TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 3
LIST OF FIGURES 3
本項で使用する用語・略語 4
パラメータの略号および算出法 5
1. まとめ 6
1.1. 吸収 6
1.2. 分布 6
1.3. 代謝 6
1.4. 排泄 7
1.5. 薬物動態学的薬物相互作用 7
2. 分析法 8
2.1. HPLC/MS/MS による定量法 8
2.2. 放射性同位元素標識化合物 9
2.2.1. 被験物質 9
2.2.2. 放射能測定法 9
3. 吸収 10
3.1. 単回投与時の血漿中濃度 10
3.1.1. ラット 10
3.1.2. イヌ 10
3.1.3. サル 11
3.2. 反復投与時の血漿中濃度（トキシコキネティクス） 12
3.2.1. ラット 12
3.2.2. イヌ 16
3.3. 膜透過性およびトランスポーターの寄与 18
3.3.1. 膜透過性および排出トランスポーター 18
4. 分布 19
4.1. 組織分布 19
4.2. 肝取り込みトランスポーター 19
4.3. 血漿蛋白結合（in vitro） 20
4.3.1. パルボシクリブ 20
4.3.2. ラクタム代謝物（PF-05089326） 20

4.4. 血球移行 20
4.5. 妊娠ラットにおける経胎盤移行 20
5. 代謝 22
5.1. In vivo 22
5.1.1. ラット 22
5.1.2. イヌ 23
5.1.3. ヒト 24
5.1.4. ヒトと動物の代謝物の比較 24
5.2. In vitro 27
5.2.1. 肝細胞を用いた in vitro 代謝 27
5.3. 代謝に関与する CYP 分子種の同定 28
5.4. 代謝に関与する SULT 分子種の特定 28
6. 排泄 29
6.1. ラット 29
6.2. イヌ 29
6.3. ヒト 29
6.4. 乳汁中排泄 30
7. 薬物動態学的薬物相互作用 31
7.1. CYP 阻害 31
7.1.1. パルボシクリブ 31
7.1.2. PF-05089326 32
7.2. CYP 誘導 32
7.3. UGT 阻害 33
7.4. トランスポーターを介した薬物相互作用 33
7.4.1. 消化管排出トランスポーター阻害 33
7.4.2. 肝排出トランスポーター阻害 34
7.4.3. 肝取り込みトランスポーター阻害 34
7.4.4. 腎トランスポーター阻害 34
8. その他の薬物動態試験 36
9. 考察及び結論 37
10. 図表 39
11. 参考文献 44

LIST OF TABLES

Table 1. 雄ラット，イヌおよびサルにおける単回静脈内または経口投与後の薬物動態パラメータ 12
Table 2. 雌雄ラットを用いた反復経口投与毒性試験におけるパルボシクリブのトキシコキネティクスパラメータ 14
Table 3. 雌雄ラットを用いた反復経口投与毒性試験における PF-05089326 のトキシコキネティクスパラメータ 16
Table 4. イヌを用いた反復経口投与試験におけるパルボシクリブのトキシコキネティクスパラメータ 17

LIST OF FIGURES

Figure 1. [^{14}C]パルボシクリブ（PD-0332991）の構造 9
Figure 2. パルボシクリブの主な代謝経路 22
Figure 3. パルボシクリブのラット，イヌおよびヒトにおける血漿中代謝物 25
Figure 4. パルボシクリブのラット，イヌおよびヒトにおける排泄物中代謝物 26
Figure 5. マウス，ラット，イヌおよびヒト肝細胞におけるパルボシクリブの推定代謝経路 27
Figure 6. 雄ラットにパルボシクリブを単回投与したときの血漿中パルボシクリブ濃度推移（平均値±標準偏差） 39
Figure 7. 雄イヌにパルボシクリブを単回投与したときの血漿中パルボシクリブ濃度推移（平均値±標準偏差） 39
Figure 8. 雄サルにパルボシクリブを単回投与したときの血漿中パルボシクリブ濃度推移（平均値±標準偏差） 40
Figure 9. 雄有色ラットに[^{14}C]パルボシクリブを 20 mg/kg で単回経口投与したときの投与後 2.5～7.5 時間の全身オートラジオグラム 41
Figure 10. 雄有色ラットに[^{14}C]パルボシクリブを 20 mg/kg で単回経口投与したときの投与後 10～24 時間の全身オートラジオグラム 42
Figure 11. 雄有色ラットに[^{14}C]パルボシクリブを 20 mg/kg で単回経口投与したときの投与後 72～168 時間の全身オートラジオグラム 43

本項で使用する用語・略語

用語・略号	省略していない表現または定義
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{inf}	area under the plasma concentration-time curve from zero to infinity： 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_t	area under the plasma concentration-time curve from zero to time t： 0 時間から t 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistant protein：乳癌耐性蛋白質
BSEP	bile salt export pump：胆汁酸塩排出ポンプ
CDK	cyclin-dependent kinase：サイクリン依存性キナーゼ
CHO	Chinese hamster ovary
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450：シトクロム P450
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid：エチレンジアミン四酢酸
EMA	European Medicines Agency：欧州医薬品庁
F	bioavailability：バイオアベイラビリティ
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
f_u	fraction unbound：非結合型分率
HPLC	High performance liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィ
IC_{50}	50% inhibitory concentration：50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use：日米 EU 医薬品規制調和国際会議
ISR	incurred sample reanalysis：定量値の再現性確認のため，異なる日に別の分析単位で投与後試料を再分析すること
K_2EDTA	EDTA dipotassium salt：EDTA 二カリウム塩
K_{deg}	degradation rate constant：酵素分解の速度定数
K_i	inhibition constant：阻害定数
k_{inact}	maximal rate of enzyme inactivation：最大酵素不活性化速度定数
K_m	Michaelis constant：ミカエリス定数
Kp	partition coefficient：平均分配係数
MDCK	Madin-Darby canine kidney
MDR1	multidrug resistance protein 1：多剤耐性蛋白質 1
mRNA	messenger ribonucleic acid：メッセンジャーRNA
MS/MS	tandem mass spectrometry：タンデム質量分析法
NADPH	reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate： 還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
OAT	organic anion transporter：有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide：有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter：有機カチオントランスポーター
PBPK	physiologically based pharmacokinetic model：生理学的薬物動態モデル
P-gp	P-glycoprotein：P-糖蛋白質
SULT	sulfotransferase：硫酸転移酵素
$t_{½}$	apparent terminal half-life：終末相の見かけの消失半減期
T_{max}	time of occurrence of C_{max}：最高血漿中濃度到達時間
UGT	uridine diphosphate glucuronosyl transferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素

パラメータの略号および算出法

略号・用語	定義および算出法
T_{max}	最高血漿中濃度到達時間：(hr)
C_{max}	最高血漿中濃度：(ng/mL)
AUC_t	ゼロから最終検出可能時点（t）までの血漿中濃度－時間曲線下面積：(ng･hr/mL) 台形法を用いて算出した。 AUC_{24} は，ゼロから投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{inf}	ゼロから無限時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積：(ng･hr/mL) $AUC_{inf} = AUC_t + Ct／k_{el}$
$t_{½}$	消失半減期：(hr)　以下の式を用いて算出した。 $t_{½} = \ln 2／k_{el}$　　k_{el} は，消失速度定数：(hr^{-1})
CL_{tot}	全身クリアランス：(mL/min/kg)　以下の式を用いて算出した。 CL_{tot}= 投与量／AUC
V_{ss}	定常状態における分布容積：(L/kg)　以下の式を用いて算出した。 $V_{ss} = CL_{tot}／k_{el}$
F	バイオアベイラビリティ：(%)　以下の式を用いて算出した。 $\text{ﾊﾞｲｵｱﾍﾞｲﾗﾋﾞﾘﾃｨ}\ (\%) = \left(\frac{\text{経口投与したときの } AUC_{inf} \times \text{静脈内投与量}}{\text{静脈内投与したときの } AUC_{inf} \times \text{経口投与量}}\right) \times 100$
排泄率	尿中排泄率は以下の式により算出した。 $\text{尿中排泄率（\%）} = \Sigma \left(\frac{\text{尿中薬物（放射能）濃度} \times \text{尿量}}{\text{投与量（放射能）}}\right) \times 100$ 糞中排泄率および胆汁中排泄率の算出も上式を用いて同様に算出した。
IC_{50}	IC_{50} 値はそれぞれのチトクロム P450 分子種に特異的な酵素反応を 50%阻害するときの被験薬物濃度：(μmol/L)
P_{app}	MDCK 細胞などを用いた in vitro 細胞膜透過試験における被験薬物の見かけの透過係数：($\times 10^{-6}$ cm/sec) 頂側膜側に被験薬物を添加したときの頂側膜側から側底膜側への見かけの透過係数は $P_{appA \rightarrow B}$ と表し，側底膜側に被験薬物を添加したときの側底膜側から頂側膜側への見かけの透過係数は $P_{appB \rightarrow A}$ と表した。

1. まとめ

パルボシクリブの薬物動態は，主として薬理試験および毒性試験で使用した動物種であるマウス，ラットおよびイヌを用いて検討した。吸収，代謝および薬物トランスポーターに関する検討には目的に応じた in vitro 試験系を用いた。分布，代謝および排泄の検討には[^{14}C]パルボシクリブを使用した。生体試料中のパルボシクリブおよびラクタム代謝物の定量には高速液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析法（HPLC/MS/MS）を用いた。

1.1. 吸収

ラット，イヌおよびサルでは，パルボシクリブの全身クリアランスは低度から中等度（7.22 mL/min/kg～38.0 mL/min/kg）であり，大きな分布容積（5.05 L/kg～7.07 L/kg）を示したことから組織へ広範に分布することが示唆された。経口バイオアベイラビリティは 23.1%～56.1%であった。ラットおよびイヌを用いたトキシコキネティクス試験では，曝露量は用量増加に伴い増加した。ラットでは雄の方が雌より高い曝露量を示したが，イヌでは曝露量に性差は認められなかった。ラットでは反復投与によるパルボシクリブの顕著な蓄積は認められなかった。イヌでは最終投与日における曝露量は投与初日の 1.1～4.2 倍であった。

P-糖蛋白質（P-gp，MDR1）または乳癌耐性蛋白質（BCRP）を発現させた MDCK 細胞におけるパルボシクリブの膜透過性は中等度であり，P-gp および BCRP の低度から中等度の基質であったが，パルボシクリブのラットおよびヒトにおける消化管吸収は良好であり，排出トランスポーターの寄与はほとんどないものと考えられた。

1.2. 分布

[^{14}C]パルボシクリブを有色ラット（Long-Evans）に単回経口投与したところ，放射能はほとんどの組織および体液に広く分布し，組織中濃度は血中濃度よりも概して高かった。血液脳関門外にある髄膜，下垂体，脈絡叢および脳脊髄液を除く中枢神経系組織の放射能濃度は，血中濃度よりも低かった。[^{14}C]パルボシクリブ由来の放射能濃度はブドウ膜で最も高かった。

パルボシクリブの血漿蛋白結合率に濃度依存性は認められず，マウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトにおける非結合型分率（f_u）は 0.159，0.125，0.0733，0.413 および 0.147 であった。パルボシクリブはヒトでは血漿よりも赤血球にやや多く分布したが（Kp = 2.44），マウス，ラット，イヌおよびサルでは赤血球および血漿への分布は同程度であった（Kp = 0.94～1.36）。

1.3. 代謝

ラットにおけるパルボシクリブの主代謝経路は，酸化，硫酸抱合，グルクロン酸抱合，還元およびアシル化であり，イヌでは酸化が主代謝経路であった。ヒトにおける主代謝経路は酸化および硫酸抱合であり，グルクロン酸抱合およびアシル化も副次的な代謝経路と考えられた。ヒト血漿中の主代謝物は未変化体のグルクロン酸抱合体であったが（血中放射能の 14.8%），尿中に排出された量は投与量の 1.5%とわずかであった。パルボシクリブは，マウス，ラットおよびヒトの肝細胞により複数の代謝物へと代謝され，マウス，ラットおよびヒトにおける代謝は質的に類似していた。In vitro 代謝試験から，パルボシクリブは主として硫酸転移酵素（SULT）2A1 およびシトクロム P450（CYP）3A により代謝されることが示された。

1.4. 排泄

ラット，イヌおよびヒトにおいて，[^{14}C]パルボシクリブ由来の放射能は主として糞中に排泄され，尿中への排泄はわずかであった。胆管カニューレ挿入ラットへの投与後 48 時間までの胆汁中回収率は投与量の 50.1%～81.3%であった。

1.5. 薬物動態学的薬物相互作用

In vitro において，パルボシクリブおよびラクタム体である PF-05089326 はヒト肝ミクロソーム中の CYP3A に対して時間依存的阻害作用を示した。臨床における曝露量との比較から，パルボシクリブは，CYP1A2，CYP2A6，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 および CYP2D6 を阻害する可能性は低いと考えられた。また，パルボシクリブは臨床用量での定常状態における C_{max}（非結合型）の 50 倍の濃度においても，ヒト肝細胞で CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8 および CYP3A4 を誘導しなかった。さらに，パルボシクリブが臨床用量において，UGT 各分子種（UGT1A1，UGT1A4，UGT1A6，UGT1A9 および UGT2B7）および各薬物トランスポーター（消化管以外における P-gp および BCRP，ならびに OATP1B1，OATP1B3，BSEP，OAT1，OAT3 および OCT2）を阻害する可能性は低いと考えられた。しかしながら，パルボシクリブは消化管において P-gp および BCRP を，また肝取り込みトランスポーターである OCT1 を阻害する可能性が示唆された。

2. 分析法

非臨床薬物動態試験における生体試料中の薬物濃度を定量するため，分析法の開発およびバリデーションを実施した。

2.1. HPLC/MS/MS による定量法

報告書番号 764-04143，764-04144，143180，143181，1400238，1400243，1400244，概要表 2.6.5.2.A，2.6.5.2.B

ラット，イヌおよびサルを用いた薬物動態試験での血漿中パルボシクリブ濃度の定量には，HPLC/MS/MS を用いた。これらの分析法の詳細については各試験報告書（報告書番号 764-04175，764-04166，764-04200）に記載した。

毒性試験における血漿中濃度を定量するため，マウス，ラット，ウサギ，イヌおよびサル EDTA 血漿中のパルボシクリブ濃度の定量法として HPLC/MS/MS を用いた分析法のバリデーションを 10 ng/mL～10,000 ng/mL の濃度範囲で実施した（報告書番号 764-04143 および 764-04144）。これらの分析法では，固相抽出法により EDTA 血漿からパルボシクリブおよび内標準物質である PD-206591 を抽出し，HPLC/MS/MS で分析した。イヌ EDTA 血漿については 1 ng/mL～900 ng/mL の濃度範囲でパーシャルバリデーションも実施した（報告書番号 764-04144）。

15 週間の毒性試験におけるラットおよびイヌ K_2EDTA 血漿中のパルボシクリブおよびそのラクタム体（PF-05089326）濃度を定量するために HPLC/MS/MS を用いた分析法のバリデーションを 1 ng/mL～500 ng/mL の濃度範囲で実施した（報告書番号 143180，143181）。これらの分析方法では除蛋白により K_2EDTA 血漿からパルボシクリブおよび PF-05089326 を抽出した後，HPLC/MS/MS で分析した。さらにラット 27 週間試験，イヌ 39 週間試験，胚・胎児発生に関する試験および受胎能に関する試験に先立ち，ラット，イヌおよびウサギ K_2EDTA 血漿中のパルボシクリブを定量するため，1 ng/mL～500 ng/mL の範囲でパーシャルバリデーションを実施した（報告書番号 1400243，1400238 および 1400244）。

また，ラット，ウサギおよびイヌの EDTA 血漿中におけるパルボシクリブの長期保存安定性（試験報告書 764-04143，764-04144，143180，143181，1400238 および 1400243）ならびにラットおよびイヌの EDTA 血漿中における PF-05089326 の長期保存安定性を確認した（報告書番号 143180 および 143181）。EDTA 血漿を-20°C にて保存した場合，血漿中パルボシクリブはラットで 166 日間，ウサギで 41 日間，イヌでは 173 日間以上安定であった。ラットおよびイヌの K_2EDTA 血漿を-20°C で保存した場合，血漿中パルボシクリブおよび PF-05089326 は 79 日間以上安定であった。これらの結果に基づき，試料の分析は安定性の確認された保存期間内に実施した。

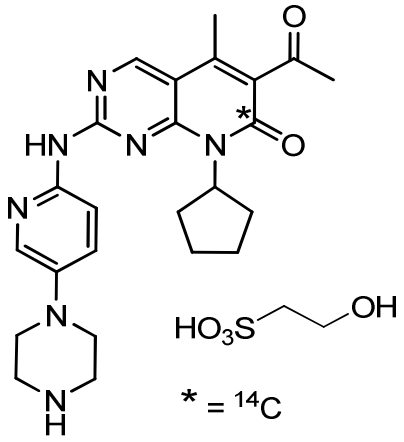
ラットおよびイヌを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験ならびにラットおよびウサギを用いた胚・胎児発生試験から得られた試料について Incurred sample reanalysis（ISR：定量値の再現性確認のため，異なる日に別の分析単位で投与後試料を再分析すること）を実施した。その結果は許容基準に適合しており，トキシコキネティクス解析における本分析法の適切性が確認された（報告書番号 [redacted]LJ025，[redacted]LJ024，[redacted]GR062 および [redacted]GR063）。

2.2. 放射性同位元素標識化合物

2.2.1. 被験物質

非臨床試験に用いたパルボシクリブの放射性標識化合物（[^{14}C]パルボシクリブ）は Quotient Bioresearch 社または Michigan Pharmaceutical Sciences Chemical R&D Radiochemistry Group で合成した。[^{14}C]パルボシクリブの構造および標識位置を Figure 1 に示す。[^{14}C]パルボシクリブの比放射能は 11.8 μCi/mg～15.1 μCi/mg であり，放射化学的純度は 97.6%以上であった。試験での使用に際して，放射性標識化合物は非標識化合物で適宜希釈した。

Figure 1.　[^{14}C]パルボシクリブ（PD-0332991）の構造



2.2.2. 放射能測定法

[^{14}C]パルボシクリブを用いたラットの組織分布試験（報告書番号 DM20[redacted]-0332991-001）では，定量全身オートラジオグラフィにより組織中の放射能濃度を定量した。本法の定量下限値は 1.56 nCi/g（0.1 μg eq/g）であった。また，[^{14}C]パルボシクリブを用いた排泄試験（報告書番号 8273768 および 8276000）で得られた血漿，尿，胆汁および糞中の放射能は液体シンチレーション計測法により測定した。本法での定量下限はバックグラウンド値の 2 倍とした。

3. 吸収

ラット，イヌおよびサルにパルボシクリブを単回投与してパルボシクリブの薬物動態を評価した。反復投与時の血漿中濃度はトキシコキネティクスで評価した。また，排出トランスポーターを発現させた MDCK 細胞を用いて，パルボシクリブの吸収におけるトランスポーターの寄与について in vitro で検討した。

3.1. 単回投与時の血漿中濃度

Sprague Dawley ラットおよびビーグル犬（毒性試験に用いた動物種）ならびに雄カニクイザルを用いて，パルボシクリブを単回経口または静脈内単回投与したときの血漿中濃度推移を検討した。パルボシクリブはイセチオン酸塩として経口投与し，投与量および濃度は遊離塩基に換算して記載した。

3.1.1. ラット

報告書番号 764-04175，概要表 2.6.5.3

Sprague Dawley ラット（雄 4 匹/群）に 5，20，50 および 200 mg/kg のパルボシクリブ［懸濁液：0.5%メチルセルロース/プロピレングリコール（PEG）200 = 95/5］を単回経口投与したときの血漿中濃度推移を検討した（Figure 6）。パルボシクリブを 5 mg/kg で経口投与したとき，投与後 3.5 時間で C_{max} に達し，経口バイオアベイラビリティは約 56%であった。5～50 mg/kg の範囲ではパルボシクリブの C_{max} は用量にほぼ比例して増加したが，AUC_{inf} の増加は 10 倍の投与量増加に対し 19 倍であった。200 mg/kg では T_{max} は 30 時間であり，最終採血時点（投与後 48 時間）までほぼ一定の血漿中濃度値を示したため AUC_{inf} は算出できず，用量増加に対する C_{max} の増加もわずかであった（Table 1）。また，雌雄の胆管カニューレ挿入 Sprague-Dawley ラットに 50 mg/kg で[^{14}C]パルボシクリブを単回経口投与したときの胆汁および尿中への放射能回収率はそれぞれ投与量の 57%（雄）および 83%（雌）であり（2.6.4.6.1 項）パルボシクリブを雌雄ラットに経口投与したときの消化管吸収は良好と考えられた。

Sprague Dawley ラット（雄 3 匹/群）に 1 mg/kg および 5 mg/kg のパルボシクリブ［溶媒：ジメチルアセトアミド（DMA）/PEG/5%デキストロース水溶液（D5W）= 5/25/70］を単回静脈内投与（5 分間）したときの血漿中濃度推移を検討した（Figure 6）。全身クリアランスは 1 mg/kg および 5 mg/kg でそれぞれ 38.0 mL/min/kg および 37.4 mL/min/kg と一定であり，ラットの肝血流量（55.2 mL/min/kg）[1]と比較して中等度であった。1 mg/kg および 5 mg/kg における V_{ss} はそれぞれ 5.7 L/kg および 7.1 L/kg と総体液量（約 0.7 L/kg）[1]を上回り，パルボシクリブがラットの体組織に広範に分布することが示唆された。この用量範囲で $t_{½}$ は 2.2～2.6 時間とほぼ一定であった（Table 1）。

3.1.2. イヌ

試験報告書 764-04166，概要表 2.6.5.3

ビーグル犬（雄 3 匹/群）に 20 mg/kg のパルボシクリブ（カプセル）を単回経口投与したときの血漿中濃度推移を検討した（Figure 7）。イヌにカプセルとして経口投与したときの T_{max} は 8.7 時間と消化管吸収は緩徐であることが示唆され，経口バイオアベイラビリティは 36.9%であった（Table 1）。

ビーグル犬（雄 3 匹/群）に 1 mg/kg のパルボシクリブ（溶媒：DMA/ PEG / D5W= 5/25/70）を単回静脈内投与（5 分間）し，パルボシクリブの血漿中濃度を検討した（Figure 7）。全身クリアランスは 7.22 mL/min/kg とイヌの肝血流量（30.9 mL/min/kg）[1] と比べて低かった。V_{ss}（6.2 L/kg）は総体液量（約 0.6 L/kg）[1] を上回り，パルボシクリブがイヌの体組織に広範に分布することが示唆された。$t_{½}$は 11 時間であった（Table 1）。

3.1.3. サル

試験報告書 764-04200，概要表 2.6.5.3

カニクイザル（雄3匹/群）に2.66 mg/kgのパルボシクリブ（懸濁液:0.5%メチルセルロース/ PEG200 = 95/5）単回経口投与した時の血漿中濃度推移を検討した（Figure 8）。血漿中濃度は投与後約 3 時間で C_{max} に達し，経口バイオアベイラビリティは 23.1%であった（Table 1）。

カニクイザル（雄 3 匹/群）に 0.5 mg/kg のパルボシクリブ（溶媒：DMA/ PEG / D5W= 5/25/70）を単回静脈内投与（5 分間）したときの血漿中濃度推移を検討した（Figure 8）。全身クリアランスは 13.4 mL/min/kg とサルの肝血流量（43.6 mL/min/kg）[1] と比べて低かった。V_{ss}（5.1 L/kg）は総体液量（約 0.7 L/kg）[1] を上回り，パルボシクリブがサルの体組織に広範に分布することが示唆された。$t_{½}$は 4.7 時間であった（Table 1）。

Table 1.　雄ラット，イヌおよびサルにおける単回静脈内または経口投与後の薬物動態パラメータ

種（系統）	投与量 (mg/kg)	経路	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	CL (mL/min/kg)	V_{ss} (L/kg)	AUC_{inf} (ng·h/mL)	F[c] (%)
Rat (SD)	1	IV[a]	--	--	2.2 (0.34)	38.0 (3.79)	5.65 (0.736)	442 (46.7)	--
	5	IV[a]	--	--	2.6 (0.19)	37.4 (1.58)	7.07 (0.317)	2230 (103)	--
	5	経口[b]	178 (47.4)	3.5 (1.9)	2.1 (0.12)	--	--	1200 (393)	56.1
	20	経口[b]	1110 (61.8)	5.0 (1.2)	2.8 (0.36)	--	--	10800 (651)	--
	50	経口[b]	1660 (245)	4.5 (1.9)	4.9 (1.4)	--	--	23000 (6740)	--
	200	経口[b]	2240 (166)	30 (0)	--	--	--	76800[d] (8900)	--
イヌ（ビーグル）	1	IV[a]	--	--	11 (0.29)	7.22 (0.853)	6.22 (0.789)	2330 (258)	--
	20	経口[b]	664 (24.7)	8.7 (3.1)	21 (5.7)	--	--	17400[d] (6900)	36.9 (12.4)
サル（カニクイ）	0.5	IV[a]	--	--	4.7 (1.4)	13.4 (0.896)	5.05 (1.01)	624 (42.8)	--
	2.66	経口[b]	86.2 (31.0)	2.7 (1.2)	5.3 (0.89)	--	--	768 (150)	23.1 (3.6)

n = 3，平均値（標準偏差）
-- = 該当データなし；AUC_t = 投与 0 時間から 24 時間（静脈内）および 48 時間（経口）までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積；CL = 全身クリアランス；IV = 静脈内；n = 例数
a. IV 液剤（溶媒：DMA/ PEG / D5W= 5/25/70）
b. 経口製剤　ラットおよびサル（懸濁液：0.5%メチルセルロース/ PEG200 = 95/5），イヌ（カプセル）
c. F (%) = ([AUC_{inf} (Oral) × Dose (IV)] / [AUC_{inf} (IV) × Dose (Oral)]) × 100
d. AUC_t

3.2. 反復投与時の血漿中濃度（トキシコキネティクス）

Sprague Dawley ラットおよびビーグル犬におけるパルボシクリブの反復経口投与毒性試験で採取した血漿試料を用いて，反復投与時の血漿中濃度について検討した。なお，ラットおよびイヌの 15 週間反復投与毒性試験では，ヒト血漿中に未変化体の約 10%存在する代謝物で（2.7.2.2.3.1.1 項），in vitro において CDK4 および CDK6 に対して未変化体と同程度の阻害作用を示した（2.6.2.2.1.2 項）ラクタム体（PF-05089326）の曝露量も評価した。

3.2.1. ラット

報告書番号 745-03731，20026125，8282224

3 週間試験では，Sprague Dawley ラット（雌雄各 6 匹/群）の雄に 50，100 または 200 mg/kg/日，雌に 100, 200 または 400 mg/kg/日のパルボシクリブ（溶媒：脱イオン水）を 1 日 1 回経口投与し，投与初日および投与 21 日に未変化体の血漿中濃度を測定した（報告書番号 745-03731）。血漿中濃度には性差がみられ，雌雄同一用量である 100 mg/kg/日および 200 mg/kg/日の投与初日および投与 21 日における AUC_{24} は雄で雌よりも約 8～18 倍高かった。C_{max} および AUC_{24} は投与初日の

高用量を除き用量の増加に伴い増加した。投与 21 日の曝露量は投与初日と同程度またはやや高値を示した（Table 2）。

15 週間試験では，Sprague Dawley ラット（雌雄各 6 匹/群）の雄に 10，30 または 100 mg/kg/日，雌に 50，100 または 200 mg/kg/日のパルボシクリブ（溶媒：0.5%メチルセルロース懸濁液）を 1 日 1 回経口投与し，未変化体およびラクタム体（PF-05089326）の血漿中濃度を投与初日，投与後 49 日および 105 日に測定した（報告書番号 20026125）。曝露量には性差がみられ，雌雄同一用量である 100 mg/kg/日における未変化体および PF-05089236 の AUC_{24} は雄で雌よりもそれぞれ約 11～24 倍および約 7～18 倍高かった。未変化体および PF-05089236 の曝露量は概して用量増加に伴い増加し，雄の 10 mg/kg/日～30 mg/kg/日の範囲では用量比をやや上回り増加した。反復投与による未変化体の明らかな蓄積はみられなかった。投与初日と比較して，投与 49 日および投与 105 日の PF-05089326 の曝露量は雌ではほぼ同程度であったが，雄では約 2～3 倍の増加傾向がみられた。未変化体に対する PF-05089326 の AUC 比は雌雄とも 0.01～0.03 の範囲であった（Table 2，Table 3）。

27 週間試験では，Sprague Dawley ラット（雌雄 4 匹/群）の雄に 10，30 または 100 mg/kg/日，雌に 50，100 または 300 mg/kg/日のパルボシクリブ（溶媒：0.5%メチルセルロース懸濁液）を 1 日 1 回経口投与して未変化体の血漿中濃度を投与初日，投与後 103 日および 187 日に測定した（報告書番号 8282224［[redacted]LJ036］）。曝露量には性差がみられ，雌雄同一用量である 100 mg/kg/日における AUC_{24} は雄で雌よりも約 7～13 倍高かった。曝露量は概して用量増加に伴い増加し，雌雄とも用量比をやや下回る傾向がみられた。投与 103 日および 187 日の AUC_{24} は投与初日と比較して雄で 0.9～2.1 倍，雌で 0.8～1.9 倍であった（Table 2）。

Table 2.　雌雄ラットを用いた反復経口投与毒性試験におけるパルボシクリブのトキシコキネティクスパラメータ

試験	試験日	投与量（mg/kg/日）	性[a]	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{24} (ng•h/mL)	
					総薬物	非結合型[b]	総薬物	非結合型[b]
3週間	1	50	M	7	1170	146	18600	2330
		100	M	12	1740	218	30900	3860
		200	M	4	1710	214	35200	4400
		100	F	1	306	38.3	2050	256
		200	F	1	435	54.4	4090	511
		400	F	7	319	39.9	4850	606
	21	50	M	7	1800	225	17300	2160
		100	M	12	2220	278	45300	5660
		200	M	4	2310	289	46600	5830
		100	F	1	296	37.0	2530	316
		200	F	1	494	61.8	5930	741
		400	F	2	954	119	11100	1390
15週間	1	10	M	4.0	270	33.8	2920	365
		30	M	3.6	1270	159	18000	2250
		100	M	9.0	2110	264	35300	4410
		50	F	1.6	265	33.1	1400	175
		100	F	2.6	356	44.5	3280	410
		200	F	2.4	704	88.0	6450	806
	49	10	M	3.6	385	48.1	3600	450
		30	M	3.4	1140	143	15100	1890
		100	M	5.8	2270	284	43700	5460
		50	F	1.0	349	43.6	1430	179
		100	F	1.2	268	33.5	1850	231
		200	F	1.0	639	79.9	5640	705
	105	10	M	4.0	367	45.9	3770	471
		30	M	2.8	1260	158	18300	2290
		100	M	2.8	2260	283	41600	5200
		50	F	2.0	247	30.9	1710	214
		100	F	1.2	308	38.5	2820	353
		200	F	1.2	586	73.3	7050	881

AUC_{24} = 投与 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積；F = 雌；M = 雄

a. 3 週間試験および 15 週間試験では雌雄各 6 匹/群，27 週間試験では雌雄各 4 匹/群

b. 非結合型 C_{max} または AUC = C_{max} または AUC（総濃度）× 0.125（ラット血漿中の平均 f_u；2.6.4.4.3.1 項）

Table 2. 雌雄ラットを用いた反復経口投与毒性試験におけるパルボシクリブのトキシコキネティクスパラメータ（続き）

試験	試験日	投与量（mg/kg/日）	性[a]	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{24} (ng•h/mL)	
					総薬物	非結合型[b]	総薬物	非結合型[b]
27週間	1	10	M	6.3	278	34.8	3080	385
		30	M	7.0	739	92.4	10100	1260
		100	M	11	1740	218	32200	4030
		50	F	4.8	193	24.1	1700	213
		100	F	2.0	287	35.9	2390	299
		300	F	7.0	556	69.5	6890	861
	103	10	M	4.0	514	64.3	5570	696
		30	M	4.3	1490	186	21700	2710
		100	M	4.8	2060	258	35000	4380
		50	F	1.0	396	49.5	2310	289
		100	F	3.5	407	50.9	3580	448
		300	F	1.5	552	69.0	5360	670
	187	10	M	4.0	573	71.6	6000	750
		30	M	4.8	1490	186	21300	2660
		100	M	5.0	1970	246	29300	3660
		50	F	1.3	447	55.9	2650	331
		100	F	1.3	1200	150	4450	556
		300	F	2.3	1010	126	12800	1600

AUC_{24} = 投与 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積；F = 雌；M = 雄
a. 3 週間試験および 15 週間試験では雌雄各 6 匹/群，27 週間試験では雌雄各 4 匹/群
b. 非結合型 C_{max} または AUC = C_{max} または AUC（総濃度）× 0.125（ラット血漿中の平均 f_u；2.6.4.4.3.1 項）

Table 3.　雌雄ラットを用いた反復経口投与毒性試験における PF-05089326 のトキシコキネティクスパラメータ

試験	試験日	投与量（mg/kg/日）	性[a]	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{24} (ng•h/mL)	
					総濃度	非結合型[b]	総濃度	非結合型[b]
15週間	1	10	M	4.0	2.10	0.101	19.8	0.956
		30	M	4.6	14.4	0.696	196	9.47
		100	M	8.4	24.2	1.17	386	18.6
		50	F	2.8	3.56	0.172	25.9	1.25
		100	F	7.0	7.34	0.355	59.0	2.85
		200	F	5.8	7.05	0.341	69.6	3.36
	49	10	M	4.0	6.69	0.323	47.6	2.30
		30	M	5.2	23.2	1.12	301	14.5
		100	M	6.2	49.7	2.40	927	44.8
		50	F	1.8	3.88	0.187	26.4	1.28
		100	F	4.0	6.09	0.294	52.8	2.55
		200	F	4.0	8.00	0.386	116	5.60
	105	10	M	4.0	6.91	0.334	52.1	2.52
		30	M	5.2	27.7	1.34	463	22.4
		100	M	5.4	55.1	2.66	895	43.2
		50	F	2.0	3.21	0.155	28.6	1.38
		100	F	7.0	7.29	0.352	83.8	4.05
		200	F	6.8	10.0	0.483	192	9.27

AUC_{24} = 投与 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積；F = 雌；M = 雄
a.雌雄各 6 匹/群
b. 非結合型 C_{max} または AUC = C_{max} または AUC（総濃度）× 0.0483（ラット血漿中の平均 f_u；2.6.4.4.3.2 項）

3.2.2. イヌ

報告書番号 745-03871，20026126，8282225

3 週間試験では，ビーグル犬（雌雄 4 匹/群）に 0.2，0.6 または 2 mg/kg/日のパルボシクリブ（溶媒：脱イオン水懸濁液）を 1 日 1 回経口投与して，未変化体の血漿中濃度を投与初日および投与 21 日に測定した（報告書番号 745-03871）。曝露量に明確な性差はみられなかったことから，各パラメータは雌雄合わせて算出した。C_{max} および AUC_{24} は，投与初日には 0.2 mg/kg～2 mg/kg の範囲で，投与 21 日には 0.2 mg/kg～0.6 mg/kg の範囲で，用量にほぼ比例して増加した。投与 21 日における C_{max} および AUC_{24} は，0.6 mg/kg～2 mg/kg の範囲で用量比を上回り増加した。投与 21 日の曝露量は投与初日の 1.8～2.8 倍であり，反復投与による蓄積が示唆された（Table 4）。

15 週間試験では，ビーグル犬（雌雄 3 匹/群）に 0.2，0.6 または 2 mg/kg/日のパルボシクリブ（溶媒：0.5%メチルセルロース懸濁液）を 1 日 1 回経口投与して，未変化体およびラクタム体（PF-05089326）の血漿中濃度を投与初日，投与後 49 日および 105 日に測定した（報告書番号 20026126）。未変化体の曝露量に性差は認められず，C_{max} および AUC_{24} は用量にほぼ比例して増加した。反復投与後 49 日および 105 日の未変化体の曝露量は投与初日の 1.1～2.2 倍であった。なお，ラクタム体の曝露量は定量下限未満であった（Table 4）。

39 週間試験では，ビーグル犬（雌雄 6 匹/群）に 0.2，0.6 または 3 mg/kg/日のパルボシクリブ（溶媒：0.5%メチルセルロース懸濁液）を 1 日 1 回経口投与して，未変化体の血漿中濃度を投与初日，投与後 49 日，99 日および 267 日に測定した（報告書番号 8282225［[redacted]LJ037］）。曝露量に性差は認められず，C_{max} および AUC_{24} は用量の増加に伴い増加した。反復投与後の C_{max} および AUC_{24} はやや増加する傾向がみられ，投与 49 日，99 日および 267 日でそれぞれ投与初日の 1.9～2.9 倍，1.4～2.4 倍および 1.8～4.2 倍であった（Table 4）。高用量では投与 267 日の曝露量がやや高値を示したが，投与 49 日以降の曝露量はほぼ一定であると考えられた。

Table 4.　イヌを用いた反復経口投与試験におけるパルボシクリブのトキシコキネティクスパラメータ

試験[a]	試験日	投与量 (mg/kg/日)	T_{max}[b] (h)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{24} (ng•h/mL)	
				総濃度	非結合型[c]	総濃度	非結合型[c]
3週間	1	0.2	4.8	6.96	2.87	107	44.2
		0.6	5.9	18.0	7.43	279	115
		2	4.1	80.6	33.3	1150	475
	21	0.2	4.8	12.2	5.04	206	85.1
		0.6	4.1	35.3	14.6	581	240
		2	4.0	194	80.1	3260	1350
15週間	1	0.2	4.7	4.51	1.86	63.3	26.1
		0.6	3.3	20.1	8.30	319	132
		2	8.3	62.7	25.9	975	403
	49	0.2	4.2	8.40	3.47	136	56.2
		0.6	4.5	22.6	9.33	397	164
		2	5.3	103	42.5	1860	768
	105	0.2	4.5	8.90	3.68	141	58.2
		0.6	4.5	31.0	12.8	532	220
		2	4.8	100	41.3	1660	686
39週間	1	0.2	7.0	2.16	0.892	35.4	14.6
		0.6	9.5	9.18	3.79	138	57.0
		3	12	40.7	16.8	545	225
	49	0.2	4.0	6.22	2.57	104	43.0
		0.6	4.0	21.7	8.96	375	155
		3	4.0	77.0	31.8	1290	533
	99	0.2	7.0	4.92	2.03	84.1	34.7
		0.6	4.0	12.6	5.20	218	90.0
		3	4.0	71.1	29.4	1250	516
	267	0.2	4.0	5.67	2.34	89.9	37.1
		0.6	4.0	16.4	6.77	271	112
		3	2.0	128	52.9	2310	954

雌雄合算値

AUC_{24} = 投与 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積

a. 3 週間試験では雌雄各 4 匹/群；15 週間試験では雌雄各 3 匹/群；39 週間試験では雌雄各 6 匹/群

b. 39 週間試験の T_{max} は中央値を示す。

c. 非結合型 C_{max} または AUC = C_{max} または AUC（総濃度）× 0.413（イヌ血漿中の平均 f_u；2.6.4.4.3.1 項）

3.3. 膜透過性およびトランスポーターの寄与

3.3.1. 膜透過性および排出トランスポーター

報告書番号 PD-332991/[redacted]/142925，概要表 2.6.5.15.A

P-gp または BCRP を発現させた MDCK 細胞を用いて，パルボシクリブの膜透過性およびこれらのトランスポーターの寄与について 0.05 µmol/L～25 µmol/L（22.4 ng/mL～11188 ng/mL）の濃度範囲で評価した。なお，P-gp および BCRP の阻害剤として，シクロスポリン A（10 µg/mL）を用いた。

トランスポーターを発現させていない野生型の MDCK 細胞におけるパルボシクリブの頂側膜側から側底膜側への見かけの透過係数（$P_{appA→B}$）は，$14.3×10^{-6}$ cm/sec～$45.2×10^{-6}$ cm/sec であり，パルボシクリブは中等度の膜透過性を示した。P-gp を発現させた MDCK 細胞におけるパルボシクリブの見かけの flux ratio（$P_{appB→A}/P_{appA→B}$）は 1.2～3.4，BCRP を発現させた MDCK 細胞におけるパルボシクリブの見かけの flux ratio は 1.7～6.4 であり，シクロスポリン A により見かけの流出比はいずれも 1.1 に低下したことから，パルボシクリブは P-gp および BCRP に対しては低度から中等度の基質であると考えられた。パルボシクリブの輸送は濃度依存的であったが飽和性を示し，パルボシクリブ濃度が P-gp で 0.52 µmol/L（233 ng/mL）以上，BCRP で 1.96 µmol/L（877 ng/mL）以上では flux ratio は 2 以下であった。

以上のことから，パルボシクリブ経口投与時の吸収における排出の影響はほとんどないものと考えられた。このことは，[^{14}C]パルボシクリブをラットおよびヒトに経口投与したときの消化管吸収が良好であったことからも確認された。

4. 分布

4.1. 組織分布

報告書番号 DM20[redacted]-0332991-001，概要表 2.6.5.5

雄 Long Evans ラットに[^{14}C]パルボシクリブ（20 mg/kg，306 µCi/kg）を単回経口投与し，投与後 2.5，5，7.5，10，15，24，72 および 168 時間における組織および体液への[^{14}C]パルボシクリブ由来放射能の分布を定量オートラジオルミノグラフィーで検討した（Figure 9～Figure 11）。

放射能は組織および体液に広く分布し，多くの組織で血中濃度以上の放射能濃度を示した。これらの結果は，ラットの V_{ss} が総体液量を上回っていたこと（2.6.4.3.1.1 項）と符合した。ブドウ膜，髄膜，胆汁，ハーダー腺，包皮腺，肝臓，涙腺，肺，脾臓および甲状腺では一貫して血中濃度よりも特に高い放射能濃度を示した。[^{14}C]パルボシクリブ由来の放射能濃度はブドウ膜で最も高く，見かけの $t_{½}$は 97 時間であった。血液-脳関門外にある髄膜，下垂体，脈絡叢および脳脊髄液を除くほとんどの中枢神経系組織の放射能濃度は，血中濃度よりも低く，大脳および小脳における放射能濃度の C_{max} は，血中の約 10%であった。胆汁中の放射能濃度が高かったことから，胆汁が主要排泄経路であることが示され，これはラットの排泄試験の結果（2.6.4.6.1 項）とも一致していた。投与後 168 時間には，髄膜，包皮腺，ブドウ膜，硝子体を除くすべての組織の放射能濃度は C_{max} の 10%未満まで低下し，これらの組織においても C_{max} の 18%～47%まで低下していた。

4.2. 肝取り込みトランスポーター

報告書番号 PF-00080665 (PD-0332991)_[redacted]_111932，PD-332991_[redacted]_042704，

概要表 2.6.5.15.A

サンドイッチ培養したヒト肝細胞を用いて，パルボシクリブの肝取り込みについて 1 µmol/L の濃度で評価した。肝取り込みトランスポーターOATP1B1 および OATP1B3 の阻害剤としてリファマイシン SV を用い，陽性対照としてロスバスタチン（1 µmol/L）を用いた。

パルボシクリブは高い受動的透過性を示し，リファマイシン SV による肝取り込み阻害は軽微であった（約 15%）。一方，陽性対照であるロスバスタチンの肝取り込みはリファマイシン SV により約 90%阻害された。これらの結果から，パルボシクリブは受動的拡散によりヒト肝細胞に取り込まれ，肝取り込みトランスポーターの寄与は小さいと考えられた。

さらに，OATP1B1 および OATP1B3 を発現させた HEK293 細胞を用いて，パルボシクリブの取り込みについて 0.03 µmol/L～30 µmol/L の濃度で評価した。陽性対照としてロスバスタチン（1 µmol/L）を用いた。

パルボシクリブの取り込み比（非発現細胞の被験物質取り込み量に対するトランスポーター発現系細胞の被験物質取り込み量の比）は全濃度で 2 倍未満であった。一方，ロスバスタチンの肝取り込み比は 15 倍超であった。これらの結果から，パルボシクリブが OATP1B1 および OATP1B3 の基質となる可能性は低いことが示された。

4.3. 血漿蛋白結合（in vitro）

4.3.1. パルボシクリブ

報告書番号 764-04174，PD-0332991_[redacted]_141526，概要表 2.6.5.6.A

パルボシクリブのマウス，ラット，イヌおよびヒトの血漿蛋白質，ヒト血清アルブミンならびに α_1 酸性糖蛋白質に対する蛋白結合率を 500 ng/mL～5000 ng/mL（約 1.1 µmol/L～11 µmol/L）の濃度範囲で平衡透析法を用いて検討した。

検討した濃度範囲において，蛋白結合率に明確な濃度依存性は認められなかった。マウス，ラット，イヌおよびヒト血漿，ヒト血清アルブミンならびに α_1 酸性糖蛋白質に対するパルボシクリブの非結合型分率（f_u）は 0.159，0.125，0.413，0.147，0.622 および 0.646 であった。また，ウサギ血漿蛋白質に対するパルボシクリブのタンパク結合率を 1 µmol/L（約 448 ng/mL）で測定したところ，f_u は 0.0733 であった。

4.3.2. ラクタム代謝物（PF-05089326）

報告書番号 PF-05089326_[redacted]_104347，概要表 2.6.5.6.B

パルボシクリブのラクタム体である PF-05089326 のマウス，ラット，イヌおよびヒト血漿蛋白質に対する蛋白結合率を約 23.1～462 ng/mL（0.05 µmol/L～1 µmol/L）の濃度範囲で平衡透析法を用いて検討した。

検討した濃度範囲において，蛋白結合率に明確な濃度依存性は認められなかった。マウス，ラット，イヌおよびヒト血漿に対する PF-05089326 の f_u は 0.0389，0.0483，0.255 および 0.0490 であった。

4.4. 血球移行

報告書番号 764-04302，概要表 2.6.5.8

マウス，ラット，イヌ，サルおよびヒトの全血を用いて，パルボシクリブ（2.5 µg/mL）の血球移行を評価した。

マウス，ラット，イヌ，サルおよびヒトの血液/血漿中濃度比（C_b/C_p）はそれぞれ 1.13，0.97，1.00，1.04 および 1.63 であり，赤血球/血漿間の分配係数（Kp）はそれぞれ 1.36，0.94，1.00，1.09 および 2.44 であった。これらの結果から，パルボシクリブはヒトにおいて血漿よりも赤血球にやや多く分布し，マウス，ラット，イヌおよびサルでは赤血球と血漿にほぼ均等に分布することが示された。

4.5. 妊娠ラットにおける経胎盤移行

パルボシクリブの経胎透過性については検討していないが，ラットおよびウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において胎児への影響（胎児体重の減少または催奇形性）が認められ（2.6.6.9.6.項），パルボシクリブまたはその代謝物が胎盤を通過する可能性が考えられた。このことから，添付文書にて「妊娠中の投与に関する安全性は確立していないので，妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には，治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与す

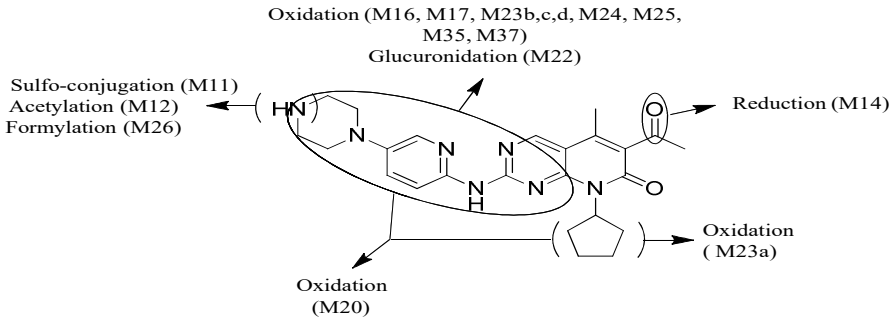
ること。やむを得ず投与する場合は，本剤投与による胎児へのリスクについて患者に十分説明すること。」と注意喚起を行っている。

5. 代謝

5.1. In vivo

パルボシクリブの in vivo における代謝について，毒性試験で用いた動物種（ラットおよびイヌ）およびヒトに[^{14}C]パルボシクリブを単回経口投与後の生体試料を用いて評価した。ラットおよびヒトにおけるパルボシクリブの主な代謝経路は酸化，硫酸抱合，グルクロン酸抱合およびアシル化（ホルミル化およびアセチル化）であり，イヌにおける主代謝経路は酸化であった。In vivo において推定されるパルボシクリブの代謝経路を Figure 2 に示す。

Figure 2.　パルボシクリブの主な代謝経路



5.1.1. ラット

報告書番号 PD-0332991_[redacted]_135758，概要表 2.6.5.9.A

雌雄の無処置および胆管カニューレ挿入 Sprague Dawley ラットに[^{14}C]パルボシクリブを 50 mg/kg（約 100 µCi/kg）で単回経口投与したときの血漿，尿，糞および胆汁中代謝物を分析した。

無処置ラットに[^{14}C]パルボシクリブを単回経口投与したとき，放射能の大部分は糞中から回収され（雄 84.0%，雌 93.6%），尿中排泄はわずかであった（雄 7.2%，雌 0.6%）。胆管カニューレ挿入ラットでは投与した放射能の多く（雄 50.1%，雌 81.3%）が胆汁中から回収された（2.6.4.6.1 項）。

雄の無処置ラットの血漿中では，未変化体（血漿中放射能の 40.3%），M12（アセチル体，9.0%）および M14（カルボニル基の還元により生成したアルコール体，9.6%）が主に認められた。糞中の主代謝物である M11（未変化体の硫酸抱合体：PF-06754233）は血漿中では 0.4%とわずかであった。M26（ホルミル体），M16（ピペラジン環の酸化的開環により生成したカルボン酸体）および M17（ラクタム体：PF-05089326）は，それぞれ血漿中放射能の 1.3%，1.4%および 1.8%であった。その他の微量代謝物として M25（ピリド - ピペラジン部分構造の脱離した代謝物）が認められた。雌ラットの血漿中放射能濃度は雄ラットと比べて低く定量できなかったが，定性的な差は

認められなかった。この血漿中放射能濃度の性差は，ラットのトキシコキネティクス評価で認められた曝露量の性差と一致していた。

雌雄の無処置ラットの糞中では，主に M11 が認められ，雄では投与放射能の 37.9%，雌では 75.4%を占めた。未変化体は雄で 3.6%および雌で 4.2%，M12 は雄で 3.3%および雌で 1.5%であった。M26 は雌ラットで 0.5%，雄ラットでは質量分析法で検出されたものの放射能による定量はできなかった。

雌雄ラットの胆汁中では主として M11 が認められ，雄では投与放射能の 54.5%，雌では 68.9%であり，糞中の代謝物プロファイルと類似していた。雄ラットの胆汁中の未変化体および M12 は，それぞれ 3.8%未満および 3.6%であり，雌では検出されなかった。ラットの胆汁中および糞中には M24（ジラクタム体）も検出された。

雄ラットの尿中では，投与放射能の 2.1%の未変化体が認められた。尿中で検出された代謝物として，未変化体のグルクロン酸抱合体（M22）および M24 を含む複数の代謝物が認められたものの，いずれも投与放射能の 1.0%以下であった。

以上の結果から，ラットに[^{14}C]パルボシクリブを経口投与したときの主な代謝経路は硫酸抱合，酸化，アシル化，還元およびグルクロン酸抱合であり，硫酸抱合がラットにおける主たる消失経路であることが示された。

5.1.2. イヌ

報告書番号 PD-0332991_[redacted]_204619，概要表 2.6.5.9.B

雌雄ビーグル犬に[^{14}C]パルボシクリブ 1.97 mg/kg（19.6 µCi/kg）で単回経口投与したときの血漿，尿および糞中代謝物を分析した。

イヌに[^{14}C]パルボシクリブを単回経口投与したとき，放射能の大部分は糞中から回収され（雄 75.1%，雌 79.1%），尿中排泄はわずか（雄 9.1%，雌 9.9%）であった（2.6.4.6.2 項）。

血漿中では，主に未変化体が認められ，血漿中放射能の約 95%を占めており，ピペラジン環の酸化的開環により生成したカルボン酸体である M16 がわずかに検出された。

糞中では 6 種類の酸化的代謝物が検出され，それ以外の代謝物は認められなかった。これは，マトリックス効果によるイオン化抑制または代謝物の量が少ないことが原因と推察された。主な代謝物は M16 で投与量の 14.8%を占めた。これ以外の代謝物としてピペラジン環あるいはシクロペンチル環のモノ水酸化体である M23a，M23b，M23c および M23d ならびに M37（ピペラジン環の酸化的開環により生成したカルボン酸体）が認められたが，いずれも投与放射能の 3.0%以下であった。

尿中では主に未変化体が認められ，投与放射能の 5.1%を占めた。M16，M23a，M23b，未変化体のグルクロン酸抱合体である M22 およびその水酸化体（M35）の存在が示唆されたが，いずれも投与放射能の 1%未満であった。

以上の結果から，イヌに[^{14}C]パルボシクリブを経口投与したとき，主にピペラジン環またはシクロペンチル環が酸化された複数のモノ水酸化体へまず代謝されると考えられ，主な代謝経路は酸化であることが示された。グルクロン酸抱合はイヌにおいて副次的な代謝経路であった。

5.1.3. ヒト

報告書番号 PD-0332991_[redacted]_113146，概要表 2.6.5.9.C

外国人健康男性被験者に[^{14}C]パルボシクリブ 125 mg（100 µCi）を単回経口投与したときの血漿，尿および糞中代謝物を分析した。

[^{14}C]パルボシクリブをヒトに経口投与後の放射能は主として糞中に排泄され（投与量の約 74%），尿中への排泄は投与量の約 18%であった（2.6.4.6.3 項）。

血漿中（投与後 0-120 時間）ではパルボシクリブは主に未変化体として認められ，血漿中放射能の 23.3%を占めた。主な代謝物は未変化体のグルクロン酸抱合体である M22 であり，血漿中放射能の 14.8%であった。その他，ラクタム体である M17，ジラクタム体である M24 およびピリド-ピリジン部分の脱離により生成した代謝物である M25 が認められ，それぞれ血漿中放射能の 4.7%，4.4%および 2.3%であった。排泄物中の主な代謝物である M11 およびピペラジン環の酸化的開環により生成したカルボン酸体である M16 は，それぞれ血漿中放射能の 1.3%および 2.6%であった。

糞中（投与後 0-144 時間）には主に 3 種類の代謝物が認められ，投与量の約 45%を占めた。いずれの被験者においても主要代謝物は未変化体の硫酸抱合体である M11 であり，投与放射能の 25.8%を占めた。M16 は投与量の 14.2%，M17 のシクロペンチル環水酸化体（M20）は投与放射能の 5%であった。未変化体は被験者 6 名中 5 例の糞中で認められ，投与放射能の 2.3%であった。

尿中（投与後 0-96 時間）には主として未変化体およびモノ水酸化体（M23a/M23b）が認められ，それぞれ投与放射能の 3.7%および 3.5%を占めた。血漿中の主な代謝物である M22 は，尿中では投与放射能の 1.5%であった。このことから，ヒトにおいては M22 が血中の主要代謝物であるが，グルクロン酸抱合はパルボシクリブの副次的な代謝経路であることが示唆された。

評価したすべての血漿，糞および尿試料において複数の副次的な放射能ピークが認められたが，いずれも血漿中または投与放射能の 2%未満であった。

糞尿中の一次および二次酸化代謝物の回収率（投与量の 50%超），一次抱合代謝物の回収率（27.3%）およびアシル化代謝物の回収率（2.6%）ならびに尿中の未変化体回収率（6.9%，投与後 0-192 時間，2.7.2.2.3.1.1 項）を合計すると投与量の 85%超を占めることから，パルボシクリブの経口投与後の消化管吸収は良好と考えられた。

以上の結果から，ヒトにおいて[^{14}C]パルボシクリブは経口投与後の消化管吸収は良好であり，広範に代謝されることが示唆された。[^{14}C]パルボシクリブの主代謝経路は酸化および硫酸抱合であり，グルクロン酸抱合およびアシル化は副次的な代謝経路と考えられた。

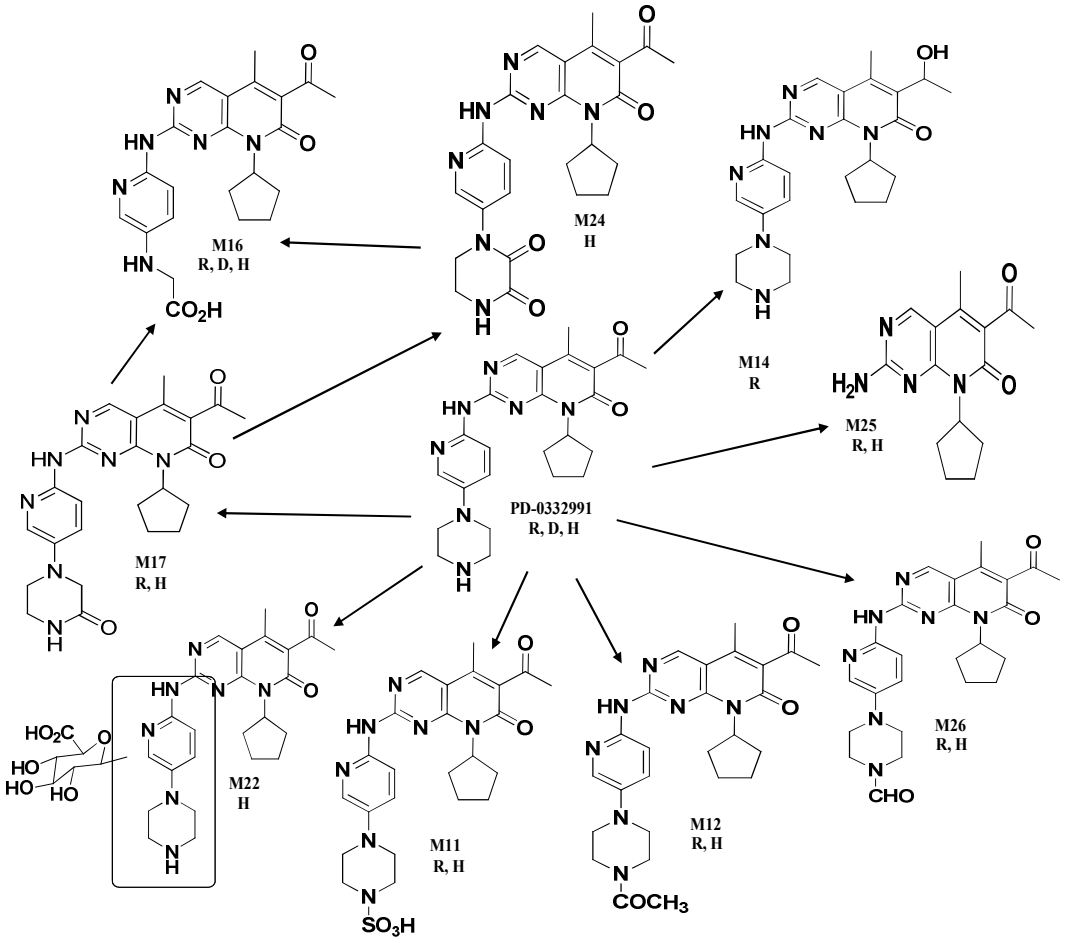
5.1.4. ヒトと動物の代謝物の比較

ラット，イヌおよびヒトの血漿中および排泄物中で認められた代謝物の推定構造を，それぞれ Figure 3 および Figure 4 に示す。ヒトに[^{14}C]パルボシクリブ 125 mg を単回経口投与したときに血

漿中に最も多くみられたのは未変化体であり，投与後 120 時間までの血漿中放射能の 23.3%を占めた。ヒト血漿中における主代謝物は未変化体のグルクロン酸抱合体である M22 で，血漿中放射能の 14.8%を占めたが，排泄された量としては尿中に投与量の 1.5%認められたのみであった。ラットおよびイヌにおいては，M22 は排泄物中（尿中）では微量ながら検出されたが血漿中からはまったく検出されなかった。また，M22 は反応性の高いアシルグルクロニドではなく，ICH M3(R2) 「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に関する質疑応答集（Q&A）にもあるように，毒性学的な懸念がない代謝物であると考えられた。

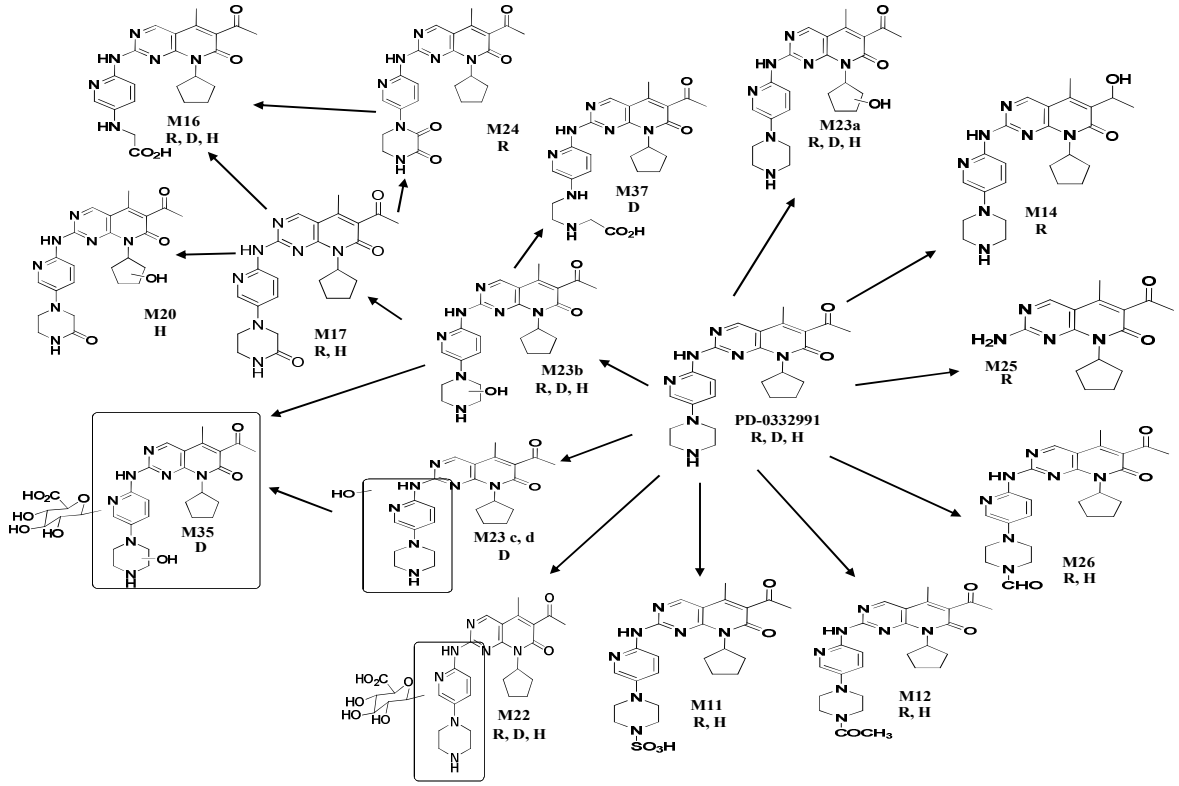
ヒト血漿中で認められたその他の代謝物（M11，M12，M16，M17，M24，M25 および M26）はいずれも血中放射能の 1.0%～4.7%の微量代謝物であり，血漿中放射能の 10%未満であった。これらの代謝物は M24 を除きラットまたはイヌの血漿中でも認められ，ラットの排泄物中からは M24 も検出され, ヒト特異的なパルボシクリブの代謝物はなかった。以上のことから, ICH M3(R2) 「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に基づき，代謝物の特性を調べるための非臨床試験は必要ないと判断した。

Figure 3.　パルボシクリブのラット，イヌおよびヒトにおける血漿中代謝物



D＝ イヌ；H＝ ヒト；R＝ ラット

Figure 4.　パルボシクリブのラット，イヌおよびヒトにおける排泄物中代謝物



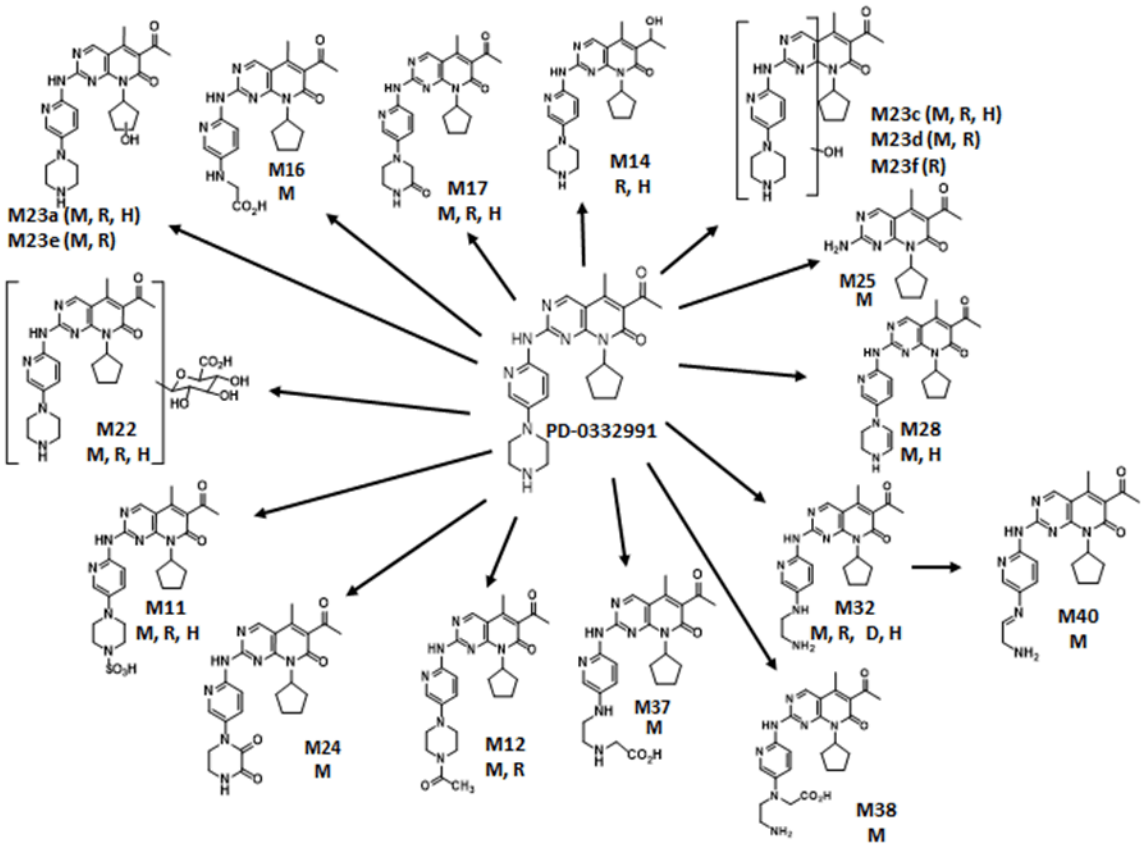
D＝ イヌ；H＝ ヒト；R＝ ラット

5.2. In vitro

In vitro におけるパルボシクリブの代謝について，ヒト肝細胞ならびにマウス，ラットおよびイヌ肝細胞を用いた in vitro 代謝試験を実施した。評価した動物種の肝細胞における推定代謝経路を Figure 5 に示す。

ヒトに[^{14}C]パルボシクリブ 125 mg を単回経口投与したときの主要代謝経路は，酸化および硫酸抱合であったことから，パルボシクリブの代謝に関与する CYP および SULT 分子種を同定するための in vitro 代謝試験を実施した。

Figure 5.　マウス，ラット，イヌおよびヒト肝細胞におけるパルボシクリブの推定代謝経路



D＝ イヌ；H＝ ヒト；M= マウス；R＝ ラット

5.2.1. 肝細胞を用いた in vitro 代謝

報告書番号 PD-332991_[redacted]_193503，PD-0332991_[redacted]_150813，概要表 2.6.5.10.A

放射性同位元素非標識のパルボシクリブ（10 µmol/L）をマウス，ラット，イヌおよびヒトの凍結肝細胞とインキュベートしてパルボシクリブの in vitro 代謝について検討した。

ヒト肝細胞では，パルボシクリブは主に酸化，還元，グルクロン酸抱合および硫酸抱合の 4 経路により代謝された。酸化代謝物としてピペラジン環の酸化により生成する M17，アミノエチル体（M32）および不飽和代謝物（M28）ならびにシクロペンチル環またはピリドーピペラジン部分のモノ水酸化体である M23a および M23c が認められ，カルボニル基が還元された M14，未変化体のグルクロン酸および硫酸抱合体である M22 および M11 も認められた。

ヒト肝細胞におけるパルボシクリブの代謝物はマウスまたはラット肝細胞でも認められ，マウスおよびラット肝細胞ではアセチル体である M12 も認められた。一方，イヌ肝細胞で認められた酸化代謝物は M32 のみであった。

ヒト肝細胞における代謝プロファイルはマウスおよびラット肝細胞と定性的に類似しており，ラットおよびヒト肝細胞でみられた主要代謝経路はそれぞれ in vivo においても認められた。

5.3. 代謝に関与する CYP 分子種の同定

試験報告書 PD-0332991_[redacted]_095443，概要表 2.6.5.10.B

パルボシクリブの酸化的代謝に関与する CYP 分子種について, CYP1A2（フラフィリン）, CYP2B6（クロピドグレル），CYP2C8（ゲムフィブロジルグルクロニド），CYP2C9（チエニル酸），CYP2C19/2B6（チクロピジン），CYP2D6（パロキセチン），CYP3A（ミベフラジル）の各 CYP 分子種特異的な阻害剤または非選択的 CYP 阻害剤である 1-アミノベンゾトリアゾール（ABT）を用いたヒト肝細胞リレー法[2]により in vitro で検討した。

ABT による阻害結果から，ヒト肝細胞でのパルボシクリブの代謝における CYP の寄与率は 71%と算出された。パルボシクリブの代謝に関与する主な分子種は CYP3A であり，その寄与率は約 34%であった。その他の各 CYP 分子種については，阻害剤による代謝クリアランスの低下が認められなかったため寄与率は算出できず，これらの分子種のパルボシクリブ代謝への寄与率は小さいと考えられた。

5.4. 代謝に関与する SULT 分子種の特定

報告書番号 PD-0332991_[redacted]_170350，概要表 2.6.5.10.C

硫酸抱合はパルボシクリブのヒトにおける主代謝経路であったことから，パルボシクリブの硫酸抱合に関与する SULT 分子種について，9 種類のヒト遺伝子組換え SULT 分子種（SULT1A1，SULT1A2，SULT1A3，SULT1B1，SULT1C2，SULT1C4，SULT1E1，SULT2A1 および SULT2B1）ならびにヒト肝サイトゾルおよび肝 S9 分画を用いて in vitro で検討した。

パルボシクリブと SULT2A1 をインキュベートしたとき，硫酸抱合体である M11 が最も多く生成した。その他の分子種によっても M11 の生成が認められたが，見かけの生成率は SULT2A1 の 3%以下であった。このことから，パルボシクリブの硫酸抱合に関与する主な分子種は SULT2A1 であることが示唆された。

6. 排泄

6.1. ラット

報告書番号 8273768，概要表 2.6.5.13.A

雌雄の無処置および胆管カニューレ挿入 Sprague Dawley ラットに[^{14}C]パルボシクリブを 50 mg/kg（約 100 µCi/kg）で単回経口投与し，放射能の排泄を検討した。

雌雄無処置ラットにおける投与後 168 時間までの排泄物（尿および糞便）中の放射能回収率は，雄で投与量の 92.6%，雌で 94.3%であった。主要排泄経路は糞便で，雄で投与量の 84.0%，雌で 93.6%が回収された。尿中排泄率は，雄で投与量の 7.2%，雌で 0.6%であった。投与放射能のほとんどは，雄で投与後 72 時間以内，雌で 24 時間以内に排泄された。

胆管カニューレ挿入ラットにおける胆汁，尿および糞中の投与後 48 時間までの放射能回収率は，雄で 95.1%，雌で 98.6%であった。胆汁中への放射能排泄は，雄で投与量の 50.1%，雌で 81.3%であった。糞中の放射能回収率は雄で 30.6%，雌で 14.8%であった。尿中排泄率は投与量の 7.0%（雄）および 1.7%（雌）であった。

6.2. イヌ

報告書番号 8276000，概要表 2.6.5.13.B

雌雄ビーグル犬に[^{14}C]パルボシクリブを 1.97 mg/kg（19.6 µCi/kg）で単回経口投与し，尿中および糞中への放射能の排泄を検討した。

イヌにおける尿および糞中の投与後 192 時間までの放射能回収率は，雄で 88.7%，雌で 91.1%であった。放射能の主要排泄経路は糞便で，雄で投与量の 75.1%，雌で 79.1%であった。尿中排泄率は，雄で投与量の 9.1%，雌で 9.9%であった。投与した放射能は，投与後 96 時間までにほとんど排泄された。

6.3. ヒト

報告書番号 A5481011，概要表 2.6.5.13.C

外国人健康男性被験者に[^{14}C]パルボシクリブ 125 mg（100 µCi）を単回経口投与した後，規定された間隔で最長投与後 360 時間まで（全 6 例で投与後 216 時間以上）糞および尿試料を採取し，放射能の排泄を検討した。

ヒトにおける総放射能回収率は，投与量の 91.6%であった。主要排泄経路は糞中で，糞中排泄率は投与量の 74.1%，尿中排泄率は 17.5%であった。投与後 96 時間までに投与放射能の約 80%が排泄された。

なお，ヒトにおける未変化体の尿中排泄率は投与量の 6.9%（2.7.2.2.3.1.1 項）であり，腎トランスポーターである OAT1，OAT3 および OCT2 のパルボシクリブ消失への寄与は小さいと考えられた。このことから，パルボシクリブがこれらのトランスポーターの基質となる可能性についての評価は実施しなかった。

6.4. 乳汁中排泄

パルボシクリブの乳汁中排泄の検討は実施していないが，一般に多くの薬物は乳汁中に移行することが知られている。添付文書にて「授乳中の婦人には、授乳を中止させること。［ヒト母乳中への移行は不明である。］」と注意喚起を行っている。

7. 薬物動態学的薬物相互作用

パルボシクリブが CYP 分子種，UGT 分子種および薬物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 in vitro で検討した。

7.1. CYP 阻害

7.1.1. パルボシクリブ

報告書番号 PD-0332991_[redacted]_181141，概要表 2.6.5.12.A，2.6.5.12.B，2.6.5.12.C，2.6.5.12.D

ヒト肝ミクロソームおよび各 CYP 分子種特異的プローブ基質を用いて，8 種類の CYP 分子種（CYP1A2，CYP2A6，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 および CYP3A）に対するパルボシクリブの可逆的阻害能を評価した。各プローブ基質（いずれも K_m に近い濃度）を，パルボシクリブ（0.0952 µmol/L～30 µmol/L）および NADPH 存在下においてヒト肝ミクロソーム中でインキュベートした。

パルボシクリブは評価した濃度範囲においていずれの CYP 分子種も阻害せず，50%阻害濃度（IC_{50} 値）は 30 µmol/L 超（Ki として 15 µmol/L 超）と考えられた（報告書番号 PD-0332991_[redacted]_181141，概要表 2.6.5.12.A）。IC_{50} 値（30 µmol/L 超）および日本人進行固形癌患者にパルボシクリブ 125 mg を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態における C_{max}（総濃度として 186 ng/mL = 0.41 µmol/L，非結合型として 0.060 µmol/L，2.7.2.2.2.5.2 項）に基づき，パルボシクリブがこれらの CYP 分子種を阻害する可能性は，総濃度または非結合型濃度のいずれを用いた場合にも低いことが示された（概要表 2.6.5.12.B，2.6.5.12.C）。なお，臨床でのパルボシクリブ（125 mg，1 日 1 回）とレトロゾール（CYP2A6 および CYP3A の基質）との併用投与において，レトロゾールの曝露量に変化はみられなかった（A5481003 試験，2.7.2.2.2.3.2 項）。

さらに，ヒト肝ミクロソームを用いて，パルボシクリブの各 CYP 分子種に対する時間依存的阻害作用について評価した。

パルボシクリブは CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 または CYP2D6 活性に対して時間依存的阻害能をほとんど示さなかった。しかしながら，パルボシクリブは CYP3A によるミダゾラム 1'-水酸化活性およびテストステロン 6β-水酸化活性に対して時間依存的阻害作用を示し，その K_I および k_{inact} はそれぞれ 10 µmol/L および 0.036 min^{-1} ならびに 19 µmol/L および 0.087 min^{-1} であった。これらの結果から算出した R 値[a]はいずれも 1.1 を上回ったことから，パルボシクリブは CYP3A の基質となる薬剤との併用により薬物動態学的相互作用を示す可能性があると考えられた（報告書番号 PD-0332991_[redacted]_181141，概要表 2.6.5.12.D）。臨床試験において，阻害または誘導による影響を受けやすい CYP3A の基質薬であるミダゾラムとパルボシクリブを併用投与したとき，ミダゾラムの AUC はパルボシクリブ（125 mg，1 日 1 回 7 日間）の併用により 61%増加した（A5481012 試験，2.7.2.2.3.1.2 項）。

[a] $R = (K_{obs} + k_{deg}) / k_{deg}$，$K_{obs} = k_{inact} \times C_{max} / (K_I + C_{max})$，$K_{deg} = 0.03\ h^{-1}$，$0.0005\ min^{-1}$（Wang YH. , et al. 2010）

7.1.2. PF-05089326

報告書番号 PD-332991/[redacted]/130322，概要表 2.6.5.12.F，2.6.5.12.G

PF-05089326（ラクタム体）はヒト血漿中に未変化体の約 10%存在する代謝物であることから（2.7.2.2.3.1.1 項），ヒト肝ミクロソームおよび特異的プローブ基質を用いて，7 種類の CYP 分子種（CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 および CYP3A）に対する PF-05089326 の可逆的阻害能について評価した。各プローブ基質（いずれも K_m に近い濃度）を，PF-05089326（0.08 µmol/L～25 µmol/L）および NADPH（1.3 mmol/L）存在下においてヒト肝ミクロソーム中でインキュベートした。

PF-05089326 は評価した濃度範囲において CYP3A を除くいずれの分子種も阻害しなかった（IC_{50} は 25 µmol/L 超）が，CYP3A（フェロジピンオキシダーゼ）に対する IC_{50} 値は 16 µmol/L であった。IC_{50} 値およびヒトにパルボシクリブ 125 mg を単回経口投与したときの PF-05089326 の C_{max}（総濃度として 10.4 ng/mL = 0.022 µmol/L，非結合型濃度として 0.0011 µmol/L，2.7.2.2.3.1.1 項）に基づき，PF-05089326 がこれらの分子種を阻害する可能性は，総濃度または非結合型濃度のいずれを用いた場合にも低いことが示された（報告書番号 PD-332991/[redacted]/130322，概要表 2.6.5.12.F）。

さらに，ヒト肝ミクロソームを用いて，PF-05089326 の各 CYP 分子種に対する時間依存的阻害作用について評価した。

PF-05089326 が CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 または CYP2D6 活性に対して時間依存的阻害能をほとんど示さなかった。パルボシクリブと同様，PF-05089326 は CYP3A によるミダゾラム 1'-水酸化活性ならびにテストステロン 6β-水酸化活性に対して時間依存的阻害作用を示し，その K_I および k_{inact} はそれぞれ 7.0 µmol/L および 0.094 min^{-1} ならびに 6.4 µmol/L および 0.15 min^{-1} であった（報告書番号 PD-332991/[redacted]/130322，概要表 2.6.5.12.G）。

7.2. CYP 誘導

報告書番号 XT[redacted]3065，概要表 2.6.5.12.H

3 ロットの凍結ヒト肝細胞を用いて，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8 および CYP3A4 の mRNA 発現または酵素活性に対するパルボシクリブの誘導能を 0.3 µmol/L～30 µmol/L の範囲で評価した。陽性対照として CYP1A2 にはオメプラゾール（30 µmol/L），CYP2B6 にはフェノバルビタール（750 µmol/L），CYP2C8 および CYP3A4 にはリファンピン（10 µmol/L）を用いた。

3 ロットの肝細胞のいずれにおいても，パルボシクリブは 3 µmol/L（細胞生存率 80%を維持できる最高濃度）まで CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8 および CYP3A4 の mRNA 発現または酵素活性を誘導しなかった。

日本人にパルボシクリブ 125 mg を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態における C_{max} は 186 ng/mL（0.41 µmol/L，非結合型として 0.060 µmol/L）であるが，パルボシクリブは 3 µmol/L（非結合型 C_{max} の約 50 倍）まで各 CYP 分子種に対する誘導作用を示さなかったことから，臨床用量のパルボシクリブが CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8 および CYP3A を誘導する可能性は低いと考えられた。

7.3. UGT 阻害

報告書番号 PF-00080665_[redacted]_165849，概要表 2.6.5.12.I，2.6.5.12.J，2.6.5.12.K

ヒト肝ミクロソームを用いて，2%ウシ血清アルブミン存在下または非存在下で UGT 分子種に対するパルボシクリブの阻害能を 1 µmol/L～100 µmol/L の範囲で評価した。特異的プローブ基質として，β-エストラジオール（UGT1A1），トリフルオロペラジン（UGT1A4），5-ヒドロキシトリプトフォール（UGT1A6），プロポフォール（UGT1A9）およびジドブジン（UGT2B7）を用いた。

2%ウシ血清アルブミンの非存在下では，パルボシクリブは UGT1A4 および UGT1A6 に対する可逆的阻害作用をほとんど示さなかったが，UGT1A1，UGT1A9 および UGT2B7 の IC_{50} はそれぞれ 65，72 および 71 µmol/L であった。2%ウシ血清アルブミンの存在下では，パルボシクリブは UGT1A1 および UGT1A6 に対する可逆的阻害作用をほとんど示さなかったが, UGT1A4, UGT1A9 および UGT2B7 の IC_{50} 値はそれぞれ 86，20 および 55 µmol/L（非結合型としてそれぞれ 58，13 および 37 µmol/L）[a]であった。

上述の検討で得られた IC_{50} 値（総濃度および非結合型）および日本人にパルボシクリブ 125 mg を 1 日 1 回反復投与したときの C_{max}（総濃度として 0.41 µmol/L，非結合型として 0.060 µmol/L）に基づき，パルボシクリブがこれらの UGT 分子種を阻害する可能性は，総濃度または非結合型濃度のいずれを用いた場合にも低いことが示された（概要表 2.6.5.12.J，2.6.5.12.K）。

7.4. トランスポーターを介した薬物相互作用

7.4.1. 消化管排出トランスポーター阻害

報告書番号 PF-00080665_[redacted]_163603，XT[redacted]8431，概要表 2.6.5.15.B，2.6.5.15.C，2.6.5.15.D

排出トランスポーターである P-gp および BCRP に対するパルボシクリブの阻害能を 0.032 µmol/L～100 µmol/L の範囲で，MDCKII-MDR1 および MDCKII-BCRP 細胞を用いた in vitro 輸送系で検討した。P-gp および BCRP の典型的基質としてそれぞれジゴキシン（10 µmol/L）およびプラゾシン（1 µmol/L）を用いた。

パルボシクリブは P-gp を介したジゴキシンの双方向輸送を濃度依存的に阻害したが（32 µmol/L まで），100 µmol/L では単層細胞構造の障害が示唆されたことから，IC_{50} 値を算出できなかった。P-gp を介したジゴキシンの輸送に対する IC_{50} 値は 32 µmol/L 超と推定された。同様に，BCRP を介したプラゾシンの輸送はパルボシクリブ 31.6 µmol/L および 100 µmol/L により，それぞれ 30%および完全に阻害された。IC_{50} 値は正確に算出できなかったが，31.6 µmol/L 超と推定された。パルボシクリブの P-gp および BCRP に対する K_i は 16 µmol/L 超と推定された（報告書番号 PF-00080665_[redacted]_163603，XT[redacted]8431，概要表 2.6.5.15.B）。

IC_{50} 値および臨床用量（125 mg，1 日 1 回投与）におけるパルボシクリブの C_{max}（総濃度として 0.41 µmol/L，非結合型として 0.060 µmol/L）に基づき，パルボシクリブが P-gp または BCRP を消

[a] 2%ウシ血清アルブミン中におけるパルボシクリブの非結合型分率：0.67

化管以外で阻害する可能性は，総濃度または非結合型濃度のいずれを用いた場合にも低いことが示された（概要表 2.6.5.15.C，2.6.5.15.D）。

一方，消化管においては，臨床用量（125 mg，1 日 1 回投与）で経口投与時のパルボシクリブ濃度（$[I]_2$ = 投与量/250 mL）は 0.5 mg/mL（1117 µmol/L）と見積もられ，IC_{50} 値に基づきパルボシクリブは消化管において P-gp および BCRP を阻害する可能性が示唆された（概要表 2.6.5.15.C，2.6.5.15.D）。

7.4.2. 肝排出トランスポーター阻害

報告書番号 XT[redacted]8428，概要表 2.6.5.15.B

胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）に対するパルボシクリブの阻害能を 0.03 µmol/L～31.6 µmol/L の範囲で，BSEP を過剰発現する昆虫卵巣細胞由来の膜小胞を用いた in vitro 輸送系で検討した。典型的プローブ基質としてタウロコール酸（2 µmol/L）を用いた。

パルボシクリブは，BSEP を介したタウロコール酸塩の輸送を阻害しなかった。一方，陽性対照であるグリブリドはタウロコール酸塩の輸送を阻害し，IC_{50} 値は 11.1 µmol/L であった。このことから，臨床用量においてパルボシクリブが BSEP を阻害する可能性は低いと考えられた。

7.4.3. 肝取り込みトランスポーター阻害

報告書番号 XT[redacted]8430，PD-332991_[redacted]_043304，概要表 2.6.5.15.B

肝取り込みトランスポーターに対するパルボシクリブの阻害能を 0.0316 µmol/L～31.6 µmol/L の範囲で，OATP1B1 および OATP1B3 を発現した HEK293 細胞を用いた in vitro 輸送系で検討した。典型的プローブ基質としてプラバスタチン（10 µmol/L）を用いた。

パルボシクリブは，OATP1B1 および OATP1B3 を介したプラバスタチンの輸送をほとんど阻害せず，最大阻害率はそれぞれ 4%および 17.2%であった。一方，陽性対照であるシクロスポリン A（10 µmol/L）はプラバスタチンの輸送を約 90%阻害した。このことから，臨床における血中濃度ではパルボシクリブが OATP1B1 および OATP1B3 を阻害する可能性は低いと考えられた（報告書番号 XT[redacted]8430，概要表 2.6.5.15.B）。

なお，OCT1 に対するパルボシクリブ（0.006 µmol/L～100 µmol/L）の阻害能を，OCT1 を発現させた HEK293 細胞を用いた in vitro 輸送系で検討したところ，パルボシクリブは OCT1 を介したメトホルミンの輸送を IC_{50} 値 0.72 µmol/L で阻害した（報告書番号 PD-332991_[redacted]_043304，概要表 2.6.5.15.B）。

7.4.4. 腎トランスポーター阻害

報告書番号 PD-0332991_[redacted]_161616，概要表 2.6.5.15.B

腎トランスポーターに対するパルボシクリブの阻害能を 0.024µmol/L～100 µmol/L の範囲で，OAT1，OAT3 および OCT2 を発現させた HEK293 細胞を用いた in vitro 輸送系で検討した。OAT1，OAT3 および OCT2 の典型的基質として，それぞれ[^{3}H]パラアミノ馬尿酸（2 µmol/L），[^{3}H]エストロン-3-硫酸（0.2 µmol/L）および[^{14}C]メトホルミン（10 µmol/L）を用いた。

OAT1，OAT3 に対する陽性対照であるプロベネシド（500 µmol/L）および OCT2 に対する陽性対照であるキニジン（500 µmol/L）は，これらのトランスポーターを介した輸送を 89%超阻害したが，パルボシクリブは OAT1 および OAT3 を介した輸送を阻害しなかった（IC_{50} 値：100 µmol/L 超）。一方，パルボシクリブは OCT2 を介したメトホルミンの輸送を阻害し，IC_{50} 値は 3.94 µmol/L であった。臨床における非結合型 C_{max}（0.060 µmol/L）に基づくと非結合型 C_{max}/K_i 値は 0.25 未満であり，臨床用量のパルボシクリブが OAT1，OAT3 および OCT2 を阻害する可能性は低いと考えられた。

8. その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施していない。

9. 考察及び結論

薬理試験および毒性試験で用いた動物種におけるパルボシクリブの吸収，分布，代謝および排泄を検討した。また，ヒト試料またはヒト遺伝子発現系細胞など目的に応じた in vitro 評価系を用いてパルボシクリブの薬物動態を検討した。

ラット，イヌおよびサルを用いたパルボシクリブの薬物動態試験では，中等度の経口バイオアベイラビリティ，低度から中等度のクリアランス，大きな V_{ss} を示した。ラットおよびイヌを用いたトキシコキネティクス試験では，曝露量は用量増加に伴い増加した。ラットでは曝露量に性差がみられ，3 週間，15 週間および 27 週間反復投与毒性試験における雌雄同一用量では，雌と比べて雄の AUC は 7～24 倍高値を示した。イヌではパルボシクリブの曝露量に性差は認められなかった。ラットでは反復投与によるパルボシクリブの顕著な蓄積は認められなかった。イヌでは最終投与日における曝露量は投与初日の 1.1～4.2 倍であった。

パルボシクリブは in vitro の検討から排出トランスポーターである P-gp および BCRP の低度から中等度の基質であることが示されたが，ラットおよびヒトにおいてパルボシクリブ経口投与時の吸収は良好であり，in vivo ではこれらの排出トランスポーターによる影響はほとんどないと考えられた。また, in vitro においてパルボシクリブは主に受動的拡散によりヒト肝細胞に取り込まれ，肝取り込みトランスポーターの寄与は小さいことが示唆された。

有色ラットを用いた組織分布試験では，[^{14}C]パルボシクリブ由来の放射能は脳を除くほとんどの組織に広く分布し，パルボシクリブが大きい分布容積を示したことと符合していた。メラニン含有組織であるブドウ膜において，高い放射能濃度が持続的に認められたが，投与後 168 時間では最高値の 32%まで低下していた。

パルボシクリブの血漿蛋白結合率は，マウス，ラット，ウサギおよびヒトで中等度，イヌで低度であった。ヒト血清アルブミンおよびα_1酸性糖蛋白質に対する蛋白結合率は低度であった。In vitro において, パルボシクリブはヒトにおいて血漿よりも赤血球にやや多く分布し, マウス, ラット，イヌおよびサルでは，赤血球と血漿にほぼ均等に分布することが示された。

マウス，ラット，イヌおよびヒトにおける in vivo 代謝試験では，いずれの血漿中でも未変化体が最も高濃度で検出された。ラットにおける主な代謝経路は酸化，硫酸抱合，グルクロン酸抱合およびアシル化であり，ヒトにおいても認められた。イヌにおけるパルボシクリブの主代謝経路は酸化であった。ヒト血漿中の主代謝物は未変化体のグルクロン酸抱合体である M22 であったが，尿中では投与量の 1.5%程とわずかであり, アシルグルクロニドではないことから毒性学的な懸念がない代謝物であると考えられた。ヒトで排泄された主代謝物は未変化体の硫酸抱合体である M11 およびカルボン酸体である M16 であった。ヒト血漿中でみられた代謝物は，ラットまたはイヌの血漿中, 胆汁または尿中でも認められたことから，ヒト特異的な代謝物はないと考えられ，代謝物の特性を調べるための非臨床試験は必要ないと判断した。In vitro 試験からパルボシクリブは主に SULT2A1 および CYP3A により代謝されることが示された。

ラット，イヌおよびヒトに[^{14}C]パルボシクリブを経口投与したとき，いずれにおいても放射能の大部分は糞中に排泄された。ラットおよびヒトの糞中代謝物を検索したところ，未変化体として排泄された量は投与量の 2.3%～3.6%とわずかであり，経口投与されたパルボシクリブの消化管吸収は良好であることが示唆された。

In vitro において，パルボシクリブは CYP1A2，CYP2A6，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 を阻害せず，また CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP3A の誘導能を示さなかったことから，臨床においてこれらの基質となる薬剤との併用により薬物動態学的薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。パルボシクリブおよびそのラクタム体は in vitro において CYP3A に対する時間依存的阻害を示し，阻害または誘導による影響を受けやすい CYP3A の基質薬であるミダゾラムとパルボシクリブを併用した臨床試験においても弱い CYP3A 阻害作用を示した。臨床用量（125 mg，1 日 1 回投与）においては，パルボシクリブが UGT 分子種（UGT1A1，UGT1A4，UGT1A6，UGT1A9 および UGT2B7）ならびに薬物トランスポーター（消化管以外における P-gp および BCRP，ならびに OATP1B1，OATP1B3，BSEP，OAT1，OAT3 および OCT2）を阻害する可能性は低いと考えられた。パルボシクリブの水への溶解度は pH 依存性を示し，消化管と同じ pH 域（中性）における溶解度は$[I]_2$（投与量/250 mL により算出した 0.5 mg/mL = 1117 µmol/L）より低かったが，この pH 域においても胆汁酸塩混合ミセルの存在下では$[I]_2$を上回った（2.3.P.2.2.1 項）。このことから，パルボシクリブの消化管中濃度として$[I]_2$を用いたところ，消化管においては P-gp および BCRP を阻害する可能性が示唆された。

10. 図表

図は，本文中の該当箇所に記載し，試験報告書を出典とする図は本項に記載した。表は，本文中の該当箇所または薬物動態試験概要表（2.6.5 項）に記載し，概要表を参照する場合は，参照箇所を本文中に示した。

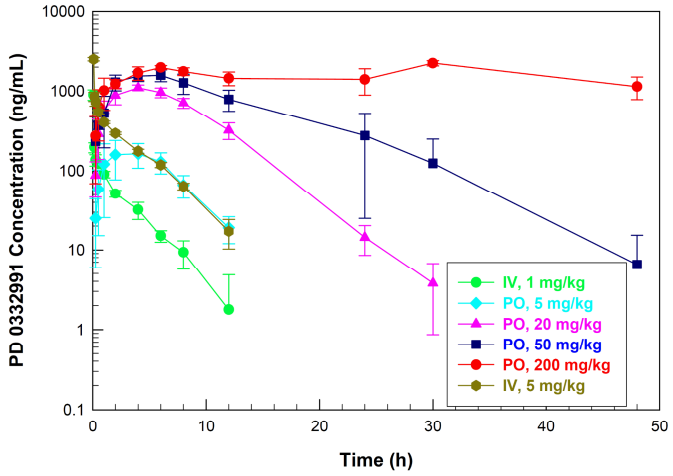


Figure 6.　雄ラットにパルボシクリブを単回投与したときの血漿中パルボシクリブ濃度推移（平均値±標準偏差）

（出典：報告書番号764-04175，Figure 7）

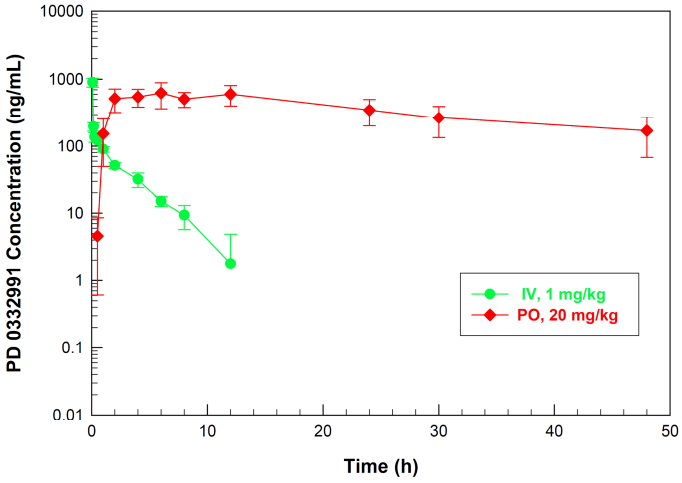


Figure 7.　雄イヌにパルボシクリブを単回投与したときの血漿中パルボシクリブ濃度推移（平均値±標準偏差）

（出典：報告書番号764-04166，Figure 1）

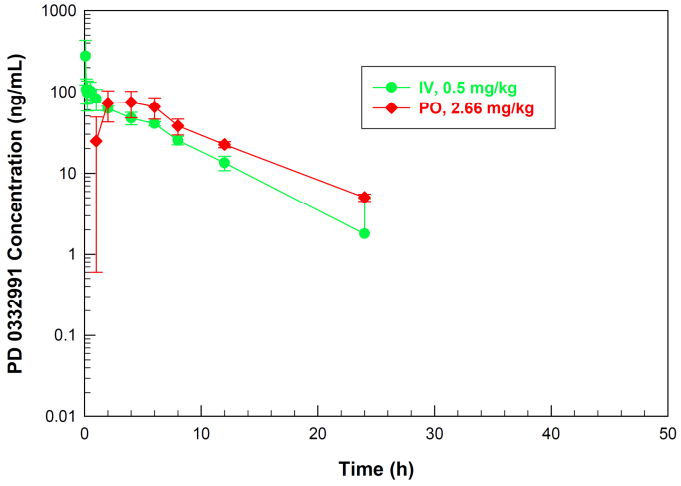


Figure 8.　雄サルにパルボシクリブを単回投与したときの血漿中パルボシクリブ濃度推移（平均値±標準偏差）

（出典：報告書番号764-04200，Figure 1）

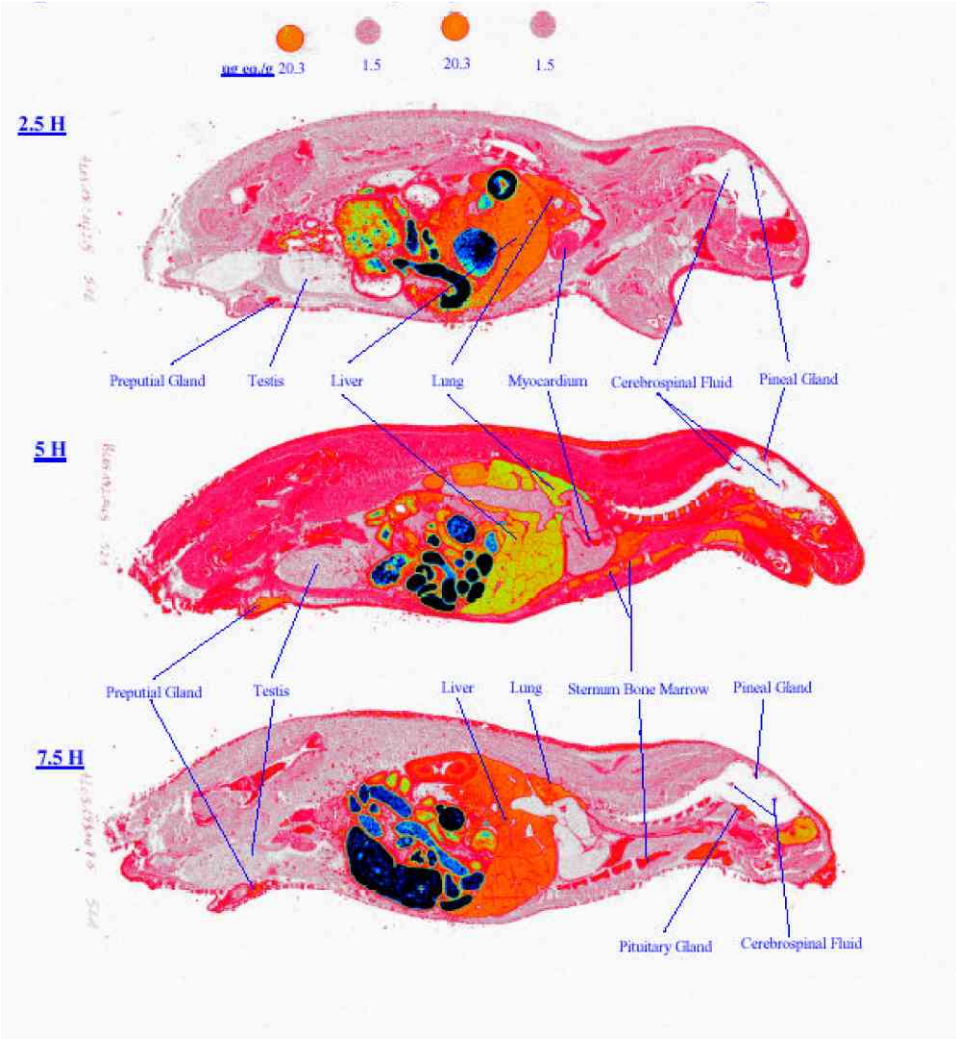


Figure 9.　雄有色ラットに[^{14}C]パルボシクリブを 20 mg/kg で単回経口投与したときの投与後 2.5～7.5 時間の全身オートラジオグラム

（出典：報告書番号DM20[redacted]-0332991-001，Figure 1）

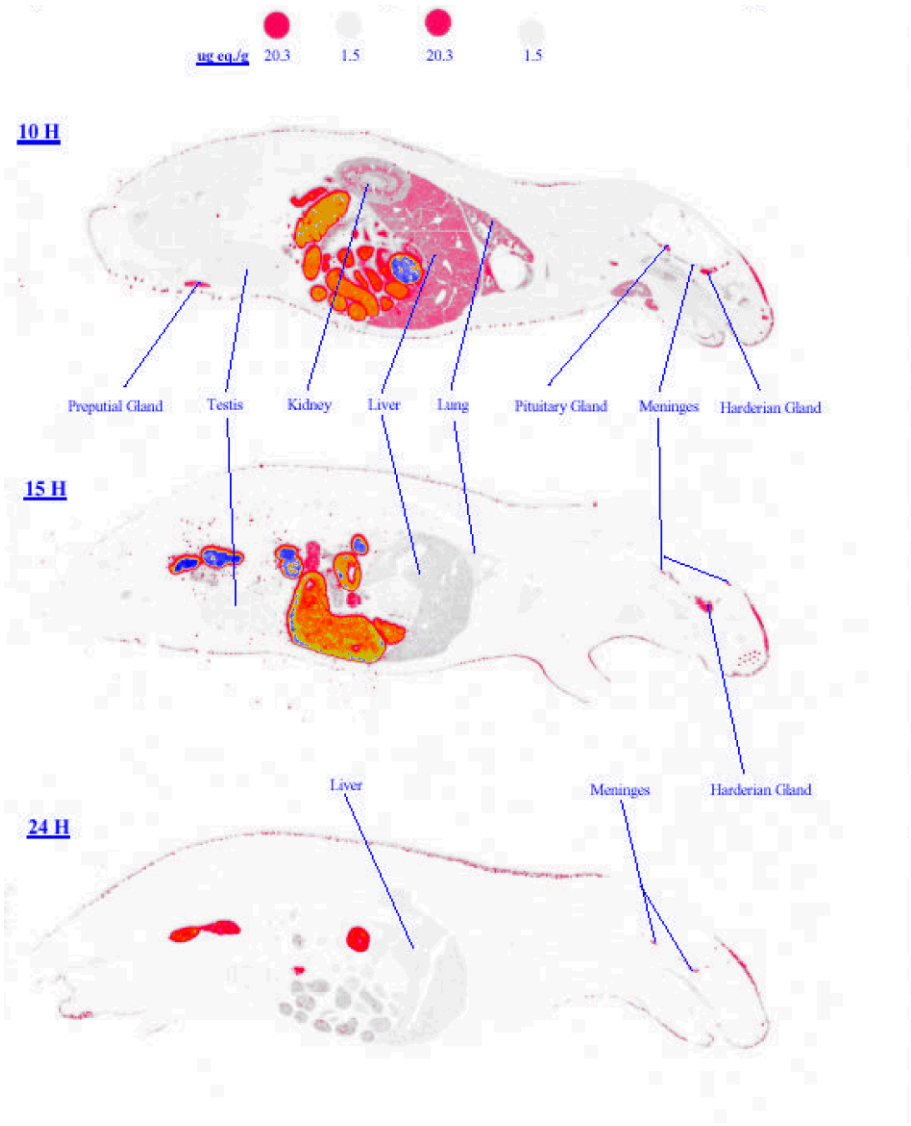


Figure 10.　雄有色ラットに[^{14}C]パルボシクリブを20 mg/kgで単回経口投与したときの投与後10～24時間の全身オートラジオグラム

（出典：報告書番号DM20[redacted]-0332991-001，Figure 2）

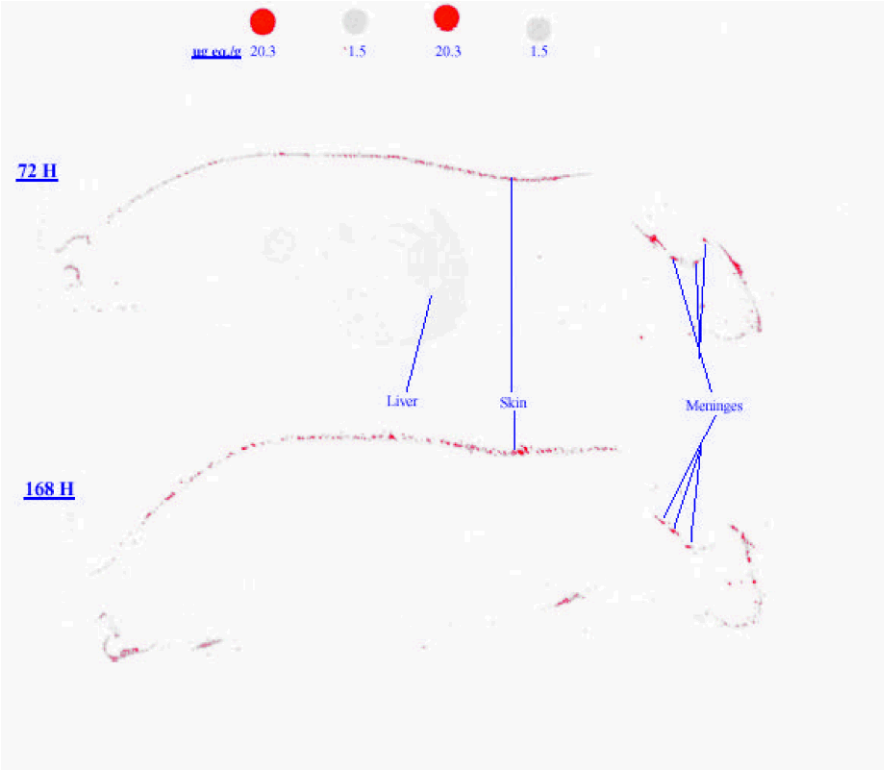


Figure 11.　雄有色ラットに[^{14}C]パルボシクリブを20 mg/kgで単回経口投与したときの投与後72～168時間の全身オートラジオグラム

（出典：報告書番号DM20[redacted]-0332991-001，Figure 3）

11. 参考文献

[1] Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res. 1993;10(7):1093-5.

[2] Di L, Trapa P, Obach RS, et al. A novel relay method for determining low-clearance values. Drug Metab Dispos. 2012;40(9):1860-5.

TABLE OF CONTENTS

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW 3
2.6.5.2.A OVERALL SUMMARY OF ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS, NONCLINICAL 9
2.6.5.2.B OVERALL SUMMARY OF NONCLINICAL PHARMACOKINETIC AND TOXICOKINETIC STUDIES AND ASSOCIATED ANALYTICAL METHODS 10
2.6.5.3. PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE 12
2.6.5.4. PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES 15
2.6.5.5. PHARMACOKINETICS: ORGAN DISTRIBUTION 16
2.6.5.6.A PHARMACOKINETICS: PROTEIN BINDING 19
2.6.5.6.B PHARMACOKINETICS: PROTEIN BINDING 20
2.6.5.7. PHARMACOKINETICS: STUDY IN PREGNANT OR NURSING ANIMALS 21
2.6.5.8. PHARMACOKINETICS: OTHER DISTRIBUTION STUDIES 22
2.6.5.9.A PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VIVO 23
2.6.5.9.B PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VIVO 24
2.6.5.9.C PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VIVO 25
2.6.5.10.A PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO 26
2.6.5.10.B PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO 27
2.6.5.10.C PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO 28
2.6.5.11.A PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS ACROSS SPECIES 29
2.6.5.11.B PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS (CIRCULATING METABOLITES) 30
2.6.5.11.C PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS (EXCRETORY METABOLITES) 31
2.6.5.11.D PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS (IN VITRO METABOLISM) 32
2.6.5.12.A PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 33
2.6.5.12.B PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 34
2.6.5.12.C PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 35

2.6.5.12.D PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 36
2.6.5.12.E PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 37
2.6.5.12.F PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 38
2.6.5.12.G PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 39
2.6.5.12.H PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 40
2.6.5.12.I PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 41
2.6.5.12.J PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 42
2.6.5.12.K PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES 43
2.6.5.13.A PHARMACOKINETICS: EXCRETION 44
2.6.5.13.B PHARMACOKINETICS: EXCRETION 45
2.6.5.13.C PHARMACOKINETICS: EXCRETION 46
2.6.5.14.A PHARMACOKINETICS: EXCRETION INTO BILE 47
2.6.5.15.A PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS 48
2.6.5.15.B PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS 49
2.6.5.15.C PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS 50
2.6.5.15.D PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS 51
2.6.5.15.E PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS 52
2.6.5.15.F PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS 53
2.6.5.15.G PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS 54
2.6.5.15.H PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS 55

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: Palbociclib

Type of Study	Test System	Method of Administration & Dose	Testing Facility	Report Number
Absorption and Pharmacokinetics				
Single-Dose Pharmacokinetics				
	Male Rats, (Sprague-Dawley)	Oral (5, 20, 50, 200 mg/kg) IV (1, 5 mg/kg)	Pfizer/[redacted][a]	764-04175
	Male Dogs, (Beagle)	Oral (20 mg/kg) IV (1 mg/kg)	Pfizer/[redacted][a]	764-04166
	Male Monkeys, (Cynomolgus)	Oral (2.66 mg/kg) IV (0.5 mg/kg)	Pfizer/[redacted][a]	764-04200
Single-Dose Toxicokinetics				
Safety Pharmacology – CNS Evaluation/TK	Male Rats, (Sprague-Dawley)	Oral (30, 300 mg/kg)	Pfizer	745-03890
Safety Pharmacology – Pulmonary/TK	Male Dogs, (Beagle)	IV (1, 5 mg/kg)	Pfizer	745-03892
Safety Pharmacology – Cardiovascular/TK	Male Dogs, (Beagle)	Oral (10, 30 mg/kg)	Pfizer	745-03696
Safety Pharmacology – Cardiovascular/TK	Male Dogs, (Beagle)	Oral (3, 10, 30 mg/kg)	[redacted][b]	[redacted]GR248
Repeat-Dose Toxicokinetics				
2-Week Dose-Ranging/TK	Male & Female Rats, (Sprague-Dawley)	Oral (M: 300, 600 mg/kg/day) (F: 30, 100, 300 mg/kg/day)	Pfizer	745-03781

CNS = Central nervous system; F = Female; IV = Intravenous; M = Male; TK = Toxicokinetics.

a. [redacted].

b. [redacted] Canada.

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: Palbociclib

Type of Study	Test System	Method of Administration & Dose	Testing Facility	Report Number
Repeat-Dose Toxicokinetics (Cont)				
3-Week Toxicity/TK & 4-Week Recovery	Male & Female Rats, (Sprague-Dawley)	Oral (M: 50, 100, 200 mg/kg/day) (F: 100, 200, 400 mg/kg/day)	Pfizer	745-03731
15-Week Toxicity/TK & 4-Week Recovery	Male & Female Rats, (Sprague-Dawley)	Oral (M: 10, 30, 100 mg/kg/day) (F: 50, 100, 200 mg/kg/day)	[redacted][a]	20026125
27-Week Toxicity/TK & 12-Week Recovery	Male & Female Rats, (Sprague-Dawley)	Oral (M: 10, 30, 100 mg/kg/day) (F: 50, 100, 300 mg/kg/day)	[redacted][a]	8282224
Fertility & EED/TK	Female Rats, (Sprague-Dawley)	Oral (30, 100, 300 mg/kg/day)	[redacted][a]	20037853
Embryo-Fetal Development/TK	Female Rats, (Sprague-Dawley)	Oral (30, 100, 300 mg/kg/day)	[redacted][a]	20039574
Embryo-Fetal Development/TK	Female Rabbits, (New Zealand White)	Oral (2, 10, 20 mg/kg/day)	[redacted][a]	20039575
Dose Escalating Toxicity/TK	Male & Female Dogs, (Beagle)	Oral (1, 3, 10, 30, 60, 100 mg/kg/day)	Pfizer	745-03662
2-Week Dose-Ranging/TK	Male & Female Dogs, (Beagle)	Oral (1, 3, 10, 20, 40 mg/kg/day)	Pfizer	745-03765
3-Week Toxicity/TK & 4-Week Recovery	Male & Female Dogs, (Beagle)	Oral (0.2, 0.6, 2 mg/kg/day)	Pfizer	745-03871
15-Week Toxicity/TK & 4-Week Recovery	Male & Female Dogs, (Beagle)	Oral (0.2, 0.6, 2 mg/kg/day)	[redacted][a]	20026126
39-Week Toxicity/TK & 12-Week Recovery	Male & Female Dogs, (Beagle)	Oral (0.2, 0.6, 3 mg/kg/day)	[redacted][a]	8282225

EED = Early embryonic develo ent; F = Females; M = Males; TK = Toxicokinetics.
a. [redacted] USA.

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW — Test Article: Palbociclib

Type of Study	Test System	Method of Administration & Dose	Testing Facility	Report Number
Permeability & Efflux/Uptake Transporters				
P-gp & BCRP	MDCK Cells	In Vitro (0.05, 0.1, 0.15, 0.25, 1, 2.5, 5, 10, 25 µM)	Pfizer	PD-332991/[redacted]/142925
OATP 1B1 & 1B3	SCHH	In Vitro (1 µM)	Pfizer	PF-00080665 (PD-0332991)_[redacted]_111932
Hepatic Uptake Transporter Substrate (OATP1B1,OATP1B3)	HEK293 cells	In Vitro (0.03 - 30 µM)	Pfizer	PD-332991_[redacted]_042704
Distribution				
Tissue Distribution	Male Rats, (Long-Evans)	Oral (20.3 mg/kg [^{14}C]Palbociclib)	Pfizer	DM20[redacted]-0332991-001
Protein Binding	Mouse, Rat, Dog, Human Plasma; HSA; AAG	In Vitro (1.12, 2.24, 5.59, 11.2 µM)	Pfizer	764-04174
Protein Binding	Rabbit Plasma	In Vitro (1 µM)	Pfizer	PD-0332991_[redacted]_141526
Protein Binding	Mouse, Rat, Dog, Human Plasma	PF-05089326[a] In Vitro (0.05, 0.25, 1 µM)	Pfizer	PF-05089326_[redacted]_104347
RBC Distribution	Mouse, Rat, Dog, Monkey Human Whole Blood	In Vitro (5.6 µM)	Pfizer	764-04302

AAG = α_1-Acid Glycoprotein; BCRP = Breast cancer resistance protein; HSA = Human serum albumin; MDCK = Madin-Darby canine kidney cells; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; P-gp = P-glycoprotein; RBC = Red blood cell; SCHH = Sandwich cultured human hepatocytes.
a. PF-05089326 is the lactam metabolite of palbociclib.

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW — Test Article: Palbociclib

Type of Study	Test System	Method of Administration & Dose	Testing Facility	Report Number
Metabolism				
In Vivo Metabolism				
	Male & Female Rats, (Sprague-Dawley)	Oral (50 mg/kg [^{14}C]Palbociclib)	Pfizer	PD-0332991_[redacted]_135758
	Male & Female Dogs, (Beagle)	Oral (1.97 mg/kg [^{14}C]Palbociclib)	Pfizer	PD-0332991 _[redacted]_204619
	Human, Healthy Subjects	Oral (125 mg [^{14}C]Palbociclib)	Pfizer	PD-0332991_[redacted]_113146
In Vitro Metabolism/Reaction Phenotyping				
	Mouse Hepatocytes	In Vitro (10 µM Palbociclib)	Pfizer	PD-0332991_[redacted]_150813
	Rat, Dog, Human Hepatocytes	In Vitro (10 µM Palbociclib)	Pfizer	PD-332991 _[redacted]_193503
	Human Hepatocytes	In Vitro (1 µM)	Pfizer	PD-0332991_[redacted]_095443
	Human Recombinant SULT Enzyme	In Vitro (250 µM)	Pfizer	PD-0332991_[redacted]_170350
Excretion				
	Male & Female Rats, (Sprague-Dawley)	Oral (50 mg/kg [^{14}C]Palbociclib)	[redacted][a]	8273768

SULT = Sulfotransfe ase.
a. [redacted].

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW — Test Article: Palbociclib

Type of Study	Test System	Method of Administration & Dose	Testing Facility	Report Number
Excretion (Cont)				
	Male & Female Dogs, (Beagle)	Oral (2 mg/kg [^{14}C]Palbociclib)	[redacted][a]	8276000
	Human, Healthy Subjects	Oral (125 mg (~100 µCi) [^{14}C]Palbociclib)	[redacted][b]	4200021
Pharmacokinetic Drug Interactions				
CYP Enzyme Inhibition	HLM	In Vitro (0.1 - 30 µM)	Pfizer	PD-0332991_[redacted]_181141
CYP Enzyme Inhibition	HLM	PF-05089326[c] In Vitro (0.08 - 25 µM)	Pfizer	PD-332991/[redacted]/130322
CYP Enzyme Induction	Human Hepatocytes	In Vitro (0.3 - 30 µM)	[redacted][d]	XT[redacted]3065 ([redacted]_02492)
UGT Enzyme Inhibition	HLM	In Vitro (1 - 100 µM)	Pfizer	PF-00080665_[redacted]_165849
P-gp Inhibition	MDCK Cells	In Vitro (0.03 - 100 µM)	Pfizer	PF-00080665_[redacted]_163603
BCRP Inhibition	MDCK Cells	In Vitro (0.1 - 100 µM)	[redacted]	XT[redacted]8431 ([redacted]_03730)
Renal Uptake Transporter Inhibition (OAT1, OAT3, OCT2)	HEK293 Cells	In Vitro (0.024 – 100 µM)	Pfizer	PD-0332991_[redacted]_161616

BCRP = Breast cancer resistance protein; CYP = Cytochrome P450; HEK293 = Human embryonic kidney 293 cells; HLM = Human liver microsomes; MDCK = Madin-Darby canine kidney cells; OAT = Organic anion transporter; OCT = Organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein; UGT = Uridine diphosphate glucuronosyltransferase.

a. [redacted].
b. [redacted], Canada.
c. PF-05089326 is the lactam metabolite of palbociclib.
d. [redacted].

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW — Test Article: Palbociclib

Type of Study	Test System	Method of Administration & Dose	Testing Facility	Report Number
Pharmacokinetic Drug Interactions (Cont)				
BSEP Inhibition	Membrane Vesicles (Sf9)	In Vitro (0.03 - 31.6 µM)	[redacted][a]	XT[redacted]8428 ([redacted]_03731)
Hepatic Uptake Transporter Inhibition (OCT1)	HEK293 cells	In Vitro (0.006- 100 µM)	Pfizer	PD-332991_[redacted]_043304
Hepatic Uptake Transporter Inhibition (OATP1B1, OATP1B3)	HEK293 cells	In Vitro (0.03 - 31.6 µM)	[redacted][a]	XT[redacted]8430 ([redacted]_03729)

BSEP = Bile salt export pump; HEK293 = Human embryonic kidney 293 cells; OATP = Organic anion transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; Sf9 = *Spodoptera frugiperda* ovarian insect cells.

a. [redacted].

2.6.5.2.A OVERALL SUMMARY OF ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS, NONCLINICAL

Test Article: Palbociclib

Species	Report Number	Report Approval Date	Type of Analytical Method	Matrix / Anticoagulant	Analyte	Range (ng/mL)
Dog	764-04144	[redacted]20[redacted]	HPLC/MS/MS	Plasma/EDTA	Palbociclib	1 to 900; 10 to 10000
Mouse, Rat, Rabbit, Monkey	764-04143	[redacted]20[redacted]	HPLC/MS/MS	Plasma/EDTA	Palbociclib	10 to 10000
Rat	143180	[redacted]20[redacted]	HPLC/MS/MS	Plasma/K_2EDTA	Palbociclib, PF-05089326[a]	1 to 500
Dog	143181	[redacted]20[redacted]	HPLC/MS/MS	Plasma/K_2EDTA	Palbociclib, PF-05089326[a]	1 to 500
Rat	1400243	[redacted]20[redacted]	HPLC/MS/MS	Plasma/K_2EDTA	Palbociclib	1 to 500
Rabbit	1400238	[redacted]20[redacted]	HPLC/MS/MS	Plasma/K_2EDTA	Palbociclib	1 to 500
Dog	1400244	[redacted]20[redacted]	HPLC/MS/MS	Plasma/K_2EDTA	Palbociclib	1 to 500

EDTA = Ethylenediaminetetraacetic acid; K_2EDTA = Potassium ethylenediaminetetraacetic acid; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry.
a. PF-05089326 is the lactam metabolite of palbociclib.

2.6.5.2.B OVERALL SUMMARY OF NONCLINICAL PHARMACOKINETIC AND TOXICOKINETIC STUDIES AND ASSOCIATED ANALYTICAL METHODS

Test Article: Palbociclib

Study Description Report No.	Analyte	Type of Analytical Method	Matrix / Anticoagulant	Report Number	Quantitation Range (ng/mL)	Regulatory Status
Rats						
Single-Dose Oral, IV (PK), 764-04175	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma	NA	NA	Non-GLP validated
Single-Dose Oral (TK) – CNS Evaluation, 745-03890/3108	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/EDTA	764-04143	10 to 10000	Validated
2-Week Dose Ranging Oral (TK), 745-03781/3032	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/EDTA	NA	NA	Non-validated method
3-Week Oral (TK), 745-03731	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/EDTA	764-04143	10 to 10000	Validated
15-Week with 4-Week Recovery Oral (TK) [redacted]LJ025/20026125	Palbociclib, PF-05089326[a]	HPLC/MS/MS	Plasma/ K_2EDTA	143180	1 to 500	Validated
27-Week with 12-Week Recovery Oral (TK) 8282224/[redacted]LJ036	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/ K_2EDTA	1400243	1 to 500	Validated
Fertility & EED Oral (TK) [redacted]GR034	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/ K_2EDTA	1400243	1 to 500	Validated
Embryo-Fetal Development Oral (TK) [redacted]GR062	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/ K_2EDTA	1400243	1 to 500	Validated
Rabbit						
Embryo-Fetal Development Oral (TK) [redacted]GR063	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/ K_2EDTA	1400238	1 to 500	Validated
Dog						
Single Dose Oral, IV (PK), 764-04166	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma	NA	NA	Non-GLP validated
Single-Dose IV (TK) – Pulmonary, 745-03892/3117	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/EDTA	764-04144	1 to 900	Validated
Single-Dose Oral (TK) – Cardiovascular, 745-03696/2889	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/EDTA	764-04144	10 to 10000	Validated
Single-Dose Oral (TK) – Cardiovascular, [redacted]GR248	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/ K_2EDTA	143181	1 to 500	Validated

CNS = Central nervous system; EDTA = Ethylenediaminetetra acetic acid; EED = Early embryonic development; GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; K_2EDTA or K_3EDTA = Potassium ethylenediaminetetra acetic acid ; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; NA = Not applicable; PK = Pharmacokinetics; TK = Toxicokinetics.

a. PF-05089326 is the lactam metabolite of palbociclib.

2.6.5.2.B OVERALL SUMMARY OF NONCLINICAL PHARMACOKINETIC AND TOXICOKINETIC STUDIES AND ASSOCIATED ANALYTICAL METHODS

Test Article: Palbociclib

Study Description Report No.	Analyte	Type of Analytical Method	Matrix / Anticoagulant	Report Number	Quantitation Range (ng/mL)	Regulatory Status
Dose Escalating Oral (TK), 745-03662	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/EDTA	NA	NA	Non-validated method
2-Week Dose Ranging Oral (TK), 745-03765	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/EDTA	NA	NA	Non-validated method
3-Week Oral (TK), 745-03871	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/EDTA	764-04144	1 to 900	Validated
15-Week with 4-Week Recovery Oral (TK), [redacted]LJ024/20026126	Palbociclib, PF-05089326[a]	HPLC/MS/MS	Plasma/ K_2EDTA	143181	1 to 500	Validated
39-Week with 12-Week Recovery Oral (TK) 8282225/[redacted]LJ037	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma/ K_2EDTA	1400244	1 to 500	Validated
Monkey						
Single Dose Oral, IV (PK), 764-04200[a]	Palbociclib	HPLC/MS/MS	Plasma	NA	NA	Non-GLP validated

EDTA = Ethylenediaminetetra acetic acid; GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; K_2EDTA = Potassium ethylenediaminetetra acetic acid ; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; NA = Not applicable; PK = Pharmacokinetics; TK = Toxicokinetics.
a. PF-05089326 is the lactam metabolite of palbociclib.

2.6.5.3. PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE Test Article: Palbociclib

Report Number(s):	764-04175			
Species (Strain):	Rat (Sprague-Dawley)	Rat (Sprague-Dawley)	Rat (Sprague-Dawley)	Rat (Sprague-Dawley)
Gender (Male/Female)/Number of Animals:	Male/4	Male/4	Male/4	Male/4
Feeding Condition:	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	95%, 0.5% methylcellulose/5%, PEG 200	95%, 0.5% methylcellulose/5%, PEG 200	95%, 0.5% methylcellulose/5%, PEG 200	95%, 0.5% methylcellulose/5%, PEG 200
Method of Administration:	Oral	Oral	Oral	Oral
Dose (mg/kg):	5	20	50	200
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	Palbociclib	Palbociclib	Palbociclib	Palbociclib
Assay:	HPLC/MS/MS	HPLC/MS/MS	HPLC/MS/MS	HPLC/MS/MS
Mean ± SD Pharmacokinetic Parameters:				
C_{max} (ng/mL)	178 ± 47.4	1110 ± 61.8	1660 ± 245	2240 ± 166
T_{max} (h)	3.5 ± 1.91	5.00 ± 1.15	4.5 ± 1.9	30 ± 0
AUC_{inf} (ng•h/mL)	1200 ± 393	10800 ± 651	23000 ± 6740	--
AUC_t (ng•h/mL)	1140 ± 384	10700 ± 661	22900 ± 6720	76800 ± 8900
$t_{½}$ (h)	2.13 ± 0.122	2.80 ± 0.357	4.92 ± 1.38	--
F (%)[a]	56.1	--	--	--

-- = Data not available or not applicable; AUC_{inf} = Area under concentration-time curve from time zero to infinity postdose; AUC_t = Area under concentration-time curve from time zero to 48 hours postdose; C_{max} = maximum observed concentration; F = Bioavailability; h = hours; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; PEG = Polyethylene glycol; SD = Standard deviation; $t_{½}$ = Terminal half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}.

a. F (%) = ([AUC_{inf} (Oral) × Dose (IV)] / [AUC_{inf} (IV) × Dose (Oral)]) × 100.

2.6.5.3. PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE Test Article: Palbociclib

Report Number(s)	764-04175		764-04166	
Species (Strain):	Rat (Sprague-Dawley)	Rat (Sprague-Dawley)	Dog (Beagle)	Dog (Beagle)
Gender (Male/Female)/Number of Animals:	Male/3	Male/3	Male/3	Male/3
Feeding Condition:	Fasted	Fasted	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	5% DMA/25% Propylene Glycol/70% D5W	5% DMA/25% Propylene Glycol/70% D5W	Capsule	5% DMA/25% Propylene Glycol/70% D5W
Method of Administration:	Intravenous	Intravenous	Oral	Intravenous
Dose (mg/kg):	1	5	20	1
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte:	Palbociclib	Palbociclib	Palbociclib	Palbociclib
Assay:	HPLC/MS/MS	HPLC/MS/MS	HPLC/MS/MS	HPLC/MS/MS
Mean ± SD Pharmacokinetic Parameters:				
C_{max} (ng/mL)	--	--	664 ± 247	--
T_{max} (h)	--	--	8.7 ± 3.1	--
AUC_{inf} (ng•h/mL)	442 ± 46.7	2230 ± 103	--	2330 ± 258
AUC_t (ng•h/mL)	421 ± 48.0	2160 ± 70.9	17400 ± 6900	1860 ± 222
CL (mL/min/kg)	38.0 ± 3.79	37.4 ± 1.58	--	7.22 ± 0.853
V_{ss} (L/kg)	5.65 ± 0.736	7.07 ± 0.317	--	6.22 ± 0.789
$t_{½}$ (h)	2.22 ± 0.342	2.60 ± 0.186	20.7 ± 5.72	10.8 ± 0.289
F (%)[a]	--	--	36.9 ± 12.4	--

-- = Data not available or not applicable; AUC_{inf} = Area under concentration-time curve from time zero to infinity postdose; AUC_t = Area under concentration-time curve from time zero to 24 hours postdose for intravenous dose and 48 hours postdose for oral dose; CL = Systemic plasma clearance; C_{max} = maximum observed concentration; D5W = Dextrose 5% water; DMA = Dimethylacetamide; F = Bioavailability; h = hours; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; SD = Standard deviation; $t_{½}$ = Terminal half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}; V_{ss} = Apparent volume of distribution at steady state.

a. F (%) = ([AUC_{inf} (Oral) × Dose (IV)] / [AUC_{inf} (IV) × Dose (Oral)]) × 100.

2.6.5.3. PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE Test Article: Palbociclib

Report Number(s):	764-04200	
Species (Strain):	Monkey (Cynomolgus)	Monkey (Cynomolgus)
Gender (Male/Female)/Number of Animals:	Male/3	Male/3
Feeding Condition:	Fasted	Fasted
Vehicle/Formulation:	95%, 0.5% methylcellulose/ 5%, PEG 200	5% DMA/25% propylene glycol/70% D5W
Method of Administration:	Oral	Intravenous
Dose (mg/kg):	2.66	0.5
Sample	Plasma	Plasma
Analyte:	Palbociclib	Palbociclib
Assay:	HPLC/MS/MS	HPLC/MS/MS
Mean ± SD Pharmacokinetic Parameters:		
C_{max} (ng/mL)	86.2 ± 31.0	--
T_{max} (h)	2.67 ± 1.15	--
AUC_{inf} (ng•h/mL)	768 ± 150	624 ± 42.8
AUC_t (ng•h/mL)	729 ± 161	563 ± 54.2
CL (mL/min/kg)	--	13.4 ± 0.896
V_{ss} (L/kg)	--	5.05 ± 1.01
$t_{½}$ (h)	5.26 ± 0.892	4.69 ± 1.39
F (%)[a]	23.1 ± 3.6	--

-- = Data not available or not applicable; AUC_{inf} = Area under concentration-time curve from time zero to infinity postdose; AUC_t = Area under concentration-time curve from time zero to 24 hours postdose; CL = Systemic plasma clearance; C_{max} = maximum observed concentration; D5W = Dextrose 5% water; DMA = Dimethylacetamide; F = Bioavailability; h = hours; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; PEG = Polyethylene glycol; SD = Standard deviation; $t_{½}$ = Terminal half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}; V_{ss} = Apparent volume of distribution at steady state.
a. F (%) = ([AUC_{inf} (Oral) × Dose (IV)] / [AUC_{inf} (IV) × Dose (Oral)]) × 100.

2.6.5.4. PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES Test Article: Palbociclib

Repeat-dose pharmacokinetic studies were not conducted with palbociclib. Toxicokinetic results from repeat-dose toxicity studies are presented in 2.6.7 Toxicology Tabulated Summary.

2.6.5.5. PHARMACOKINETICS: ORGAN DISTRIBUTION

Test Article: Palbociclib
Report Number: DM20[redacted]-0332991-001

Species (Strain):	Rat (Long-Evans)
Gender/Number of Animals:	Male/8
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	Sterile water
Method of Administration:	Oral (gavage)
Dose:	20.3 mg/kg (306 µCi/kg)
Number of Doses:	1
Radionuclide:	[^{14}C]
Specific Activity:	15.1 µCi/mg
Sampling Time (h):	2.5, 5, 7.5, 10, 15, 24, 72, 168

Tissues/Organs	AUC_{last}[a] (µg eq•h/g)	$t_{½}$ (h)	C_{max} (µg eq/g)	T_{last} (h)	T_{max} (h)
Tissues/Organs					
Adipose:Brown	43	5.6	6	24	5
Adipose:White	8.1	6.4	1.4	15	5
Adrenal Gland	180	3.8	25	24	5
Bile	780	3.0	121	10	5
Blood: Hepatic	22	4.9	3	24	5
Blood: Myocardial	9.5	3.5	1.6	15	5
Blood: Vena Cava	8.9	4.0	1.4	15	5
Bone Marrow - Sternum	93	3.3	16	24	5
Bone Marrow - Vertebral	68	3.3	10	24	5
Buccal Gland	88	3.1	15	24	5
Cerebellum	0.18	ND[b]	0.14	5	5
Cerebrospinal Fluid	19	4.0	2.4	15	5

AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from zero to time of last quantifiable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; h = hours; ND = Not determined; T_{last} = Time of last quantifiable concentration; T_{max} = Time to reach C_{max}; $t_{½}$ = Terminal half-life (calculated as 0.693/Kel).

a. AUC_{last} values were calculated using linear trapezodial approximation.

b. ND because a definitive elimination phase was not discernible.

2.6.5.5. PHARMACOKINETICS: ORGAN DISTRIBUTION

Test Article: Palbociclib
Report Number: DM20[redacted]-0332991-001

Tissues/Organs	AUC_{last}[a] (µg eq•h/g)	$t_{½}$ (h)	C_{max} (µg eq/g)	T_{last} (h)	T_{max} (h)
Tissues/Organs					
Cerebrum	0.55	ND[b]	0.15	10	5
Choroid Plexus	32	5.2	3.0	24	5
Epididymis	36	3.1	4.9	24	10
Harderian Gland	640	21	28	168	5
Intervertebral Disc	7.8	4.2	1.1	15	5
Kidney	170	19	24	72	5
Lacrimal Gland: Exorbital	220	45	30	168	5
Lacrimal Gland: Intraorbital	300	37	32	168	5
Liver	300	53	32	168	5
Lung	220	3.3	43	24	5
Lymph Node	140	15	14	72	5
Medulla Oblongata	0.83	ND[b]	0.16	10	5
Meninges	960	132	11	168	15
Mesencephalon	0.57	ND[b]	0.16	10	5
Mucosa: Gastric	77	3.7	15	24	5
Mucosa: Intestinal	82	4.7	12	24	5
Muscle	19	2.4	3.5	15	5
Myocardium	38	2.6	6.1	15	5
Olfactory Bulb	0.25	ND[b]	0.2	10	10
Pancreas	83	3.9	14	24	5
Parotid Gland	72	2.4	14	15	5
Pineal Gland	62	2.9	11	10	5
Pituitary	140	3.9	20	15	5
Pons	0.5	ND[b]	0.17	5	5

AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from zero to time of last quantifiable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; h = hours; ND = Not determined; T_{last} = Time of last quantifiable concentration; T_{max} = Time to reach C_{max}; $t_{½}$ = Terminal half-life (calculated as 0.693/Kel).

a. AUC_{last} values were calculated using linear trapezodial approximation.

b. ND because a definitive elimination phase was not discernible.

2.6.5.5. PHARMACOKINETICS: ORGAN DISTRIBUTION

Test Article: Palbociclib
Report Number: DM20[redacted]-0332991-001

Tissues/Organs	AUC_{last}[a] (µg eq•h/g)	$t_{½}$ (h)	C_{max} (µg eq/g)	T_{last} (h)	T_{max} (h)
Tissues/Organs					
Preputial Gland	420	113	20	168	5
Prostate	140	3.9	17	24	7.5
Renal Cortex	150	20	20	72	5
Renal Medulla	200	16	26	72	5
Sublingual Salivary Gland	120	3.1	23	24	5
Submaxillary Salivary Gland	140	3.1	24	24	5
Seminal Vesicle	27	3.8	3.8	24	5
Skin: Flank	150	18	5.0	72	5
Spinal Cord	0.58	ND[b]	0.18	10	5
Spleen	220	18	33	72	5
Testis	43	30	1.3	72	10
Thymus	87	3.7	12	24	5
Thyroid	206	18	25	72	5
Uvea	6200	97	75	168	24
Vitreous Body	108	ND[b]	1.2	168	5
Whole Body	440	54	29	168	7.5

AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from zero to time of last quantifiable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; h = hours; ND = Not determined; T_{last} = Time of last quantifiable concentration; T_{max} = Time to reach C_{max}; $t_{½}$ = Terminal half-life (calculated as 0.693/Kel).

a. AUC_{last} values were calculated using linear trapezodial approximation.

b. ND because a definitive elimination phase was not discernible.

2.6.5.6.A PHARMACOKINETICS: PROTEIN BINDING

Test Article: Palbociclib
Report Numbers: 764-04174, PD-0332991_[redacted]_141526

Study System: In Vitro
Test system: Plasma
Method: Equilibrium dialysis assay

Species	Fraction Unbound (f_u: Mean)[a]				Mean f_u
	500 ng/mL (1.12 µM)	1000 ng/mL (2.24 µM)	2500 ng/mL (5.59 µM)	5000 ng/mL (11.2 µM)	
Mouse	0.148	0.188	0.134	0.167	0.159
Rat	0.122	0.122	0.127	0.127	0.125
Rabbit	0.0733[b]	--	--	--	0.0733
Dog	0.405	0.453	0.409	0.383	0.413
Human	0.137	0.152	0.138	0.161	0.147
Human Serum Albumin	0.735	0.619	0.475	0.657	0.622
α1-Acid Glycoprotein	0.626	0.583	0.652	0.724	0.646

Notes: The unbound fraction of drug (f_u) was calculated using the following equation: f_u = (Cu/Cpp), where Cu is the unbound palbociclib free base concentration after dialysis, and Cpp is the post-dialysis plasma concentration. Calculated molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
-- = Data not available or not applicable.
a. Data are mean from n = 3, except for rabbit which is a mean from n = 12.
b. 1 µM.

2.6.5.6.B PHARMACOKINETICS: PROTEIN BINDING

Test Article: PF-05089326

Report Number: PF-05089326_[redacted]_104347

Study System: In Vitro
Test system: Plasma
Method: Equilibrium dialysis assay

Species	Fraction Unbound (f_u: Mean ± SD)[a]			Mean f_u
	23 ng/mL (0.05 µM)	115 ng/mL (0.25 µM)	462 ng/mL (1 µM)	
Mouse	0.0350 ± 0.0015	0.0418 ± 0.0011	0.0398 ± 0.0014	0.0389
Rat	0.0439 ± 0.0056	0.0495 ± 0.0012	0.0514 ± 0.0019	0.0483
Dog	0.242 ± 0.0093	0.266 ± 0.0361	0.256 ± 0.0055	0.255
Human	0.0467 ± 0.0010	0.0530 ± 0.0008	0.0474 ± 0.0012	0.0490

Notes: PF-05089326 is the lactam metabolite of palbociclib. The unbound fraction of drug (f_u) was calculated using the following equation: f_u = (Cu/Cpp), where Cu is the unbound PF-05089326 free base concentration after dialysis, and Cpp is the post-dialysis plasma concentration. Calculated molecular weight of PF-05089326 = 461.5 g/mol.
SD = Standard deviation.
a. Data are mean from n = 3.

2.6.5.7. PHARMACOKINETICS: STUDY IN PREGNANT OR NURSING ANIMALS Test Article: Palbociclib

The potential for palbociclib or its metabolites to cross the placenta or transfer into the milk of pregnant animals has not been evaluated. Toxicokinetic results from embryo-fetal developmental studies are presented in 2.6.7 Toxicology Tabulated Summary.

2.6.5.8. PHARMACOKINETICS: OTHER DISTRIBUTION STUDIES

Test Article: Palbociclib
Report Number: 764-04302

Type of Study:	In Vitro Red Blood Cell Distribution
Study System:	Whole blood
Palbociclib Concentration:	5.6 µM (2500 ng/mL)
Duration of Incubation (h):	2
Method of Analysis:	HPLC/MS/MS
Analyte:	Palbociclib

Species	C_b[a] (µg/mL)	C_p[a] (µg/mL)	C_b/C_p	K_p
Mouse	2295 ± 337	2037 ± 30.6	1.13	1.36
Rat	2460 ± 159	2540 ± 10.0	0.97	0.94
Dog	2413 ± 11.5	2413 ± 30.6	1.00	1.00
Monkey	1466 ± 76.9	1423 ± 143	1.04	1.09
Human	2460 ± 100	1507 ± 47.3	1.63	2.44

Note: Calculated molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
C_b = Concentration in whole blood; C_p = Concentration in plasma; K_p = Partition coefficient; SD = Standard deviation.
a. Data are mean ± SD (n = 3).

2.6.5.9.A PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VIVO

Test Artic e: Palbociclib
Report Number: PD-0332991_[redacted]_135758

Species (Strain):	Rat (Sprague-Dawley)
Sex/Number of Animals:	Feces and Urine: Male/2, Female/2 Bile: Male/1, Female/1 Plasma: Male/4, Female/4
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle:	Reverse osmosis water
Method of Administration:	Oral
Dose:	50 mg/kg (100 µCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]Palbociclib
Specific Activity:	11.78 µCi/mg (isethionate)

Metabolite Label	m/z	Mean Percentage of Palbociclib and Metabolites (% of Radioactive Dose Administered)							
		Plasma (% of Total Radioactivity)		Urine (% of Dose)		Feces (% of Dose)		Bile (% of Dose)	
		0-24 h postdose		0-72 h postdose		0-72 h postdose		0-48 h postdose	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Palbociclib (Parent)	448	40.3	NQ	2.1	NQ	3.6	4.2	<3.8	ND
M11	528	0.4	ND	0.1	NQ	37.9	75.4	54.5	68.9
M12	490	9.0	NQ	ND	ND	3.3	1.5	3.6	ND
M14	450	9.6	NQ	ND	ND	0.8	ND	ND	ND
M16	437	1.4	ND	0.4	ND	1.4	0.5	2.6	ND
M17	462	1.8	ND	0.2	ND	1.2	0.2	ND	ND
M22	624	ND	ND	NQ	NQ	ND	ND	ND	ND
M23a/M23b	464	ND	ND	1.0	ND	ND	ND	ND	ND
M24	476	ND	ND	NQ	ND	NQ	ND	NQ	ND
M25	287	NQ	ND	0.05	ND	2.5	1.0	NQ	NQ
M26	476	1.3	ND	ND	ND	NQ	0.5	ND	ND

h = Hours; m/z = Mass-to-charge ratio; M = Metabolite; ND = Not detected by mass spectrometry; NQ = detected by mass spectrometry, not quantitated by radioactivity.

2.6.5.9.B PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VIVO

Test Article: Palbociclib
Report Number: PD-0332991 _[redacted]_ 204619

Species (Strain):	Dog (Beagle)
Gender (Male/Female)/Number of Animals:	Male/2, Female/2
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle:	Reverse osmosis water
Method of Administration:	Oral
Dose:	1.97 mg/kg (19.6 µCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]Palbociclib
Specific Activity:	11.78 µCi/mg (isethionate)

Metabolite Label	m/z	Mean Percentage of Palbociclib and Metabolites (% of Radioactive Dose Administered) in Combined Male and Female		
		Plasma (% of Total Radioactivity)	Urine (% of Dose)	Feces (% of Dose)
		0-24 h postdose	0-72 h postdose	0-72 h postdose
Palbociclib (Parent)	448	95	5.1	3.70
M16	437	trace	0.6	14.8
M22	624	ND	ND	ND
M23a	464	ND	0.6	2.62
M23b	464	ND	ND	1.95
M23c	464	ND	ND	2.67
M23d	464	ND	ND	3.13
M35	640	ND	0.8	ND
M37	480	ND	ND	2.46
Unknown (RT = 24.3 min)	--	ND	ND	<1
Unknown (RT = 27.8 min)	--	ND	ND	1.18
Unknown (RT = 42.5 min)	--	ND	ND	3.00
Unknown (RT = 51.0 min)	--	ND	ND	2.54
Unknown (RT = 52.3 min)	--	ND	ND	1.24

-- = Mass could not be identified; h = Hours; m/z = Mass-to-charge ratio; M = Metabolite; min = Minute; ND = Not detected; RT = Retention time.

2.6.5.9.C PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VIVO

Test Article: Palbociclib
Report Number: PD-0332991_[redacted]_113146

Species:	Human
Gender (Male/Female)/Number of Animals:	Male/6
Feeding Condition:	Fasting
Vehicle/Formulation:	0.5% Methylcellulose in water
Method of Administration:	Oral
Dose:	125 mg containing ~100 µCi
Radionuclide:	[^{14}C]Palbociclib
Specific Activity:	0.8 µCi/mg

Metabolite Label	m/z	Mean Percentage of Palbociclib and Metabolites (% of Radioactive Dose Administered)		
		Plasma (% of Total Radioactivity)	Urine (% of Dose)	Feces (% of Dose)
		0-120 h postdose	0-96 h postdose	0-144 h postdose
Palbociclib (Parent)	448	23.3	3.7	2.3
M11	528	1.3	ND	25.8
M12	490	1.0	ND	1.3
M16	437	2.6	0.5	14.2
M17	462	4.7	ND	1.0
M20	478	ND	ND	5.0
M22	624	14.8	1.5	ND
M23a/M23b	464	ND	3.5	ND
M24	476	4.4	ND	ND
M25	287	2.3	ND	ND
M26	476	1.5	ND	1.3
Unknown (RT = 30 - 30.50 min)	--	ND	0.3	ND
Unknown (RT = 44.0 - 44.5 min)	--	6.2	ND	ND
Unknown (RT = 45.25 - 46 min)	--	ND	0.8	ND

-- = Mass could not be identified; m/z = Mass-to-charge ratio; M = Metabolite; min = Minute; NC = Not calculated; ND = Not detected; RT = Retention time.

2.6.5.10.A PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO

Test Article: Palbociclib
Report Number: PD-0332991_[redacted]_150813, PD-332991_[redacted]_193503

Type of Study:	Identification of Palbociclib Metabolites In Vitro
Study System:	In Vitro: Hepatocytes
Palbociclib Concentration:	10 µM
Duration of Incubation (hour):	4 (mouse), 3 (rat, dog, human)
Method of Analysis:	LC/MS and LC/MS^n

Metabolite Label	m/z	Presence of Metabolites			
		Hepatocytes			
		Mouse	Rat	Dog	Human
Palbociclib (Parent)	448	Yes	Yes	Yes	Yes
M23e	464	Yes	Yes	No	No
M23a	464	Yes	Yes	No	Yes
M22	624	Yes	Yes	No	Yes
M32	422	Yes	Yes	Yes	Yes
M23c	464	Yes	Yes	No	Yes
M23d	464	Yes	Yes	No	No
M24	476	Yes	No	No	No
M40	420	Yes	No	No	No
M25	287	Yes	No	No	No
M28	446	Yes	No	No	Yes
M14	450	No	Yes	No	Yes
M16	437	Yes	No	No	No
M17	462	Yes	Yes	No	Yes
M23f	464	No	Yes	No	No
M11	528	Yes	Yes	No	Yes
M38	480	Yes	No	No	No
M12	490	Yes[a]	Yes	No	No
M37	480	Yes	No	No	No

m/z = Mass to charge ratio; LC/MS = Liquid chromatography/mass spectrometry; M = Metabolite.
a. Detected only by exact mass in MS1 spectrum

2.6.5.10.B PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO

Test Artic e: Palbociclib
Report Number: PD-0332991_[redacted]_095443

Type of Study:	Metabolism of palbociclib by individual human CYP enzymes
Study System:	Human hepatocytes
Palbociclib Concentration:	1 μM (447.5 ng/mL)
Duration of Incubation (hour):	0-20
Method of Analysis:	HPLC/MS/MS
Analyte:	Palbociclib

CYP Enzyme	Inhibitor	Inhibitor Concentration (μM)	CLint (mL/min/kg)
1A2	Furafylline	1	14.1
2B6	Clopidogrel	30	15.1
2C8	Gemfibrozil Glucuronide	100	15.1
2C9	Tienilic acid	10	12.1
2C19/2B6	Ticlopidine	10	18.2
2D6	Paroxetine	2	12.3
3A	Mibefradil	10	7.75
Pan-CYP	ABT	1000	3.34

Note: Calculated molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
CL_{int} = Intrinsic hepatic clearance of drug; CYP = Cytochrome P450; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry.

2.6.5.10.C PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO

Test Article: Palbociclib
Report Number: PD-0332991_[redacted]_170350

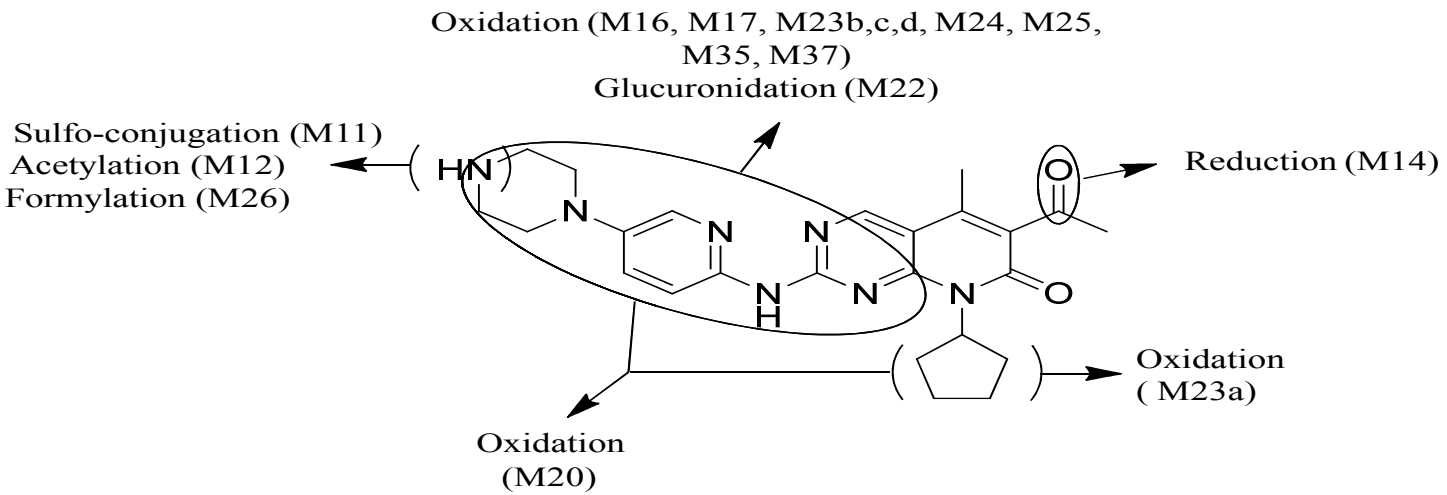
Type of Study:	Formation of PF-06754233 (sulfamic acid metabolite) of palbociclib by individual human recombinant SULT enzymes
Study System:	Human SULT enzymes
Palbociclib Concentration:	250 µM
Duration of Incubation (hour):	1
Method of Analysis:	HPLC/MS/MS
Analyte:	PF-06754233 (sulfamic acid metabolite)

SULT Enzyme	Mean Formation Rate of PF-06754233 (pmol/min/mg protein)
SULT1A1	11.4
SULT1A2	4.78
SULT1A3	0.201
SULT1E1	0.469
SULT2A1	546
SULT1B1	0.631
SULT1C2	0.298
SULT1C4	16.4
SULT2B1	0.0685

HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; SULT = Sulfotransferases.

2.6.5.11.A PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS ACROSS SPECIES

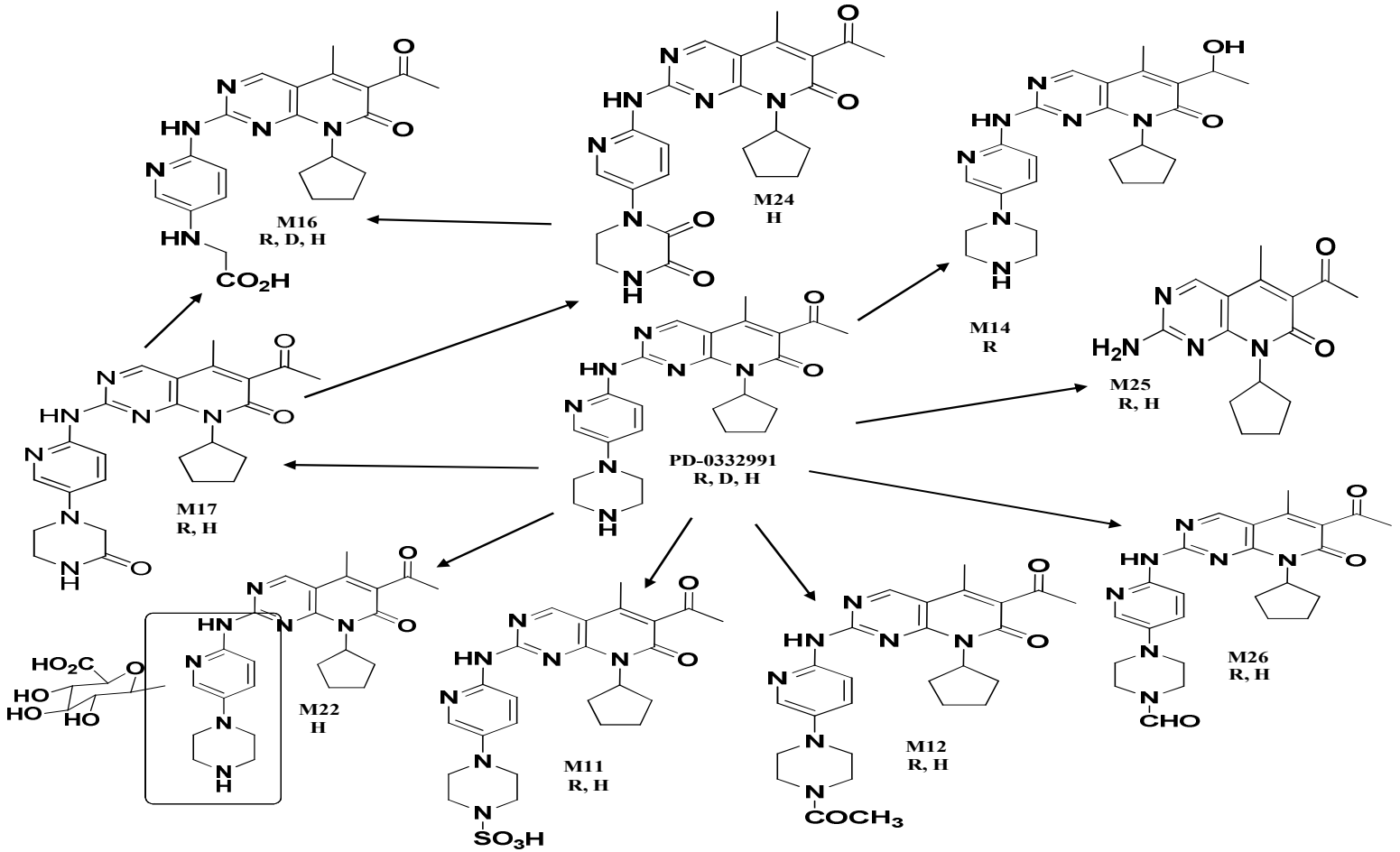
Test Artic e: Palbociclib
Report Number: PD-0332991_[redacted]_135758, PD-0332991_[redacted]_204619, PD-0332991_[redacted]_113146



M = Metabolite

2.6.5.11.B PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS (CIRCULATING METABOLITES)

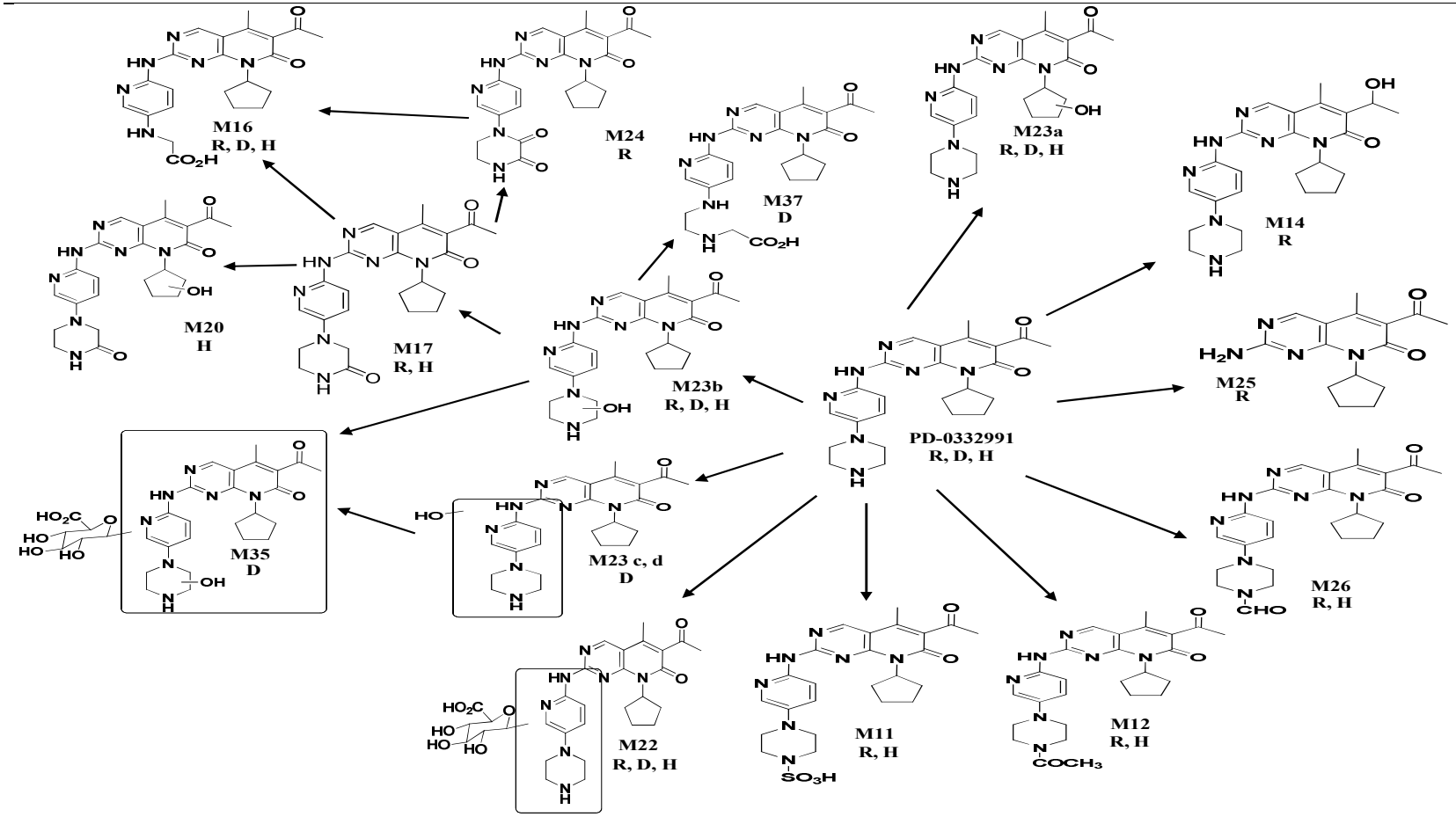
Test Artic e: Palbociclib
Report Number: PD-0332991_[redacted]_135758, PD-0332991_[redacted]_204619, PD-0332991_[redacted]_113146



D = Dog; H = Human; M = Metabolite; R = Rat.

2.6.5.11.C PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS (EXCRETORY METABOLITES)

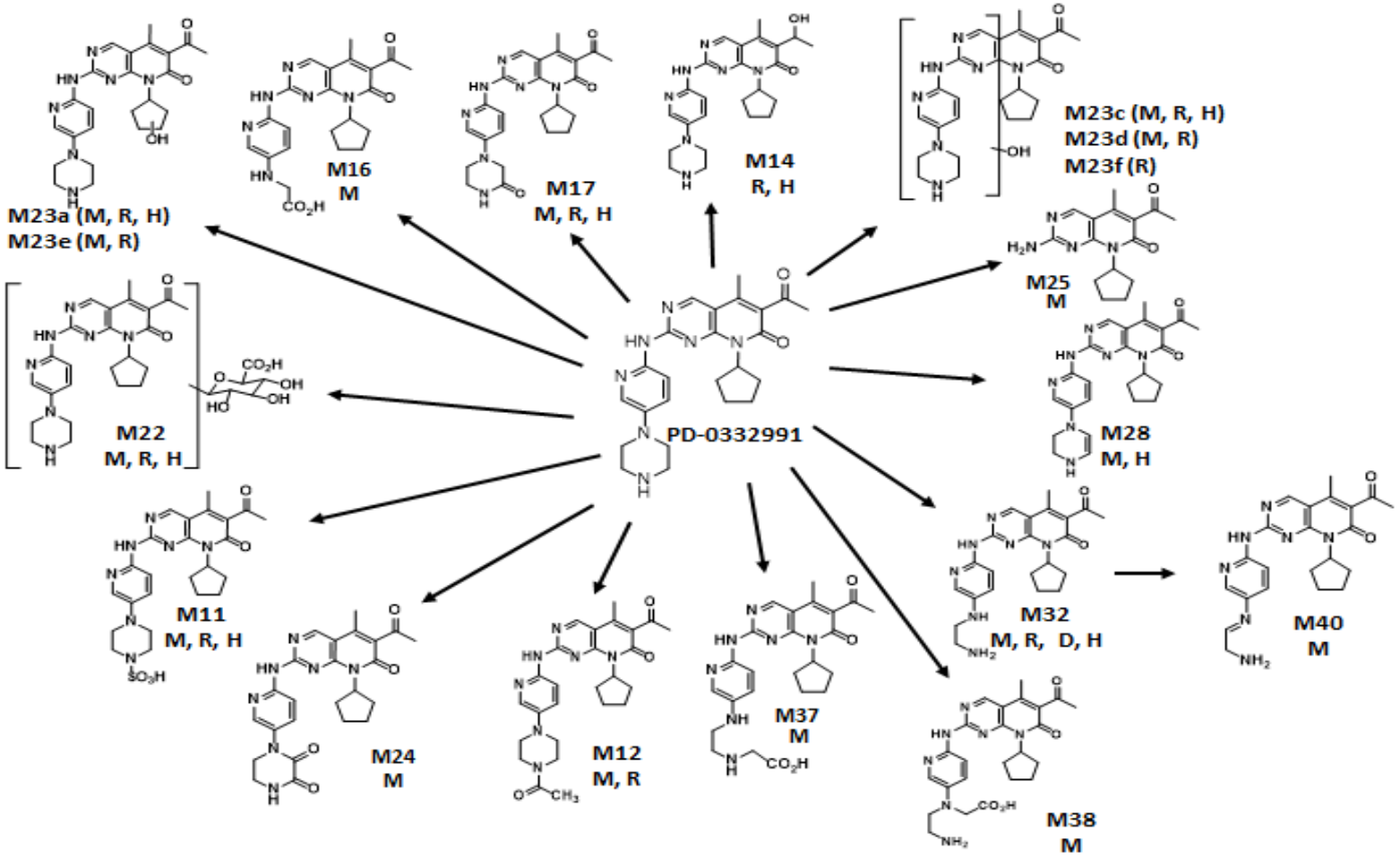
Test Artic e: Palbociclib
Report Number: PD-0332991_[redacted]_135758, PD-0332991_[redacted]_204619, PD-0332991_[redacted]_113146



D = Dog; H = Human; M = Metabolite; R = Rat.

2.6.5.11.D PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS (IN VITRO METABOLISM)

Test Article: Palbociclib
Report Number: PD-0332991_[redacted]_150813
PD-332991_[redacted]_193503



D = Dog hepatocytes; H = Human hepatocytes; M = Mouse hepatocytes, M = Metabolite; R = Rat hepatocytes.

2.6.5.12.A PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: Palbociclib
Report Number:
PD-0332991_[redacted]_181141

Type of Study:	Evaluation of the inhibition of human liver microsomal CYP enzymes by palbociclib.
Method:	In vitro incubation with HLM and individual substrates of CYP enzymes in the presence of NADPH
Analytical Method:	HPLC/MS/MS
Analyte (Substrate Metabolite):	Acetominophen (CYP1A2), 7-hydroxycoumarin (CYP2A6), hydroxybupropion (CYP2B6), *N*-desethylamodiaquine (CYP2C8), 4′-hydroxydiclofenac (CYP2C9), 4′-hydroxymephenytoin (CYP2C19), dextrorphan (CYP2D6), oxidized felodipine (CYP3A), 1′-hydroxymidazolam (CYP3A), 6β-hydroxytestosterone (CYP3A)
Concentrations of Palbociclib:	0.0952 - 30 μM (42.6 - 13425 ng/mL)
Concentrations of CYP Substrates:	1.24 - 94.5 μM

CYP Enzyme	Substrate Activity	% of Control Activity at [I] = 30 μM	IC_{50} (μM) (Mean)
1A2	Phenacetin *O*-deethylase	120	>30
2A6	Coumarin 7-hydroxylase	99	>30
2B6	Bupropion hydroxylase	100	>30
2C8	Amodiaquine *N*-deethylase	93	>30
2C9	Diclofenac 4′-hydroxylase	75	>30
2C19	S-Mephenytoin 4′-hydroxylase	87	>30
2D6	Dextromethorphan *O*-demethylase	90	>30
3A	Felodipine oxidase	70	>30
3A	Midazolam 1′-hydroxylase	87	>30
3A	Testosterone 6β-hydroxylase	72	>30

Note: Calculated molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
CYP = Cytochrome P450; HLM = Human liver microsomes; [I] = Inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitive concentration; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; NADPH = Reduced form of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate.

2.6.5.12.B PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: Palbociclib
Report Number:
PD-0332991_[redacted]_181141

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Based on Reversible Inhibition Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of CYP Enzymes, Based on the Draft FDA Guidance (2012).[a]

Model	CYP	Ki[b] (μM)	[I] (μM)	1+ [I]/Ki	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic (R_1)	CYP1A2	>15	0.41	1.03	1+ [I]/Ki >1.1
	CYP2A6	>15	0.41	1.03	1+ [I]/Ki >1.1
	CYP2B6	>15	0.41	1.03	1+ [I]/Ki >1.1
	CYP2C8	>15	0.41	1.03	1+ [I]/Ki >1.1
	CYP2C9	>15	0.41	1.03	1+ [I]/Ki >1.1
	CYP2C19	>15	0.41	1.03	1+ [I]/Ki >1.1
	CYP2D6	>15	0.41	1.03	1+ [I]/Ki >1.1
	CYP3A Felodipine	>15	0.41	1.03	1+ [I]/Ki >1.1
	CYP3A Midazolam	>15	0.41	1.03	1+ [I]/Ki >1.1
	CYP3A Testosterone	>15	0.41	1.03	1+ [I]/Ki >1.1

C_{max} = Maximum observed concentration; CYP = Cytochrome P450 enzymes; DDI = Drug-drug interaction; [I] = Mean steady-state total (free and bound) C_{max} after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010, 0.41 μM); IC_{50} = 50% inhibitive concentration; K_i = Inhibition constant; R_1 = Reversible inhibition;

a. Draft guidance for industry: drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. In: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Feb 2012: 75 pages.

b. Assume $K_i = IC_{50}/2$

2.6.5.12.C PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: Palbociclib
Report Number:
PD-0332991_[redacted]_181141

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Based on Reversible Inhibition Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of CYP Enzymes, Based on the EMA Guideline (2012).[a]

Model	CYP	Ki[b] (μM)	$[I]_u$ (μM)	$[I]_u$/Ki	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic (R_I)	CYP1A2	>15	0.060	0.004	$[I]_u$/Ki ≥0.02
	CYP2A6	>15	0.060	0.004	$[I]_u$/Ki ≥0.02
	CYP2B6	>15	0.060	0.004	$[I]_u$/Ki ≥0.02
	CYP2C8	>15	0.060	0.004	$[I]_u$/Ki ≥0.02
	CYP2C9	>15	0.060	0.004	$[I]_u$/Ki ≥0.02
	CYP2C19	>15	0.060	0.004	$[I]_u$/Ki ≥0.02
	CYP2D6	>15	0.060	0.004	$[I]_u$/Ki ≥0.02
	CYP3A Felodipine	>15	0.060	0.004	$[I]_u$/Ki ≥0.02
	CYP3A Midazolam	>15	0.060	0.004	$[I]_u$/Ki ≥0.02
	CYP3A Testosterone	>15	0.060	0.004	$[I]_u$/Ki ≥0.02

Note: Calculated molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
C_{max} = Maximum observed concentration; CYP = Cytochrome P450 enzymes; DDI = Drug-drug interaction; $[I]_u$ = Mean steady-state (unbound) maximum observed concentration after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010, 0.060 μM = 0.41 μM total C_{max} × 0.147 f_u); Ki = Inhibition constant; R_I = Reversible inhibition.
a. Guideline on the investigation of drug interactions. In: European Medicines Agency. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr. 21 June 2012: 59 pages.
b. Assume Ki = IC_{50}/2

2.6.5.12.D PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: Palbociclib
Report Number:
PD-0332991_[redacted]_181141

Type of Study:	Evaluation of time-dependent inhibition of CYP3A[a]
Method:	In vitro incubation with HLM and individual substrates of CYP3A in the presence of NADPH
Analytical Method:	HPLC/MS/MS
Concentration of Palbociclib:	≤50 μM
Concentrations of CYP Substrates:	2.3 μM Midazolam; 88.2 μM Testosterone

Probe Substrate	k_{inact} ± SE (min^{-1})	K_I ± SE (μM)	k_{inact} / K_I (mL/min/μmol/)
Midazolam	0.036 ± 0.002	10 ± 2	3.6
Testosterone	0.087 ± 0.007	19 ± 4	4.6

CYP = Cytochrome P450; HLM = Human liver microsomes; K_I = Apparent inactivation constant at half-maximal rate of inactivation; k_{inact} = Maximal rate of enzyme inactivation; k_{inact}/K_I = Measure of inactivator efficiency; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; NADPH = Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; SE = Standard error.

a. An assessment of risk for in vivo DDI between palbociclib and co-administered substrates of CYP3A, based on the 2012 FDA and EMA guidances, are provided in Tabulated Summary 2.6.5.12.E.

2.6.5.12.E PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: Palbociclib
Report Number:
PD-0332991_[redacted]_181141

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of CYP3A, Based on the Draft FDA Guidance (2012)[a] and EMA Guideline (2012)[b]

Model	Probe Substrate	$[I]_1$ (μM)	$[I]_2$ (μM)	k_{inact} (min^{-1})	K_I (μM)	K_{obs} ($k_{inact} \times [I]$) / ($K_I + [I]$)	R ($K_{obs} + K_{deg}$) / K_{deg}	AUCR[c]	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic (TDI)									
	Midazolam	0.41	--	0.036	10	0.0014	3.8	--	R >1.1
	Testosterone	0.41	--	0.087	19	0.0018	4.6	--	R >1.1
	Midazolam	--	1117	0.036	10	0.035	70.5	--	R >11
	Testosterone	--	1117	0.087	19	0.08	164	--	R >11
Mechanistic Static									
	Midazolam	--	--	0.036	10	--	--	3.1	AUCR >1.25

-- = Data not available or not applicable; AUC = Area under concentration-time curve; AUCR = Ratio for AUC of object drug in the presence or absence of the interacting drug (AUCi/AUC); C_{max} = Maximum observed concentration; CYP = Cytochrome P450; DDI = Drug-drug interaction; $[I]_1$ = Mean steady-state total (free and bound) C_{max} after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010, 0.41 μM); $[I]_2$ =Theoretical maximum gastrointestinal drug concentration, which is calculated as the highest clinical dose (125 mg), on a molar basis, in a volume of 250 mL; K_{deg} = Apparent first order degradation rate constant of the CYP3A (0.03 h^{-1} or 0.0005 min^{-1}; Wang YH. Confidence assessment of the simcyp time-based approach and a static mathematical model in predicting clinical drug-drug interactions for mechanism-based CYP3A inhibitors. Drug Metab Dispos. 2010;38(7):1094-104); K_I = Apparent inactivation constant at half-maximal rate of inactivation; k_{inact} = Maximal rate of enzyme inactivation; TDI = Time-dependent inhibition.

a. Draft guidance for industry: drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. In: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Feb 2012: 75 pages.

b. Guideline on the investigation of drug interactions. In: European Medicines Agency. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr. 21 June 2012: 60 pages.

c. The following parameters were also used in the calculation of AUCR: fm (midazolam) = 0.9 (Han B, Mao J, Chien JY, et al. Optimization of drug-drug interaction study design: comparison of minimal physiologically based pharmacokinetic models on prediction of CYP3A inhibition by ketoconazole. Drug Metab Dispos. 2013;41:1329-38); fg (midazolam) = ~0.6 (Mao J, Johnson TR, Shen Z, et al. Prediction of crizotinib-midazolam interaction using the Simcyp population-based simulator: comparison of CYP3A time-dependent inhibition between human liver microsomes versus hepatocytes. Drug Metab Dispos. 2013;41(2):343-52; Gertz M, Davis JD, Harrison A, et al. Grapefruit juice-drug interaction studies as a method to assess the extent of intestinal availability: utility and limitations. Curr Drug Metab. 2008;9(8):785-95); Ka = 0.0061 (min^{-1}) [Module 2.7.2, Summary of Clinical Pharmacology]; $f_{u,b}$ = 0.09 (based on f_u of 0.147 and blood-to-plasma ratio of 1.63); $I_{max,b}$ = 0.67 μM (based on $[I]_1$ and blood-to-plasma ratio of 1.63).

2.6.5.12.F PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: PF-05089326
Report Number:
PD-332991/[redacted]/130322

Type of Study:	Evaluation of the inhibition of human liver microsomal CYP enzymes by PF-05089326.
Method:	In vitro incubation with HLM and individual substrates of CYP enzymes in the presence of NADPH
Analytical Method:	HPLC/MS/MS
Analyte (Substrate Metabolite):	Acetaminophen (CYP1A2), hydroxybupropion (CYP2B6), 6α-hydroxypaclitaxel (CYP2C8), 4′-hydroxydiclofenac (CYP2C9), 4′-hydroxymephenytoin (CYP2C19), dextrorphan (CYP2D6), oxidized felodipine (CYP3A), 1′-hydroxymidazolam (CYP3A), 6β-hydroxytestosterone (CYP3A)
Concentrations of PF-05089326:	0.08 - 25 μM (37 - 11538 ng/mL)
Concentrations of CYP Substrates:	1.24 - 94.5 μM

CYP Enzyme	Substrate Activity	% of Control Activity at [I] = 30 μM	IC_{50} (μM) (Mean ± SE)
1A2	Phenacetin *O*-deethylase	76	>25
2B6	Bupropion hydroxylase	64	>25
2C8	Paclitaxel 6α-hydroxylase	58	>25
2C9	Diclofenac 4′-hydroxylase	58	>25
2C19	S-Mephenytoin 4′-hydroxylase	91	>25
2D6	Dextromethorphan *O*-demethylase	60	>25
3A	Felodipine oxidase	42	16 ± 3
3A	Midazolam 1′-hydroxylase	104	>25
3A	Testosterone 6β-hydroxylase	56	>25

Notes: PF-05089326 is the lactam metabolite of palbociclib. Calculated molecular weight of PF-05089326 = 461.5 g/mol.
CYP = Cytochrome P450; HLM = Human liver microsomes; [I] = Inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitive concentration; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; NADPH = Reduced form of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate; SE = Standard error.

2.6.5.12.G PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: PF-05089326
Report Number:
PD-332991/[redacted]/130322

Type of Study:	Evaluation of time-dependent inhibition of CYP3A
Method:	In vitro incubation with HLM and individual substrates of CYP3A in the presence of NADPH
Analytical Method:	HPLC/MS/MS
Concentration of PF-05089326:	≤50 µM
Concentrations of CYP Substrates:	2.3 µM Midazolam; 88.2 µM Testosterone

Probe Substrate	k_{inact} ± SE (min^{-1})	K_I ± SE (µM)	k_{inact} / K_I (mL/min/µmol)
Midazolam	0.094 ± 0.004	7.0 ± 1.2	13
Testosterone	0.15 ± 0.01	6.4 ± 1.9	23

Note: PF-05089326 is the lactam metabolite of palbociclib.
CYP = Cytochrome P450; HLM = Human liver microsomes; K_I = Apparent inactivation constant at half-maximal rate of inactivation; k_{inact} = Maximal rate of enzyme inactivation; k_{inact}/K_I = Measure of inactivator efficiency; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; NADPH = Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; SE = Standard error.

2.6.5.12.H PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: Palbociclib
Report Number: XT[redacted]3065 ([redacted]_02492)

Type of Study: Evaluation of the induction of CYP1A2, 2B6, 2C8, and 3A4 by palbociclib.
Method: In vitro incubation with cryopreserved human hepatocytes
Analytical Methods: HPLC/MS/MS; Gene expression assays
Concentrations of Palbociclib: 0.3 to 30 μM[b]
Concentrations of CYP Substrates: 100 μM phenacetin, 500 μM bupropion, 20 μM amodiaquine, 30 μM midazolam
Concentrations of Positive Controls: 30 μM omeprazole, 750 μM phenobarbital, 10 μM rifampin

Human Hepatocyte Lot	CYP1A2 mRNA		CYP2B6 mRNA		CYP2C8 mRNA		CYP3A4 mRNA	
	Fold-Induction[a]	% Relative to Omeprazole	Fold-Induction[a]	% Relative to Phenobarbital	Fold-Induction[a]	% Relative to Rifampin	Fold-Induction[a]	% Relative to Rifampin
JNB	ND	ND	1.23	2	1.22	5	0.432	<1
VRS	ND	ND	0.92	<1	1.25	5	0.920	<1
Hu1338	ND	ND	1.68	4	1.40	22	1.45	2
Human Hepatocyte Lot	**CYP1A2 Enzyme Activity**		**CYP2B6 Enzyme Activity**		**CYP2C8 Enzyme Activity**		**CYP3A4 Enzyme Activity**	
	Fold-Induction[a]	% Relative to Omeprazole	Fold-Induction[a]	% Relative to Phenobarbital	Fold-Induction[a]	% Relative to Rifampin	Fold-Induction[a]	% Relative to Rifampin
JNB	0.801	<1	0.770	<1	0.945	<1	0.263	<1
VRS	0.805	<1	0.476	<1	0.378	<1	0.493	<1
Hu1338	0.593	<1	0.719	<1	0.362	<1	0.270	<1

$C_{max,u}$ = Mean steady-state (unbound) maximum observed concentration after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010, 0.060 μM = 0.41 μM total C_{max} × 0.147 f_u); CYP = Cytochrome P450; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; ND = Not determined.

a. Fold-induction at highest concentration of palbociclib (3 μM) where cells were still fully viable.

b. Highest non-cytotoxic concentration (3 μM) was 50 times $C_{max,u}$.

2.6.5.12.I PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: Palbociclib
Report Number:
PF-00080665_[redacted]_165849

Type of Study: Inhibition of UGT1A1, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, and UGT2B7 by palbociclib
Method: In vitro incubation with HLM and individual substrates of UGT enzymes in the absence or presence of 2% BSA
Analytical Method: HPLC/MS/MS
Analyte (Substrate Metabolite): β-Estradiol-3-glucuronide (UGT1A1), trifluorperazine-*N*-glucuronide (UGT1A4), 5-hydroxytryptophol-*O*-glucuronide (UGT1A6), propofol-*O*-glucuronide (UGT1A9), zidovudine-5′-glucuronide (UGT2B7)
Concentration of Palbociclib: 1 to 100 μM (448 to 44750 ng/mL)

UGT Enzyme	Substrate Activity	Without 2% BSA		With 2% BSA		
		% of Control at [I] = 100 μM	Total Mean IC_{50} (μM)	% of Control at [I] = 100 μM	Total Mean IC_{50} (μM)	Free Mean IC_{50}[a] (μM)
1A1	β-Estradiol-3-Glucuronidase	27	65[b]	65	>100	NC
1A4	Trifluorperazine-*N*-Glucuronidase	65	>100	49	86	58[b]
1A6	5-Hydroxytryptophol-*O*-Glucuronidase	92	>100	102	>100	NC
1A9	Propofol-*O*-Glucuronidase	43	72	17	20	13[b]
2B7	Zidovudine-5'-Glucuronidase	42	71	37	55	37[b]

Note: Calculated molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
BSA = Bovine serum albumin; DDI = Drug-drug interaction; f_u = Unbound fraction; HLM = Human liver microsomes; [I] = Inhibitor concentration; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; HPLC/MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; NC = Not calculated; UGT = Uridine diphosphate glucuronosyltransferase.
a. Palbociclib f_u in 2% BSA incubation is 0.67.
b. An assessment of risk for in vivo DDI between palbociclib and co-administered substrates of these UGT enzymes (UGT1A1, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B7), based on the 2012 FDA and EMA guidances, are provided in Tabulated Summaries 2.6.5.12.J and 2.6.5.12.K, respectively.

2.6.5.12.J PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: Palbociclib
Report Number:
PF-00080665_[redacted]_165849

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of UGT enzymes, based on the draft FDA guidance (2012).[a]

Model	UGT	K_i[b] (μM)	[I] (μM)	1+ [I]/K_i	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic (R_1)					
	1A1	32.5	0.41	1.01	1+ [I]/K_i >1.1
	1A4	>50	0.41	<1.01	1+ [I]/K_i >1.1
	1A6	>50	0.41	<1.01	1+ [I]/K_i >1.1
	1A9	36	0.41	1.01	1+ [I]/K_i >1.1
	2B7	35.5	0.41	1.01	1+ [I]/K_i >1.1

C_{max} = Maximum observed concentration; DDI = Drug-drug interaction; [I] = Mean steady-state total (free and bound) C_{max} after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010, 0.41 μM); K_i = Inhibition constant; R_1 = Reversible inhibition; UGT = Uridine diphosphate glucuronosyltransferase.
a. Draft guidance for industry: drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. In: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Feb 2012: 75 pages.
b. Assume $K_i = IC_{50}/2$ (IC_{50} values for UGT1A1, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, and UGT2B7 are 65, >100, >100, 72, and 71 μM, respectively, without 2% BSA).

2.6.5.12.K PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF DRUG-METABOLIZING ENZYMES

Test Article: Palbociclib
Report Number:
PF-00080665_[redacted]_165849

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of UGT enzymes, based on the EMA guideline (2012).[a]

Model	UGT	Ki[b] (μM)	$[I]_u$ (μM)	$[I]_u/Ki$	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic (R_I)					
	1A1	NC	0.060	NC	$[I]_u/Ki \geq 0.02$
	1A4	29	0.060	0.002	$[I]_u/Ki \geq 0.02$
	1A6	NC	0.060	NC	$[I]_u/Ki \geq 0.02$
	1A9	6.5	0.060	0.009	$[I]_u/Ki \geq 0.02$
	2B7	18.5	0.060	0.003	$[I]_u/Ki \geq 0.02$

Note: Calculated molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
C_{max} = Maximum observed concentration; DDI = Drug-drug interaction; $[I]_u$ = Mean steady-state (unbound) maximum observed concentration after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010, 0.060 μM = 0.41 μM total C_{max} × 0.147 f_u); Ki = Inhibition constant; NC = Not calculated as the total IC_{50} was >100 μM with 2% BSA; R_I = Reversible inhibition; UGT = Uridine diphosphate glucuronosyltransferase.
a. Guideline on the investigation of drug interactions. In: European Medicines Agency. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr. 21 June 2012: 59 pages.
b. Assume Ki = Unbound IC_{50}/2 (Unbound IC_{50} values for UGT1A4, UGT1A9, and UGT2B7 are 58, 13, and 37 μM, respectively, with 2% BSA).

2.6.5.13.A PHARMACOKINETICS: EXCRETION

Test Article: Palbociclib
Report Number: 8273768

Species (Strain):	Rat (Sprague-Dawley)
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/2, F/2
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	Reverse Osmosis Water
Method of Administration:	Oral, Single Dose
Dose:	50 mg/kg (~100 µCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]
Specific Activity:	11.78 µCi/mg
Assay:	LSC

	Percent (%) of [^{14}C]Palbociclib Dose (Mean)											
	Male						Female					
Excretion Route:	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**	**Carcass**	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**	**Carcass**
Time (hours)												
0-8	1.73	NS	NS	NS	NS	NS	0.268	NS	NS	NS	NS	NS
0-24	5.28	44.0	0.269	NS	NS	NS	0.603	89.9	0.0328	NS	NS	NS
0-48	6.97	78.7	0.352	NS	NS	NS	0.619	93.5	0.0357	NS	NS	NS
0-72	7.11	82.8	0.374	NS	NS	NS	0.621	93.5	0.0371	NS	NS	NS
0-96	7.15	83.5	0.390	NS	NS	NS	0.621	93.6	0.0371	NS	NS	NS
0-120	7.18	83.7	0.399	NS	NS	NS	0.621	93.6	0.0371	NS	NS	NS
0-144	7.20	83.8	0.407	NS	NS	NS	0.621	93.6	0.0371	NS	NS	NS
0-168	7.21	84.0	NS	0.0664	0.0970	0.858	0.621	93.6	NS	0.00	0.00	0.00
Total:	**92.6**						**94.3**					

F = Female; LSC = Liquid scintillation counting; M = Male; NS = No sample.

2.6.5.13.B PHARMACOKINETICS: EXCRETION

Test Article: Palbociclib
Report Number: 8276000

Species (Strain): Dog (Beagle)
Gender (M/F)/Number of Animals: M/2, F/2
Feeding Condition: Fasted
Vehicle/Formulation: Reverse Osmosis Water
Method of Administration: Oral, Single Dose
Dose: 1.97 mg/kg (19.6 µCi/kg)
Radionuclide: [^{14}C]
Specific Activity: 11.78 µCi/mg
Assay: LSC

	Percent (%) of [^{14}C]Palbociclib Dose (Mean)											
	Male						Female					
Excretion Route:	**Urine**	**Feces**	**Cage Debris**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**	**Urine**	**Feces**	**Cage Debris**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**
Time (hours)												
0-8	1.28	NS	NS	NS	NS	NS	2.02	NS	NS	NS	NS	NS
0-24	5.27	24.3	NS	2.01	NS	NS	6.64	40.7	NS	1.08	NS	NS
0-48	7.37	58.3	NS	2.99	NS	NS	8.54	65.0	NS	1.42	NS	NS
0-72	8.42	68.9	NS	3.38	NS	NS	9.32	74.2	NS	1.56	NS	NS
0-96	8.75	72.0	NS	3.57	NS	NS	9.58	76.5	NS	1.65	NS	NS
0-120	8.93	73.7	NS	3.76	NS	NS	9.73	77.9	NS	1.72	NS	NS
0-144	9.02	74.4	NS	3.85	NS	NS	9.81	78.5	NS	1.77	NS	NS
0-168	9.08	74.8	NS	3.89	NS	NS	9.86	78.9	NS	1.79	NS	NS
0-192	9.13	75.1	0.186	NS	0.0802	0.257	9.91	79.1	0.131	NS	0.0365	0.119
Total:	**88.7**						**91.1**					

F = Female; LSC = Liquid scintillation counting; M = Male; NS = No sample.

2.6.5.13.C PHARMACOKINETICS: EXCRETION

Test Article: Palbociclib
Report Number: A5481011

Species:	Human
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/6
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	0.5% Methylcellulose
Method of Administration:	Oral, Single Dose
Dose:	125 mg (100 µCi)
Radionuclide:	[^{14}C]
Specific Activity:	0.800 µCi/mg
Assay:	LSC

	Percent (%) of [^{14}C]Palbociclib Dose (Median)[a]	
Excretion Route:	**Urine**	**Feces**
Time (hours)		
0-24	9.52	0.09
0-48	13.5	42.5
0-72	15.3	57.2
0-96	16.2	63.5
0-120	16.7	68.4
0-144	17.0	69.9
0-168	17.2	71.5
0-192	17.3	72.8
0-216	17.4	73.8
0-240	18.2	72.6
0-264	18.2	70.8
0-288	18.7	71.6
0-312	18.7	71.7
0-336	18.8	72.0
0-360	18.8	NS
Total:	**17.5[b]**	**74.1[b]**

F = Female; LSC = Liquid scintillation counting; M = Male; NS = No sample.

a. Median calculated using cumulative results obtained from subjects for which a sample was received up to each collection timepoint.
b. Median calculated using cumulative results from all subjects.

2.6.5.14.A PHARMACOKINETICS: EXCRETION INTO BILE

Test Article: Palbociclib
Report Number: 8273768

Species/Strain:	Rat (Sprague-Dawley)
Gender (M/F)/Number of Animals:	M/1, F/1 (Bile-duct cannulated)
Feeding Condition:	Fasted
Vehicle/Formulation:	Reverse Osmosis Water
Method of Administration:	Oral, Single Dose of [^{14}C]Palbociclib
Dose:	50 mg/kg (~100 µCi/kg)
Radionuclide:	[^{14}C]
Specific Activity:	11.78 µCi/mg
Method of Analysis:	LSC

	Percent (%) of [^{14}C]Palbociclib Dose (Mean)									
Collection Time (h)	**----------Male----------**					**----------Female----------**				
	Urine	**Feces**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**
0-8	1.80	NS	NS	NS	NS	0.889	NS	NS	NS	NS
8-24	3.15[a]	10.5[b]	0.475[b]	NS	NS	0.772	9.58[b]	NS	NS	NS
24-48	2.08	20.2	NS	0.398[c]	0.340[c]	0.0567	5.24	0.137[c]	0.0387	0.0369
Subtotal:	7.03	30.6	0.475	0.398	0.340	1.72	14.8	0.137	0.0387	0.0369
Collection Time (h)	**----------Male----------**					**----------Female----------**				
	Bile		**Bile Cannula**	**Jacket Rinse**	**Carcass**	**Bile**		**Bile Cannula**	**Jacket Rinse**	**Carcass**
0-8	13.1		NS	NS	NS	49.0		NS	NS	NS
8-24	21.1		NS	NS	NS	30.9		NS	NS	NS
24-48	15.9		0.00641[c]	BLQ	6.11[c]	1.36		BLQ	BLQ	0.533[c]
Subtotal:	50.1		0.00641	0.00	6.11	81.3		0.00	0.00	0.533
Total:	**95.1**					**98.6**				

BLQ = Below the limit of quantification; F = Female; LSC = Liquid scintillation counting; M = Male; NS = No sample.
a. Urine was found to be frozen on the outside of the container, it was collected on gauze and placed in the cage wipe container.
b. 0-24 hours.
c. 0-48 hours.

2.6.5.15.A PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS — Test Article: Palbociclib

Summary Results: Palbociclib as a Substrate of Transporters In Vitro

Transporter	Report Numbers	Test System	B-A/A-B Ratio[a]	Substrate (Yes/No)
P-gp	PD-332991/[redacted]/142925	MDCK-MDR1	2.7	Yes
BCRP	PD-332991/[redacted]/142925	MDCK-BCRP	6.4	Yes
OATP 1B1	PF-00080665 (PD-0332991)_[redacted]_111932	SCHH	--	ND[b]
OATP 1B3	PF-00080665 (PD-0332991)_[redacted]_111932	SCHH	--	ND[b]
OATP1B1	PD-332991_[redacted]_042704	HEK293-OATP1B1	Uptake Ratio = < 2[a]	No
OATP1B3	PD-332991_[redacted]_042704	HEK293-OATP1B3	Uptake Ratio = < 2[a]	No

-- = Data not available or not applicable; A-B = Apical to basolateral permeability; B-A = Basolateral to apical permeability; BCRP = Breast cancer resistance protein; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; MDCK = Madin-Darby canine kidney cells; MDCK-BCRP = Madin Darby Canine Kidney cells transfected with the gene for BCRP; MDCK-MDR1 = Madin Darby Canine Kidney cells transfected with the gene for multidrug resistance protein 1 (also known as P-gp); ND = Not determined; P-gp = P-glycoprotein; SCHH = Sandwich cultured human hepatocytes.

a. Uptake ratios (uptake in HEK293-OATP1B1 or HEK293-OATP1B3 compared to the uptake in HEK293 wild-type cells) of >2 are considered a substrate

b. Transporter-mediated uptake of palbociclib was observed at approximately 15% of the total uptake into SCHH. Thus, OATP1B1 and OATP1B3 are unlikely to play a major role in the hepatic uptake of palbociclib.

2.6.5.15.B PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS — Test Article: Palbociclib

Summary Results: Palbociclib as an Inhibitor of Transporters In Vitro

Transporter	Report Numbers	Test System	Probe Substrate	IC_{50} (µM)	% of Control Activity at Highest Concentration Tested[a]	Inhibitor (Yes/ No)
P-gp	PF-00080665_[redacted]_163603	MDCKII-MDR1	Digoxin	>32	--	Yes[b]
BCRP	XT[redacted]8431 ([redacted]_03730)	MDCKII-BCRP	[^{3}H]Prazosin	>31.6	--	Yes[b]
OAT1	PD-0332991_[redacted]_161616	HEK293 cells	[^{3}H]PAH	>100	84.3	No
OAT3	PD-0332991_[redacted]_161616	HEK293 cells	[^{3}H]E3S	>100	60.8	No
OCT2	PD-0332991_[redacted]_161616	HEK293 cells	[^{14}C]Metformin	3.94	6.1	Yes[b]
BSEP	XT[redacted]8428 ([redacted]_03731)	Membrane Vesicles (Sf9)	[^{3}H]Taurocholate	NA	122	No
OCT1	PD-332991_[redacted]_043304	HEK293 cells	[^{14}C]Metformin	0.72	7.85	Yes[b]
OATP1B1	XT[redacted]8430 ([redacted]_03729)	HEK293 cells	Pravastatin	NA	96	No
OATP1B3	XT[redacted]8430 ([redacted]_03729)	HEK293 cells	Pravastatin	NA	96	No

-- = Data not available or not applicable; BCRP = Breast cancer resistance protein; BSEP = Bile salt export pump; CHO = Chinese Hamster Ovary; DDI = Drug-drug interactions; E3S = Estrone-3-sulfate; HEK293 = Human embryonic kidney 293 cells; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; MDCKII-BCRP = Madin-Darby canine kidney II cells transfected with the gene for BCRP; MDCKII-MDR1 = Madin-Darby canine kidney II cells transfected with the gene for multidrug resistance protein 1 (also known as P-gp); NA = Not applicable; PAH = p-aminohippuric acid; P-gp = P-glycoprotein (also known as MDR1); Sf9 = *Spodoptera frugiperda* ovarian insect cells.

a. BSEP, OATP1B1, OATP1B3 = 31.6 µM.; OAT1, OAT3, OCT2, OCT1 = 100 µM.

b. An assessment of risk for in vivo DDI between palbociclib and co-administered substrates of these transporters, based on the 2012 FDA and EMA guidances, are provided in Tabulated Summaries 2.6.5.15.C, 2.6.5.15.D, 2.6.5.15.E, 2.6.5.15.F, 2.6.5.15.G, and 2.6.5.15.H, respectively.

2.6.5.15.C PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS — Test Article: Palbociclib

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of Various Transporters, based on the draft FDA guidance (2012).[a]

	Transporter	Report Numbers	$[I]_1$ (μM)	$[I]_2$ (μM)	IC_{50} (μM)	$[I]/IC_{50}$	Threshold Cutoff For Potential DDI
Systemic							
	P-gp	PF-00080665_[redacted]_163603	0.41	--	> 32	< 0.01	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
	BCRP	XT[redacted]8431 ([redacted]_03730)	0.41	--	> 31.6	< 0.01	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
GI Tract							
	P-gp	PF-00080665_[redacted]_163603	--	1117	> 32	< 35[b]	$[I]_2/IC_{50} \geq 10$
	BCRP	XT[redacted]8431 ([redacted]_03730)	--	1117	> 31.6	< 35[b]	$[I]_2/IC_{50} \geq 10$

Note: Calculated molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.

-- = Data not available or not applicable; BCRP = Breast cancer resistance protein; C_{max} = Maximum observed concentration; DDI = Drug-drug interaction; GI = Gastrointestinal; $[I]_1$ = Mean steady-state total (free and bound) C_{max} after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010, 0.41 μM); $[I]_2$ = Theoretical maximum gastrointestinal drug concentration, which is calculated as the highest clinical dose (125 mg), on a molar basis, in a volume of 250 mL; IC_{50} = 50% inhibitive concentration; P-gp = P-glycoprotein.

a. Draft guidance for industry: drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. In: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Feb 2012: 75 pages.

b. The calculated $[I]_2/IC_{50}$ (35) exceeded the regulatory threshold of 10.

2.6.5.15.D PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS — Test Article: Palbociclib

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of Various Transporters, based on the EMA guideline (2012).[a]

	Transporter	Report Numbers	K_i[b] (μM)	50 × $C_{max,u}$	0.1 × Dose/250 mL[c]	Threshold Cutoff For Potential DDI
Systemic						
	P-gp	PF-00080665_[redacted]_163603	16	3.0	--	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
	BCRP	XT[redacted]8431 ([redacted]_03730)	16	3.0	--	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
GI Tract						
	P-gp	PF-00080665_[redacted]_163603	16	--	112[d]	$K_i \leq (0.1 \times dose/250)$
	BCRP	XT[redacted]8431 ([redacted]_03730)	16	--	112[d]	$K_i \leq (0.1 \times dose/250)$

Note: Calculated molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
-- = Data not available or not applicable; BCRP = Breast cancer resistance protein; $C_{max,u}$ = Mean steady-state (unbound) maximum observed concentration after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010, 0.060 μM = 0.41 μM total C_{max} × 0.147 f_u); DDI = Drug-drug interaction; f_u = Unbound fraction; GI = Gastrointestinal; IC_{50} = 50% inhibitive concentration; K_i = Inhibition constant; P-gp = P-glycoprotein.
a. Guideline on the investigation of drug interactions. In: European Medicines Agency. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). CPMP/EWP/560/95/Rev. 21 Corr. 1 June 2012: 59 pages.
b. Assume $K_i = IC_{50}/2$ (IC_{50} values for P-gp and BCRP inhibition are 32 and 31.6 μM, respectively).
c. Calculated with the highest clinical dose (125 mg), on a molar basis.
d. The calculated 0.1 × Dose/250 mL (112) exceeded the regulatory threshold.

2.6.5.15.E PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS — Test Article: Palbociclib

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of Renal Transporter OCT2, based on the draft FDA guidance (2012).[a]

Transporter	Report Numbers	IC_{50} (μM)	$C_{max,u}$ (μM)	Threshold Cutoff For Potential DDI
OCT2	PD-0332991_[redacted]_161616	3.94	0.060	$C_{max,u}/IC_{50} \geq 0.1$

Note: Molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
$C_{max,u}$ = Mean steady-state (unbound) maximum observed plasma concentration after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010, 0.060 μM = 0.41 μM total $C_{max} \times 0.147$ f_u); DDI = Drug-drug interaction; f_u = Unbound fraction; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; OCT = Organic cation transporter.
a Draft guidance for industry: drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. In: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Feb 2012: 75 pages.

2.6.5.15.F PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS — Test Article: Palbociclib

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of Renal Transporter OCT2, based on the EMA guideline (2012).[a]

Transporter	Report Numbers	K_i[b] (μM)	$50 \times C_{max,u}$ (μM)	Threshold Cutoff For Potential DDI
OCT2	PD-0332991_[redacted]_161616	1.97	3.0	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$

Note: Molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
$C_{max,u}$ = Mean steady-state (unbound) maximum observed plasma concentration after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010; 0.060 μM = 0.41 μM total $C_{max} \times 0.147$ f_u); DDI = Drug-drug interaction; f_u = Unbound fraction; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; K_i = Inhibition constant; OCT = Organic cation transporter.

a. Guideline on the investigation of drug interactions. In: European Medicines Agency. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr. 2, 21 June 2012: 59 pages.

b. Assume $K_i = IC_{50}/2$ (IC_{50} value for OCT2 inhibition is 3.94 μM).

2.6.5.15.G PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS Test Article: Palbociclib

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of Hepatic Uptake Transporter OCT1, based on the FDA guideline (2012).[a]

Transporter	Report Numbers	IC_{50} (μM)	C_{max} (μM)	Threshold Cutoff For Potential DDI
OCT1	PD-332991_[redacted]_043304	0.72	0.41	$C_{max}/IC_{50} \geq 0.1$

Note: Molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.

C_{max} = Mean steady-state maximum observed plasma concentration after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib (Study A5481010; 0.41 μM total C_{max}); DDI = Drug-drug interaction; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; OCT = Organic cation transporter.

a. Draft guidance for industry: drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations. In: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Feb 2012: 75 pages.

2.6.5.15.H PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS Test Article: Palbociclib

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Palbociclib and Co-Administered Substrates of Hepatic Uptake Transporter OCT1, based on the EMA guideline (2012).[a]

Transporter	Report Numbers	Ki[b] (µM)	25 × $[I]_{u,inlet,max}$[c] (µM)	Threshold Cutoff For Potential DDI
OCT1	PD-332991_[redacted]_043304	0.36	3.9	$Ki \leq (25 \times [I]_{u,inlet,max})$

Note: Molecular weight of palbociclib = 447.5 g/mol.
DDI = Drug-drug interaction; $[I]_{u,inlet,max}$ = unbound portal inlet concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; Ki = Inhibition constant; OCT = Organic cation transporter.
a. Guideline on the investigation of drug interactions. In: European Medicines Agency. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr. 2, 21 June 2012: 59 pages.
b. Assume $Ki = IC_{50}/2$ (IC_{50} value for OCT1 inhibition was 0.72 µM).
c. $[I]_{u,inlet,max} = f_{u,b} \times [I_{max,b} + (Dose \times F_a \times F_g \times K_a / Q_H)]$ where $f_{u,b}$ is the unbound fraction in blood, $I_{max,b}$ is the mean total steady-state maximum observed blood concentration after repeated daily dosing of 125 mg of palbociclib, Dose is 125 mg or 279.3 µmol, F_a is the fraction of dose absorbed (assumed to be 1), F_g is intestinal availability (assumed to be 1), K_a is the absorption rate constant (0.367 h^{-1}, PMAR-EQDD-A548b-DP4-269), and Q_H is hepatic blood flow (97 L/h, EMA Guidance, 2012). The value of $f_{u,b}$ is calculated as: $f_{u,b} = (f_u$ / blood to plasma ratio) = 0.147/1.63 = 0.09 where f_u is the plasma unbound fraction (764-04174), blood to plasma ratio of palbociclib is 1.63 (764-04302); $I_{max,b} = (C_{max} \times$ blood to plasma ratio) = 0.41 µM × 1.63 = 0.67 µM where C_{max} is the mean total steady-state maximum observed plasma palbociclib concentration (0.41 µM, Study A5481010). The maximal unbound palbociclib concentration (blood) in portal vein ($[I]_{u,inlet,max}$) is calculated to be 0.155 µM using these input parameter values.