0.177 ± 0.049	BQL	0.164 ± 0.101	0.240 ± 0.090	1.47
				MK571 (150 µmol/L)	0.170 ± 0.011	0.180 ± 0.075	0.200 ± 0.049	0.155 ± 0.013	
PCI-45227 (M37)	1 µmol/L	0.90 µmol/L	1 min	-	0.402 ± 0.043	0.265 ± 0.038	0.369 ± 0.023	0.280 ± 0.069	0.76
				MK571 (150 µmol/L)	0.387 ± 0.173	0.270 ± 0.012	0.325 ± 0.005	0.265 ± 0.027	
	1 µmol/L	0.92 µmol/L	5 min	-	0.360 ± 0.024	0.310 ± 0.053	0.356 ± 0.061	0.392 ± 0.053	1.18
				MK571 (150 µmol/L)	0.385 ± 0.020	0.389 ± 0.070	0.441 ± 0.123	0.401 ± 0.116	
	1 µmol/L	0.95 µmol/L	10 min	-	0.370 ± 0.106	0.298 ± 0.056	0.330 ± 0.025	0.307 ± 0.072	0.92
				MK571 (150 µmol/L)	0.375 ± 0.109	0.317 ± 0.034	0.426 ± 0.217	0.493 ± 0.129	
	1 µmol/L	0.99 µmol/L	30 min	-	0.768 ± 0.600	1.523 ± 0.035	0.811 ± 0.667	1.316 ± 0.726	1.35
				MK571 (150 µmol/L)	0.522 ± 0.113	0.882 ± 0.116	1.497 ± 0.112	0.743 ± 0.187	

Additional Information
Recoveries of ^{14}C-ibrutinib and PCI-45227 (M37) after different incubation times were determined in Study [redacted]-203-V-X-TS (FK10816) and used to calculate actual test concentrations.
BQL: One or more replicates were below the quantification level of 0.100 ng/mL.

ATP = adenosine triphosphate; LTC = leukotriene C4; MRP = multidrug resistance-associated protein

(Continued)

2.6.5.15　A　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: Ibrutinib

Location in CTD	【4.2.2.6.5】
Study No.	[redacted]-145-Hu-X-TS (FK10575)
Type of Study	*In vitro* study on the uptake of ^{14}C-ibrutinib in human hepatocytes in suspension and plated human hepatocyte cultures
Method	Ibrutinib concentration was 1 µmol/L. Transport was determined after incubation at 37°C for 0, 10, 20, 30 and 60 sec. EG was included as reference substrate for OATP. E3S (OATP1B1 inhibitor) and rifamycin SV (OATP1B1/OATP1B3/OATP2B1 inhibitor) were included as positive control inhibitors of OATP-mediated transport. The pan-CYP inhibitor 1-ABT was added to inhibit CYP-mediated ibrutinib metabolism. All incubations were carried out in triplicate.

Test substrate	**Nominal test concentration**	**Reference inhibitor (concentration)**	**Incubation**	**Uptake in plated human hepatocytes (pmol/mg protein)**	**Inhibition**
^{3}H-EG (Control substrate)	1 µmol/L	1-ABT (1000 µmol/L)	20 sec	2.72 ± 0.34	-
			60 sec	7.42 ± 0.39	
^{3}H-EG (Control substrate)	1 µmol/L	1-ABT (1000 µmol/L) + rifamycin SV (100 µmol/L)	20 sec	1.16 ± 1.00	inhibition
			60 sec	2.77 ± 1.78	
^{14}C-ibrutinib	1 µmol/L	1-ABT (1000 µmol/L)	0 sec	35.4 ± 4.68	-
			10 sec	37.4 ± 2.16	
			20 sec	56.0 ± 4.45	
			30 sec	60.2 ± 13.2	
			60 sec	94.4 ± 4.50	
^{14}C-ibrutinib	1 µmol/L	1-ABT (1000 µmol/L) + rifamycin SV (100 µmol/L)	0 sec	24.8 ± 3.61	minor inhibition
			10 sec	37.5 ± 4.36	
			20 sec	47.9 ± 7.15	
			30 sec	49.5 ± 5.28	
			60 sec	56.2 ± 5.82	
^{14}C-ibrutinib	1 µmol/L	1-ABT (1000 µmol/L) + E3S (30 µmol/L)	0 sec	33.7 ± 3.05	no inhibition
			10 sec	48.0 ± 8.68	
			20 sec	50.8 ± 4.15	
			30 sec	72.4 ± 3.73	
			60 sec	72.7 ± 7.30	

Additional Information
Results for the ^{14}C-ibrutinib hepatic uptake experiments with human hepatocytes in suspension were inconclusive.

CYP = cytochrome P450; E3S = estrone-3-sulfate; EG = estradiol-17β-glucuronide; OATP = organic anion transporting polypeptide; 1-ABT = 1-amino benzotriazole

(Continued)

2.6.5.15　A　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: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.6】
Study No.	[redacted]-262-V-X-TS (FK10895)
Type of Study	*In vitro* study on the transport of M21 by OATP1B1 (SLCO1B1) and OATP1B3 (SLCO1B3)
Method	M21 concentrations were 0.2 and 1 µmol/L. Transport was determined after incubation at 37°C for 0.5 min, 1, 5 or 10 min. EG was included as reference substrate and rifampicin was used as a reference inhibitor. Incubations with OATP1B1 and OATP1B3 cells were performed in the presence and absence of 1% BSA, respectively. All incubations were carried out in triplicate.

Test substrate	Test concentration Nominal	Test concentration Actual	Incubation	Reference Inhibitor (concentration)	HEK293 – Parental Uptake (pmol/mg protein/min)	HEK293 – OATP1B1 Uptake (pmol/mg protein/min)	Inhibition (%)	Dynamic Range
^{3}H-EG (Control substrate)	1 µmol/L	-	0.5 min	-	1.57 ± 0.23	48.9 ± 1.8	-	31.1
				+ cyclosporin A (25 µmol/L)	2.13 ± 0.38	7.31 ± 0.28	89.1	
				+ rifampicin (25 µmol/L)	1.72 ± 0.71	10.6 ± 0.2	81.2	
M21	0.2 µmol/L	0.25 µmol/L [a]	0.5 min	-	< 1.85 ± 0.01	7.99 ± 0.23	-	> 4.33
			1 min	-	< 0.883 ± 0.028	6.82 ± 0.78	-	
			5 min	-	< 1.80 ± 0.002	2.37 ± 0.28	-	
			10 min	-	< 0.08 ± 0.011	1.41 ± 0.14	-	
M21	0.2 µmol/L	0.25 µmol/L [a]	0.5 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 1.80 ± 0.05	2.20 ± 0.40	93.5	
			1 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 0.883 ± 0.006	1.76 ± 0.26	85.3	
			5 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 0.177 ± 0.006	0.355 ± 0.023	91.9	
			10 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 0.086 ± 0.004	0.153 ± 0.018	95.0	
M21	1 µmol/L	1.29 µmol/L [a]	0.5 min	-	< 1.78 ± 0.05	33.4 ± 5.1	-	> 18.8
			1 min	-	< 1.104 ± 0.198	24.3 ± 2.9	-	
			5 min	-	< 0.215 ± 0.104	10.5 ± 1.2	-	
			10 min	-	< 0.100 ± 0.015	5.89 ± 0.94	-	
M21	1 µmol/L	1.29 µmol/L [a]	0.5 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 1.81 ± 0.03	8.96 ± 1.32	77.4	
			1 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	1.32 ± 0.48	6.26 ± 0.45	78.7	
			5 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 0.221 ± 0.053	1.29 ± 0.05	89.7	
			10 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 0.110 ± 0.031	0.541 ± 0.035	92.6	

(Continued)

2.6.5.15　A　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: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.6】
Study No.	[redacted]-262-V-X-TS (FK10895)
Type of Study	*In vitro* study on the transport of M21 by OATP1B1 (SLCO1B1) and OATP1B3 (SLCO1B3)

Test substrate	Test concentration Nominal	Test concentration Actual	Incubation	Reference Inhibitor (concentration)	HEK293 – Parental Uptake (pmol/mg protein/min)	HEK293 – OATP1B3 Uptake (pmol/mg protein/min)	Inhibition (%)	Dynamic Range
^{3}H-EG (Control substrate)	1 µmol/L	-	0.5 min	-	3.22 ± 0.18	38.5 ± 3.4	-	12.0
				+ cyclosporin A (25 µmol/L)	4.06 ± 0.59	4.51 ± 0.43	98.7	
				+ rifampicin (25 µmol/L)	3.71 ± 0.43	5.48 ± 0.15	95.0	
M21	0.2 µmol/L	0.26 µmol/L [a]	0.5 min	-	< 1.86 ± 0.06	16.3 ± 1.8	-	> 8.77
			1 min	-	< 0.999 ± 0.019	10.8 ± 1.8	-	
			5 min	-	< 0.212 ± 0.006	3.54 ± 0.52	-	
			10 min	-	< 0.098 ± 0.002	1.94 ± 0.14	-	
M21	0.2 µmol/L	0.26 µmol/L [a]	0.5 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 1.68 ± 0.29	3.10 ± 0.43	90.2	
			1 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 0.998 ± 0.033	1.22 ± 0.11	97.8	
			5 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 0.204 ± 0.009	< 0.163 ± 0.015	101	
			10 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 0.095 ± 0.001	< 0.079 ± 0.006	101	
M21	1 µmol/L	1.14 µmol/L [a]	0.5 min	-	3.50 ± 0.78	78.5 ± 7.2	-	22.4
			1 min	-	1.29 ± 0.16	48.1 ± 1.5	-	
			5 min	-	0.278 ± 0.044	16.9 ± 1.5	-	
			10 min	-	< 0.127 ± 0.0028	8.91 ± 1.26	-	
M21	1 µmol/L	1.14 µmol/L [a]	0.5 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	3.24 ± 0.66	15.3 ± 1.5	83.9	
			1 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	1.26 ± 0.05	6.04 ± 0.81	89.8	
			5 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	0.311 ± 0.012	0.597 ± 0.045	98.3	
			10 min	+ rifampicin (25 µmol/L)	< 0.096 ± 0.003	0.225 ± 0.034	98.5	

Additional Information

[a] The recovery of M21 was determined at the end of the incubation (10 min).

M21 is a substrate of OATP1B1 and OATP1B3 at nominal concentrations of 0.2 and 1 µmol/L.

BSA = bovine serum albumin; EG = estradiol-17β-glucuronide; HEK = human embryonic kidney; OATP = organic anion transporting polypeptide

(Continued)

2.6.5.15　A　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: Ibrutinib and PCI-45227 (M37)

Location in CTD	【4.2.2.6.7】
Study No.	[redacted]-165-V-X-TS (FK10812)
Type of Study	*In vitro* evaluation of OCT1 (SLC22A1), OCT2 (SLC22A2) and OAT1 (SLC22A6) mediated transport of ibrutinib and PCI-45227 (M37) in single-transfected CHO cell lines
Method	Test system: CHO cell lines, parental and overexpressing human OCT1, OCT2 or OAT1; triplicate determinations Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below.

Test substrate	Test concentration Nominal	Test concentration Actual	Incubation	Reference Inhibitor (concentration)	CHO – Parental Uptake (pmol/mg protein/min)	CHO – OCT1 Uptake (pmol/mg protein/min)	Inhibition (%)	Dynamic Range
^{14}C-TEA (Control substrate)	5 µmol/L	-	10 min	-	0.19 ± 0.30	50.2 ± 5.44	-	268
				+ verapamil (100 µmol/L)	0.07 ± 0.30	0.77 ± 0.98	98.5	
				+ quinidine (300 µmol/L)	0.31 ± 0.28	1.69 ± 0.21	96.6	
^{14}C-TEA (Control substrate)	5 µmol/L	-	10 min	-	0.70 ± 0.19	40.4 ± 1.74	-	58.0
				+ verapamil (100 µmol/L)	0.52 ± 0.10	1.55 ± 1.32	96.2	
				+ quinidine (300 µmol/L)	0.39 ± 0.51	2.62 ± 0.29	93.5	
^{14}C-TEA (Control substrate)	5 µmol/L	-	10 min	-	0.39 ± 0.48	25.6 ± 0.46	-	66.6
				+ verapamil (100 µmol/L)	0.31 ± 0.20	0.43 ± 0.06	98.3	
				+ quinidine (300 µmol/L)	0.31 ± 0.08	0.85 ± 0.19	96.7	
^{14}C-Ibrutinib	0.2 µmol/L	0.16 µmol/L	10 min	-	0.94 ± 0.04	0.93 ± 0.11	-	0.99
				+ verapamil (100 µmol/L)	1.17 ± 0.06	0.74 ± 0.08	20.8	
				+ quinidine (300 µmol/L)	1.12 ± 0.18	0.56 ± 0.12	40.0	
^{14}C-Ibrutinib	1.0 µmol/L	0.78 µmol/L	10 min	-	2.76 ± 0.45	3.20 ± 0.73	-	1.16
				+ verapamil (100 µmol/L)	3.82 ± 0.27	2.73 ± 0.68	14.6	
				+ quinidine (300 µmol/L)	3.15 ± 0.44	2.87 ± 0.47	10.2	
PCI-45227 (M37)	0.2 µmol/L	0.18 µmol/L	10 min	-	0.58 ± 0.10	0.58 ± 0.18	-	1.00
				+ verapamil (100 µmol/L)	1.26 ± 0.12	1.09 ± 0.34	No inhibition	
				+ quinidine (300 µmol/L)	0.81 ± 0.09	1.00 ± 0.42	No inhibition	
PCI-45227 (M37)	1.0 µmol/L	0.99 µmol/L	10 min	-	2.48 ± 0.49	2.71 ± 0.50	-	1.09
				+ verapamil (100 µmol/L)	4.83 ± 0.88	4.66 ± 0.77	No inhibition	
				+ quinidine (300 µmol/L)	4.14 ± 0.57	3.89 ± 0.30	No inhibition	

(Continued)

2.6.5.15　A　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: Ibrutinib and PCI-45227 (M37)

Location in CTD	【4.2.2.6.7】
Study No.	[redacted]-165-V-X-TS (FK10812)
Type of Study	*In vitro* evaluation of OCT1 (SLC22A1), OCT2 (SLC22A2) and OAT1 (SLC22A6) mediated transport of ibrutinib and PCI-45227 (M37) in single-transfected CHO cell lines

Test substrate	Test concentration		Incubation	Reference Inhibitor	CHO – Parental	CHO – OCT2		
	Nominal	Actual		(concentration)	Uptake (pmol/mg protein/min)	Uptake (pmol/mg protein/min)	Inhibition (%)	Dynamic Range
^{14}C-MF (Control substrate)	10 µmol/L	-	10 min	-	1.46 ± 0.10	35.2 ± 3.19	-	24.2
				+ verapamil (100 µmol/L)	1.24 ± 0.18	2.31 ± 0.68	93.4	
				+ quinidine (300 µmol/L)	1.40 ± 0.25	1.83 ± 0.61	94.8	
^{14}C-MF (Control substrate)	10 µmol/L	-	10 min	-	1.12 ± 0.14	33.1 ± 5.21	-	29.5
				+ verapamil (100 µmol/L)	0.87 ± 0.11	1.68 ± 0.57	95.0	
				+ quinidine (300 µmol/L)	1.02 ± 0.10	0.66 ± 0.41	98.0	
^{14}C-Ibrutinib	0.2 µmol/L	0.16 µmol/L	10 min	-	1.06 ± 0.10	2.22 ± 0.14	-	2.10
				+ verapamil (100 µmol/L)	1.15 ± 0.13	1.13 ± 0.27	49.3	
				+ quinidine (300 µmol/L)	1.00 ± 0.06	1.09 ± 0.06	51.0	
^{14}C-Ibrutinib	1.0 µmol/L	0.78 µmol/L	10 min	-	4.89 ± 0.37	5.02 ± 0.34	-	1.03
				+ verapamil (100 µmol/L)	4.67 ± 0.24	4.67 ± 0.10	7.02	
				+ quinidine (300 µmol/L)	4.41 ± 0.45	4.46 ± 0.62	11.1	
PCI-45227 (M37)	0.2 µmol/L	0.18 µmol/L	10 min	-	0.58 ± 0.10	0.75 ± 0.13	-	1.30
				+ verapamil (100 µmol/L)	1.26 ± 0.12	1.10 ± 0.23	No inhibition	
				+ quinidine (300 µmol/L)	0.81 ± 0.09	1.22 ± 0.42	No inhibition	
PCI-45227 (M37)	1.0 µmol/L	0.99 µmol/L	10 min	-	2.48 ± 0.49	3.05 ± 0.21	-	1.23
				+ verapamil (100 µmol/L)	4.38 ± 0.88	5.12 ± 1.64	No inhibition	
				+ quinidine (300 µmol/L)	4.14 ± 0.57	5.00 ± 0.24	No inhibition	

(Continued)

2.6.5.15　A　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: Ibrutinib and PCI-45227 (M37)

Location in CTD	【4.2.2.6.7】
Study No.	[redacted]-165-V-X-TS (FK10812)
Type of Study	*In vitro* evaluation of OCT1 (SLC22A1), OCT2 (SLC22A2) and OAT1 (SLC22A6) mediated transport of ibrutinib and PCI-45227 (M37) in single-transfected CHO cell lines

Test substrate	Test concentration		Incubation	Reference Inhibitor (concentration)	CHO – Parental Uptake (pmol/mg protein/min)	CHO – OAT1 Uptake (pmol/mg protein/min)	CHO – OAT1 Inhibition (%)	Dynamic Range
	Nominal	Actual						
^{14}C-PAH (Control substrate)	5 µmol/L	-	3 min	-	1.71 ± 0.42	94.5 ± 2.72	-	55.2
				+ probenecid (300 µmol/L)	1.53 ± 0.14	16.9 ± 0.59	82.2	
^{14}C-PAH (Control substrate)	5 µmol/L	-	3 min	-	1.29 ± 0.17	84.7 ± 3.61	-	65.9
				+ probenecid (300 µmol/L)	1.96 ± 0.12	16.6 ± 0.58	80.4	
^{14}C-PAH (Control substrate)	5 µmol/L	-	3 min	-	5.24 ± 1.06	135 ± 3.64	-	26.8
				+ probenecid (300 µmol/L)	8.07 ± 0.24	8.1 ± 0.94	94.0	
^{14}C-PAH (Control substrate)	5 µmol/L	-	3 min	-	5.66 ± 1.07	138 ± 11.4	-	25.3
				+ probenecid (300 µmol/L)	7.72 ± 1.06	12.9 ± 0.73	90.7	
^{14}C-Ibrutinib	0.2 µmol/L	0.16 µmol/L	3 min	-	3.08 ± 0.14	4.94 ± 0.37	-	1.60
				+ probenecid (300 µmol/L)	3.17 ± 0.13	3.06 ± 0.41	38.0	
^{14}C-Ibrutinib	1.0 µmol/L	0.78 µmol/L	3 min	-	10.9 ± 0.69	12.6 ± 0.78	-	1.16
				+ probenecid (300 µmol/L)	11.5 ± 0.92	10.2 ± 0.81	18.9	
PCI-45227 (M37)	0.2 µmol/L	0.17 µmol/L	3 min	-	3.50 ± 0.39	3.77 ± 0.43	-	1.08
				+ probenecid (300 µmol/L)	5.09 ± 0.18	4.98 ± 0.48	No inhibition	
PCI-45227 (M37)	1.0 µmol/L	0.88 µmol/L	3 min	-	19.0 ± 0.80	20.8 ± 0.19	-	1.09
				+ probenecid (300 µmol/L)	24.8 ± 1.66	25.6 ± 2.25	No inhibition	

Additional Information
Recoveries of ^{14}C-ibrutinib and PCI-45227 (M37) were determined after 3 min (OAT1) or 10 min (OCT1 and OCT2) of incubation and used to calculate the actual test concentrations.

CHO = Chinese hamster ovary; OAT = organic anion transporter; OCT = organic cation transporter; MF = metformin; PAH = para-aminohippurate; TEA = tetraethylammonium

(Continued)

2.6.5.15　A　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: Ibrutinib and PCI-45227 (M37)

Location in CTD	【4.2.2.6.8】
Study No.	[redacted]-164-V-X-TS (FK10811)
Type of Study Method	*In vitro* evaluation of OAT3 (SLC22A8) mediated transport of ibrutinib and PCI-45227 (M37) in single-transfected MDCK-II cell lines Test system: MDCK-II cell lines, parental and overexpressing human OAT3; triplicate determinations Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below.

Test substrate	Test concentration Nominal	Test concentration Actual	Incubation	Reference Inhibitor (concentration)	MDCK-II – Parental Uptake (pmol/mg protein/min)	MDCK-II – OAT3 Uptake (pmol/mg protein/min)	Inhibition (%)	Dynamic Range
^{3}H-E3S (Control substrate)	1 µmol/L	-	3 min	-	0.77 ± 0.06	16.3 ± 0.95	-	21.1
				+ probenecid (300 µmol/L)	0.79 ± 0.08	1.36 ± 0.11	91.6	
				+ furosemide (300 µmol/L)	0.77 ± 0.08	1.41 ± 0.04	91.4	
^{14}C-Ibrutinib	0.2 µmol/L	0.077 µmol/L	3 min	-	16.8 ± 0.85	18.0 ± 1.26	-	1.08
				+ probenecid (300 µmol/L)	17.2 ± 0.28	18.2 ± 0.52	No inhibition	
				+ furosemide (300 µmol/L)	18.2 ± 0.62	19.3 ± 0.40	No inhibition	
^{14}C-Ibrutinib	1.0 µmol/L	0.48 µmol/L	3 min	-	57.4 ± 0.75	57.1 ± 1.18	-	0.99
				+ probenecid (300 µmol/L)	56.9 ± 0.64	61.6 ± 3.46	No inhibition	
				+ furosemide (300 µmol/L)	59.9 ± 1.29	65.0 ± 1.58	No inhibition	
PCI-45227 (M37)	0.2 µmol/L	0.16 µmol/L	3 min	-	2.72 ± 0.21	3.44 ± 0.10	-	1.26
				+ probenecid (300 µmol/L)	2.59 ± 0.09	2.78 ± 0.05	19.2	
				+ furosemide (300 µmol/L)	2.47 ± 0.24	3.15 ± 0.22	8.23	
PCI-45227 (M37)	1.0 µmol/L	0.92 µmol/L	3 min	-	14.5 ± 1.71	17.4 ± 0.88	-	1.20
				+ probenecid (300 µmol/L)	14.2 ± 2.90	14.9 ± 0.14	14.3	
				+ furosemide (300 µmol/L)	13.1 ± 0.32	16.1 ± 0.13	7.34	

Additional Information
Recoveries of ^{14}C-ibrutinib and PCI-45227 (M37) were determined after 3 min of incubation and used to calculate the actual test concentrations.

E3S = estrone-3-sulfate; MDCK = Madin-Darby canine kidney; OAT = organic anion transporter

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：阻害）

Test Article: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.1】
Study No.	[redacted]-261-V-X-TS (FK10896)
Type of Study	*In vitro* evaluation of M21 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.

Test substrate (concentration)	**Inhibitor (nominal concentration)**	**Direction**	**LLC-PK1 – Parental**		**LLC-PK1 – MDR1**	
			P_{app} (10^{-6} cm/s)	**Ratio BA/AB**	**P_{app} (10^{-6} cm/s)**	**Ratio BA/AB**
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	-	AB	1.87 ± 0.18	2.77	0.56 ± 0.04	14.9
(Probe substrate)		BA	5.19 ± 0.11		8.33 ± 0.19	
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	+ GF120918 (5 µmol/L)	AB	2.84 ± 0.33	0.95	2.51 ± 0.66	1.05
(Probe substrate)	(Reference inhibitor)	BA	2.70 ± 0.13		2.63 ± 0.42	
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	+ M21 (0.10 µmol/L)	AB	1.55 ± 0.19	3.23	0.50 ± 0.16	17.0
(Probe substrate)		BA	5.00 ± 0.12		8.51 ± 0.62	
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	+ M21 (0.30 µmol/L)	AB	1.68 ± 0.13	3.44	0.42 ± 0.06	22.5
(Probe substrate)		BA	5.77 ± 0.43		9.34 ± 0.79	
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	+ M21 (1 µmol/L)	AB	1.57 ± 0.02	3.13	0.41 ± 0.06	21.4
(Probe substrate)		BA	4.91 ± 0.26		8.68 ± 0.31	
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	+ M21 (3 µmol/L)	AB	1.65 ± 0.10	3.29	0.45 ± 0.10	20.3
(Probe substrate)		BA	5.44 ± 0.19		9.22 ± 0.82	
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	+ M21 (10 µmol/L)	AB	1.51 ± 0.03	3.46	0.63 ± 0.22	14.8
(Probe substrate)		BA	5.23 ± 0.18		9.26 ± 0.28	
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	+ M21 (30 µmol/L)	AB	1.64 ± 0.21	3.19	0.97 ± 0.56	10.5
(Probe substrate)		BA	5.23 ± 0.33		10.1 ± 0.56	
^{3}H-Digoxin (30 nmol/L)	+ M21 (100 µmol/L)	AB	1.69 ± 0.11	3.04	0.49 ± 0.14	22.4
(Probe substrate)		BA	5.15 ± 0.25		11.0 ± 1.12	

Additional Information
M21 is not an inhibitor of the P-gp transporter up to a nominal concentration of 100 µmol/L (M21 concentration recovered at the end of the incubation: approximately 80 µmol/L).

AB = apical to basolateral; BA = basolateral to apical; BSA = bovine serum albumin; LLC-PK = Lilly Laboratories cell-porcine kidney; MDR = multidrug resistance; P_{app} = apparent permeability; P-gp = P-glycoprotein

(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：阻害）（続き）

Test Article: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.3】
Study No.	[redacted]254-V-X-TS (FK10894)
Type of Study	*In vitro* evaluation of M21 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 absence of 1% BSA. Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below.

Test substrate (concentration)	**Inhibitor (nominal concentration)**	**Inside-out vesicles – BCRP Uptake (pmol/mg/min) -ATP**	**+ATP**	**Fold Difference**
^{3}H-E3S (1 µmol/L)	-	12.8 ± 0.9	60.0 ± 0.9	4.70
(Probe substrate)	+ KO143 (1 µmol/L) (Reference inhibitor)	11.9 ± 1.1	14.0 ± 0.2	1.18
^{3}H-E3S (1 µmol/L)	M21 (0.1 µmol/L)	13.7 ± 1.4	57.5 ± 3.5	4.21
(Probe substrate)	M21 (1 µmol/L)	14.3 ± 1.1	50.4 ± 4.2	3.51
	M21 (10 µmol/L)	12.9 ± 0.5	22.4 ± 0.9	1.74
	M21 (100 µmol/L)	11.4 ± 0.8	11.9 ± 0.1	1.04

Additional Information
M21 inhibited the BCRP-mediated efflux of ^{3}H-E3S with an IC_{50} value of 2.31 µmol/L (taking into account M21 concentrations recovered at the end of the incubation).
M21 concentrations recovered at the end of the incubation were 0.06, 0.64, 9.77 and 88.0 µmol/L for nominal concentrations of 0.1, 1, 10 and 100 µmol/L, respectively.

ATP = adenosine triphosphate; BCRP = breast cancer resistance protein; BSA = bovine serum albumin; E3S = estrone-3-sulfate; IC_{50} = 50% inhibitory concentration

(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：阻害）（続き）

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

Location in CTD	【4.2.2.6.4】
Study No.	[redacted]-209-V-X-TS (FK10810)
Type of Study	*In vitro* evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227 (M37) as inhibitor of MRP1 transport in inside-out vesicles
Method	Test system: inside-out vesicles expressing MRP1 (also known as ABCC1), triplicate determinations Experiment was performed in the absence of BSA. Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below.

Test substrate (concentration)	**Inhibitor (nominal concentration)**	**ATP-dependent transport (cpm)**	**Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)**	**ATP-dependent transport (%)**
^{3}H-LTC (5 µmol/L)	-	103 ± 2.00	1854 ± 35.9	100 ± 1.94
(Probe substrate)	+ MK571 (150 µmol/L) (Reference inhibitor)	-6.00 ± 1.53	-108 ± 27.4	-5.81 ± 1.48
^{3}H-LTC (5 µmol/L)	Ibrutinib (0.1 µmol/L)	94.7 ± 5.51	1698 ± 98.8	91.6 ± 5.33
(Probe substrate)	Ibrutinib (1 µmol/L)	88.7 ± 9.54	1591 ± 171	85.8 ± 9.23
	Ibrutinib (10 µmol/L)	33.0 ± 8.02	592 ± 144	31.9 ± 7.76
	Ibrutinib (100 µmol/L)	6.67 ± 3.61	120 ± 64.7	6.45 ± 3.49
^{3}H-LTC (5 µmol/L)	-	105 ± 8.74	1878 ± 157	100 ± 8.35
(Probe substrate)	+ MK571 (150 µmol/L) (Reference inhibitor)	-0.67 ± 0.58	-12.0 ± 10.4	-0.64 ± 0.55
^{3}H-LTC (5 µmol/L)	M23 (0.1 µmol/L)	100 ± 6.81	1800 ± 122	95.9 ± 6.50
(Probe substrate)	M23 (1 µmol/L)	114 ± 4.58	2051 ± 82.2	109 ± 4.38
	M23 (10 µmol/L)	101 ± 3.06	1812 ± 54.8	96.5 ± 2.92
	M23 (100 µmol/L)	78.7 ± 7.57	1411 ± 136	75.2 ± 7.23
^{3}H-LTC (5 µmol/L)	-	107 ± 9.64	1914 ± 173	100 ± 9.04
(Probe substrate)	+ MK571 (150 µmol/L) (Reference inhibitor)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
^{3}H-LTC (5 µmol/L)	M25 (0.094 µmol/L)	91.0 ± 7.02	1633 ± 126	85.3 ± 6.58
(Probe substrate)	M25 (0.935 µmol/L)	94.7 ± 8.72	1698 ± 156	88.8 ± 8.17
	M25 (9.35 µmol/L)	88.3 ± 13.5	1585 ± 242	82.8 ± 12.7
	M25 (93.5 µmol/L)	40.0 ± 4.73	718 ± 84.8	37.5 ± 4.43

(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：阻害）（続き）

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

Location in CTD	【4.2.2.6.4】			
Study No.	[redacted]-209-V-X-TS (FK10810)			
Type of Study	*In vitro* evaluation of ibrutinib, M23, M25, M34 and PCI-45227 (M37) as inhibitor of MRP1 transport in inside-out vesicles			
Test substrate (concentration)	**Inhibitor (nominal concentration)**	**ATP-dependent transport (cpm)**	**Rate of Transport (pmol/mg membrane protein/min)**	**ATP-dependent transport (%)**
^{3}H-LTC (5 µmol/L) (Probe substrate)	-	108 ± 8.39	1938 ± 150	100 ± 7.77
	+ MK571 (150 µmol/L) (Reference inhibitor)	1.67 ± 1.15	29.9 ± 20.7	1.54 ± 1.07
^{3}H-LTC (5 µmol/L) (Probe substrate)	M34 (0.093 µmol/L)	110 ± 6.03	1973 ± 108	102 ± 5.58
	M34 (0.927 µmol/L)	106 ± 12.5	1899 ± 224	98.0 ± 11.6
	M34 (9.27 µmol/L)	97.0 ± 13.5	1740 ± 241	89.8 ± 12.5
	M34 (92.7 µmol/L)	98.3 ± 3.61	1764 ± 64.7	91.0 ± 3.34
^{3}H-LTC (5 µmol/L) (Probe substrate)	-	87.3 ± 4.16	1567 ± 74.7	100 ± 4.77
	+ MK571 (150 µmol/L) (Reference inhibitor)	-3.0 ± 2.08	-53.8 ± 37.3	-3.44 ± 2.38
^{3}H-LTC (5 µmol/L) (Probe substrate)	PCI-45227 (M37) (0.1 µmol/L)	76.0 ± 5.29	1363 ± 94.9	87.0 ± 6.06
	PCI-45227 (M37) (1 µmol/L)	76.0 ± 4.16	1363 ± 74.7	87.0 ± 4.77
	PCI-45227 (M37) (10 µmol/L)	60.3 ± 10.2	1082 ± 183	69.1 ± 11.7
	PCI-45227 (M37) (100 µmol/L)	48.7 ± 4.04	873 ± 72.5	55.7 ± 4.63

Additional Information
Ibrutinib inhibited the MRP1-mediated efflux of ^{3}H-LTC with an IC_{50} value of 5.06 µmol/L.
M25 slightly inhibited the MRP1-mediated efflux of ^{3}H-LTC with an IC_{50} value of 66.9 µmol/L.
M23 inhibited the MRP1-mediated efflux of ^{3}H-LTC with an IC_{50} value of > 100 µmol/L (24.8% inhibition at the highest concentration tested).
M34 inhibited the MRP1-mediated efflux of ^{3}H- LTC with an IC_{50} value of > 92.7 µmol/L (9% inhibition at the highest concentration tested).
PCI-45227 (M37) inhibited the MRP1-mediated efflux of ^{3}H-LTC with an IC_{50} value of > 100 µmol/L (44.3% inhibition at the highest concentration tested).

ATP = adenosine triphosphate; BSA = bovine serum albumin; cpm = counts per minute; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LTC = leukotriene C4; MRP = multidrug resistance-associated protein

(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：阻害）（続き）

Test Article: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.9】
Study No.	[redacted]-269-V-X-TS (FK10901)
Type of Study	*In vitro* evaluation of M21 as inhibitor of MRP1 transport in inside-out vesicles
Method	Test system: inside-out vesicles expressing MRP1 (also known as ABCC1), triplicate determinations Experiment was performed in the absence of BSA. Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below.

Test substrate (concentration)	**Inhibitor (concentration)** [a]	**Inside-out vesicles – MRP1 Uptake (pmol/mg/min) -ATP**	**+ATP**	**Fold Difference**
^{3}H-LTC (5 µmol/L)	-	280.7 ± 40.1	2286 ± 80	8.14
(Probe substrate)	+ MK571 (150 µmol/L) (Reference inhibitor)	320.8 ± 80.2	374.3 ± 23.2	1.17
^{3}H-LTC (5 µmol/L)	M21 (0.1 / 0.024 µmol/L)	307.5 ± 61.3	1952 ± 359	6.35
(Probe substrate)	M21 (1 / 0.411 µmol/L)	320.8 ± 80.2	1043 ± 223	3.25
	M21 (10 / 2.26 µmol/L)	307.5 ± 46.3	521.3 ± 106.1	1.70
	M21 (100 / 22.2 µmol/L)	374.3 ± 61.3	320.8 ± 40.1	0.86

Additional Information
M21 inhibited the MRP1-mediated efflux of ^{3}H-LTC with an IC_{50} value of 0.123 µmol/L taking into account M21 concentrations recovered at the end of the incubation.
[a] Concentration listed as nominal / recovered at the end of incubation.

ATP = adenosine triphosphate; BSA = bovine serum albumin; LTC = leukotriene C4; MRP = multidrug resistance-associated protein; IC_{50} = 50% inhibitory concentration

(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：阻害）（続き）

Test Article: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.6】
Study No.	[redacted]-262-V-X-TS (FK10895)
Type of Study Method	*In vitro* evaluation of M21 as inhibitor of OATP1B1 and OATP1B3 transport in HEK293 cell lines stably transfected with OATP1B1 or OATP1B3 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.

Test substrate (concentration)	**Inhibitor (concentration)** [a]	**HEK293 – Mock Rate of Transport (pmol/mg protein/min)**	**HEK293 – OATP1B1 Rate of Transport (pmol/mg protein/min)**	**Inhibition (%)**	**Dynamic Range**
^{3}H-EG (1 µmol/L)	-	1.57 ± 0.23	48.9 ± 1.8	-	31.1
(Probe substrate)	+ cyclosporin A (25 µmol/L) (Reference inhibitor)	2.13 ± 0.38	7.31 ± 0.28	89.1	
	+ rifampicin (25 µmol/L) (Reference inhibitor)	1.72 ± 0.71	10.6 ± 0.2	81.2	
^{3}H-EG (1 µmol/L)	-	1.57 ± 0.23	48.9 ± 1.8	-	
(Probe substrate)	+ M21 (0.1 / 0.1 µmol/L)	1.43 ± 0.21	52.0 ± 1.9	NI	
	+ M21 (1.0 / 1.1 µmol/L)	1.56 ± 0.14	43.3 ± 1.3	11.9	
	+ M21 (10 / 9.61 µmol/L)	1.51 ± 0.17	24.9 ± 0.1	53.1	
	+ M21 (100 / 100 µmol/L)	1.79 ± 0.21	11.1 ± 0.6	80.3	

(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：阻害）（続き）

Test Article: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.6】
Study No.	[redacted]-262-V-X-TS (FK10895)
Type of Study	*In vitro* evaluation of M21 as inhibitor of OATP1B1 and OATP1B3 transport in HEK293 cell lines stably transfected with OATP1B1 or OATP1B3

Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration) [a]	HEK293 – Mock Rate of Transport (pmol/mg protein/min)	HEK293 – OATP1B3 Rate of Transport (pmol/mg protein/min)	Inhibition (%)	Dynamic Range
^{3}H-EG (1 µmol/L)	-	3.22 ± 0.18	38.5 ± 3.4	-	12.0
(Probe substrate)	+ cyclosporin A (25 µmol/L) (Reference inhibitor)	4.06 ± 0.59	4.51 ± 0.43	98.7	
	+ rifampicin (25 µmol/L) (Reference inhibitor)	3.71 ± 0.43	5.48 ± 0.15	95.0	
^{3}H-EG (1 µmol/L)	-	3.22 ± 0.18	38.5 ± 3.4	-	
(Probe substrate)	+ M21 (0.3 / 0.3 µmol/L)	4.14 ± 0.31	34.7 ± 0.8	13.2	
	+ M21 (1.0 / 1.1 µmol/L)	3.50 ± 0.35	32.7 ± 1.0	17.3	
	+ M21 (3.0 / 4.1 µmol/L)	3.57 ± 0.13	27.1 ± 1.5	33.3	
	+ M21 (10 / 8 µmol/L)	3.62 ± 0.28	16.6 ± 0.4	63.2	
	+ M21 (100 / 81 µmol/L)	3.79 ± 0.20	4.70 ± 0.3	97.4	

Additional Information
M21 inhibits OATP1B1 and OATP1B3 mediated transport with IC_{50} values of 5.26 and 6.64 µmol/L, respectively, taking into account M21 concentrations recovered at the end of the incubation.
[a] Concentration for M21 listed as nominal / recovered at the end of incubation.

BSA = bovine serum albumin; EG = estradiol-17β-glucuronide; HEK = human embryonic kidney; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; NI = no inhibition; OATP = organic anion transporting polypeptide

(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：阻害）（続き）

Test Article: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.10】
Study No.	[redacted]-263-V-X-TS (FK10897)
Type of Study	*In vitro* evaluation of M21 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 (SLC22A6) or OCT2 (SLC22A2), triplicate determinations Experiment was performed in the presence of 1% BSA. Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below.

		CHO – Parental	CHO – OAT1			
Test substrate (concentration)	**Inhibitor (concentration)** [a]	**Rate of Transport (pmol/mg protein/min)**	**Rate of Transport (pmol/mg protein/min)**	**Transport (%)**	**Inhibition (%)**	**Dynamic Range**
^{14}C-PAH (5 µmol/L)	-	1.54 ± 0.57	61.1 ± 3.17	100	-	39.6
(Probe substrate)	+ probenecid (300 µmol/L) (Reference inhibitor)	2.34 ± 0.80	10.8 ± 0.02	14.2	85.8	
^{14}C-PAH (5 µmol/L)	-	1.54 ± 0.57	61.1 ± 3.17	100	-	
(Probe substrate)	+ M21 (0.1 / 0.07 µmol/L)	1.60 ± 0.54	58.9 ± 1.88	96.2	3.77	
	+ M21 (1.0 / 0.75 µmol/L)	1.56 ± 0.33	55.4 ± 2.36	90.4	9.59	
	+ M21 (10 / 7.41 µmol/L)	2.11 ± 0.11	58.5 ± 2.17	94.7	5.34	
	+ M21 (100 / 75.9 µmol/L)	2.12 ± 0.58	29.2 ± 1.46	45.4	54.6	

(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：阻害）（続き）

Test Article: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.10】
Study No.	[redacted]-263-V-X-TS (FK10897)
Type of Study	*In vitro* evaluation of M21 as inhibitor of OAT1 and OCT2 transport in CHO cell lines stably transfected with OAT1 or OCT2

Test substrate (concentration)	Inhibitor (concentration) [a]	CHO – Parental Rate of Transport (pmol/mg protein/min)	CHO – OCT2 Rate of Transport (pmol/mg protein/min)	Transport (%)	Inhibition (%)	Dynamic Range
^{14}C-MF (10 µmol/L)	-	0.95 ± 0.19	28.4 ± 1.18	100	-	30.1
(Probe substrate)	+ verapamil (100 µmol/L) (Reference inhibitor)	1.11 ± 0.16	1.82 ± 0.62	2.61	97.4	
	+ quinidine (300 µmol/L) (Reference inhibitor)	1.04 ± 0.06	1.22 ± 0.23	0.65	99.3	
^{14}C-MF (10 µmol/L)	-	0.95 ± 0.19	28.4 ± 1.18	100	-	
(Probe substrate)	+ M21 (0.1 / 0.07 µmol/L)	1.17 ± 0.21	28.2 ± 1.38	98.4	1.62	
	+ M21 (1.0 / 0.74 µmol/L)	1.10 ± 0.19	31.5 ± 1.16	111	NI	
	+ M21 (10 / 6.92 µmol/L)	1.13 ± 0.33	31.7 ± 0.89	111	NI	
	+ M21 (100 / 76.5 µmol/L)	0.99 ± 0.04	28.3 ± 1.00	99.4	0.58	

Additional Information

A minimal inhibitory effect (3.77% to 9.59%) on the OAT1 mediated transport of ^{14}C-PAH was observed up to a nominal concentration of 10 µmol/L M21. A clear inhibitory effect of M21 on the OAT1 mediated transport was observed at the highest tested nominal concentration of 100 µmol/L. An IC_{50} value of 73.2 µmol/L M21 was determined, taking into account M21 concentrations recovered at the end of the incubation.

No or a minimal effect (maximum 1.62% inhibition) on the OCT2 mediated transport of ^{14}C-MF was observed up to the highest tested nominal concentration of 100 µmol/L M21.

[a] Concentration listed as nominal/recovered at the end of incubation.

BSA = bovine serum albumin; CHO = Chinese hamster ovarian; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; OAT = organic anion transporter; OCT = organic cation transporter; MF = metformin; NI = no inhibition; PAH = para-aminohippurate

(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：阻害）（続き）

Test Article: M21

Location in CTD	【4.2.2.6.11】
Study No.	[redacted]-264-V-X-TS (FK10898)
Type of Study	*In vitro* evaluation of M21 as inhibitor of OAT3 in MDCK-II cell lines stably transfected with OAT3
Method	Test system: MDCK-II cell lines, parental and overexpressing OAT3 (SLC22A8), triplicate determinations Experiment was performed in the absence of 1% BSA. Test items, control substrate and reference inhibitors are mentioned below.

		MDCK-II – Parental	MDCK-II – OAT3			
Test substrate (concentration)	**Inhibitor (concentration)[a]**	**Rate of Transport (pmol/mg protein/min)**	**Rate of Transport (pmol/mg protein/min)**	**Transport (%)**	**Inhibition (%)**	**Dynamic Range**
^{3}H-E3S (1 µmol/L)	-	0.88 ± 0.11	9.73 ± 0.64	100	-	11.0
(Probe substrate)	+ probenecid (300 µmol/L) (Reference inhibitor)	0.91 ± 0.09	1.42 ± 0.03	5.8	94.2	
	+ furosemide (300 µmol/L) (Reference inhibitor)	0.89 ± 0.01	1.51 ± 0.22	6.9	93.1	
^{3}H-E3S (1 µmol/L)	-	0.88 ± 0.11	9.73 ± 0.64	100	-	
(Probe substrate)	+ M21 (0.1 / 0.1 µmol/L)	0.94 ± 0.08	10.6 ± 1.40	110	NI	
	+ M21 (1.0 / 1.0 µmol/L)	0.97 ± 0.03	10.3 ± 0.69	105	NI	
	+ M21 (10 / 6.6 µmol/L)	0.97 ± 0.06	4.32 ± 0.15	37.9	62.1	
	+ M21 (100 / 74.5 µmol/L)	0.95 ± 0.06	1.74 ± 0.13	8.94	91.1	

Additional Information
An inhibitory effect of M21 on the OAT3 mediated transport of ^{3}H-E3S was observed. An IC_{50} value of 4.63 µmol/L for M21 was determined taking into account M21 concentrations recovered at the end of the incubation.

[a] Concentration listed as nominal / recovered at the end of incubation.

BSA = bovine serum albumin; E3S = estrone-3-sulfate; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; MDCK = Madin-Darby canine kidney; NI = no inhibition; OAT = organic anion transporter

2.6.5.16　薬物動態試験：その他

該当資料なし