TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 3
LIST OF FIGURES 3
本項で使用する用語・略語 5
パラメータの略号および算出法 6
1. まとめ 7
1.1. 吸収 7
1.2. 分布 7
1.3. 代謝 7
1.4. 排泄 8
1.5. 薬物動態学的薬物相互作用 8
2. 分析法 9
2.1. HPLC/MS/MS による定量法 9
2.2. 放射性同位元素標識化合物 10
2.2.1. 被験物質 10
2.2.2. 放射能測定法 10
3. 吸収 11
3.1. 単回投与時の血漿中濃度 11
3.1.1. ラット 11
3.1.2. イヌ 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 14
3.3. 膜透過性およびトランスポーターの寄与 16
3.3.1. 膜透過性および排出トランスポーター 16
4. 分布 17
4.1. 中枢移行性 17
4.2. 組織分布 17
4.3. 肝取り込みトランスポーター 17
4.4. 血漿蛋白結合（in vitro） 18
4.4.1. ロルラチニブ 18
4.4.2. 安息香酸代謝物（PF-06895751） 18

4.5. 血球移行 18
4.6. 妊娠ラットにおける胎盤通過性 18
5. 代謝 19
5.1. In vivo 19
5.1.1. ラット 19
5.1.2. イヌ 20
5.1.3. ヒト 20
5.1.3.1. In vivo 代謝物 20
5.1.3.2. 生体内光学異性化の検討 21
5.1.3.3. リファンピシン併用試験における血漿中代謝物 21
5.1.4. ヒトと動物の代謝物の比較 22
5.2. In vitro 23
5.2.1. 肝ミクロソームおよび肝細胞を用いた in vitro 代謝 23
5.2.2. リファンピシン処理および非処理ヒト肝細胞を用いた in vitro 代謝 24
5.3. 代謝に関与する CYP 分子種の同定 24
5.4. 代謝に関与する UGT 分子種の特定 25
6. 排泄 26
6.1. ラット 26
6.2. イヌ 26
6.3. ヒト 26
6.4. 乳汁中排泄 27
7. 薬物動態学的薬物相互作用 28
7.1. CYP 阻害 28
7.1.1. ロルラチニブ 28
7.1.2. PF-06895751 29
7.2. CYP 誘導 30
7.2.1. ロルラチニブ 30
7.2.2. PF-06895751 30
7.2.3. ロルラチニブによる PXR および CAR1 の活性化 31
7.3. UGT 阻害 31
7.3.1. ロルラチニブ 31
7.3.2. PF-06895751 32

7.4. トランスポーターを介した薬物相互作用 32
7.4.1. 消化管排出トランスポーター阻害 32
7.4.1.1. ロルラチニブ 32
7.4.1.2. PF-06895751 33
7.4.2. 肝取り込みトランスポーター阻害 33
7.4.2.1. ロルラチニブ 33
7.4.2.2. PF-06895751 33
7.4.3. 腎トランスポーター阻害 34
7.4.3.1. ロルラチニブ 34
7.4.3.2. PF-06895751 34
8. その他の薬物動態試験 36
9. 考察および結論 37
10. 図表 39
11. 参考文献 41

LIST OF TABLES

Table 1. 雄ラットおよびイヌ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ロルラチニブのトキシコキネティクスパラメータ 13
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ロルラチニブの脳中および CSF 中濃度 14
Table 4. 雌雄ラットを用いた反復経口投与毒性試験における PF-06895751 のトキシコキネティクスパラメータ 14
Table 5. イヌを用いた反復経口投与試験におけるロルラチニブのトキシコキネティクスパラメータ 15
Table 6. 雌雄イヌを用いた反復経口投与毒性試験におけるロルラチニブの脳中および CSF 中濃度 16
Table 7. 雌雄イヌを用いた反復経口投与毒性試験における PF-06895751 のトキシコキネティクスパラメータ 16

LIST OF FIGURES

Figure 1. [^{14}C]ロルラチニブ（PF-06463922）の構造 10

Figure 2. ロルラチニブのラット，イヌおよびヒトにおける血漿中ならびに排泄物中代謝物 22
Figure 3. マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サルおよびヒトの肝ミクロソームならびに肝細胞におけるロルラチニブの推定代謝経路 23
Figure 4. ピラゾール環標識[^{14}C]ロルラチニブ（PF-06463922）の構造 24
Figure 5. 雄ラットにロルラチニブを単回投与したときの血漿中ロルラチニブ濃度推移（n=2） 39
Figure 6. 雄イヌにロルラチニブを単回投与したときの血漿中ロルラチニブ濃度推移（n=2） 40

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 resistance protein：乳癌耐性蛋白質
CAR	constitutive androstane receptor
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CSF	cerebrospinal fluid：脳脊髄液
CYP	cytochrome P450：シトクロム P450
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_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：分配係数
MATE	multidrug and toxin extrusion
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 form of 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
P-gp	P-glycoprotein：P-糖蛋白質
PXR	pregnane X receptor
$t_{½}$	apparent terminal elimination 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) $AUC_{inf} = AUC_t + Ct／k_{el}$ Ct は最終検出可能時点（t）の血漿中濃度，k_{el} は消失速度定数：(hr^{-1})
$t_{½}$	消失半減期：(hr)　以下の式を用いて算出した。 $t_{½} = \ln 2／k_{el}$
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_{inf}
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

ロルラチニブの薬物動態は，主として毒性試験で使用した動物種である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]ロルラチニブを使用した。生体試料中のロルラチニブ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

ロルラチニブをラットおよびイヌに静脈内投与したとき，CL_{tot} はそれぞれ 15.5 mL/min/kg および 9.05 mL/min/kg といずれも低値を示し，V_{ss}（それぞれ 2.66 L/kg および 2.80 L/kg）はいずれも総体液量を上回り，ロルラチニブが体組織に広範に分布することが示唆された。$t_{½}$はそれぞれ 2.71 時間および 4.62 時間であった。経口バイオアベイラビリティはラットでは 100%超，イヌでも 96.6%といずれも良好であった。

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，曝露量は用量にほぼ比例して増加した。ラットでは雌の方が雄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。ラットおよびイヌのいずれにおいても反復投与によるロルラチニブの顕著な蓄積は認められなかった。ヒト血漿中の主代謝物である M8（PF-06895751）の曝露量は用量の増加に伴い増加し，いずれの用量においても未変化体と比較して顕著に低かった。ラットおよびイヌの 4 週間反復投与毒性試験の剖検時に採取した脳および CSF 中のロルラチニブ濃度は用量の増加に伴い増加した。

P-gp または BCRP 発現細胞を用いた in vitro 試験の結果から，ロルラチニブはこれらの排出トランスポーターの基質とならないと考えられた。

1.2. 分布

[^{14}C]ロルラチニブを有色ラット（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た。放射能濃度はブドウ膜で最も高く，見かけの $t_{½}$ 287 時間で消失した。[^{14}C]ロルラチニブ由来放射能は血液脳関門を通過し，脳室周囲以外の中枢神経系組織で投与後 24 時間においても検出された。投与後 96 時間には，ほとんどの組織の放射能濃度は最高値の 10%未満まで低下した。

マウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒト血漿に対するロルラチニブの f_u は 0.239，0.303，0.358，0.287 および 0.340 であった。ロルラチニブのマウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトにおける血液/血漿中濃度比は 0.776～1.05 と，赤血球および血漿へほぼ均等に分布した。

In vitro 試験の結果から，ロルラチニブが OATP1B1 および OATP1B3 の基質となる可能性は低いことが示された。

1.3. 代謝

[^{14}C]ロルラチニブを単回経口投与後の生体試料を用いた評価から，ラットとヒトにおけるロルラチニブの主な代謝経路は酸化およびグルクロン酸抱合であり，イヌにおける主代謝経路は酸化であることが示された。ヒトにおける主要な酸化的代謝はラットおよびイヌにおいてもみられた。ヒト血漿中の主な成分は未変化体および安息香酸体である M8（PF-06895751）であり，それぞれ

薬物関連物質の血漿中総量の 44.4%および 21.0%を占めた。ラットおよびイヌの 13 週間毒性試験においても，M8 はヒトよりも顕著に低い曝露量であったが血漿中から検出された。ロルラチニブをマウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトの肝ミクロソームならびに肝細胞とインキュベートしたところ，いずれの in vitro 系においてもロルラチニブはあまり代謝されなかったが，ヒトの肝ミクロソームおよび肝細胞で生成した酸化的代謝物は，毒性試験に用いたラット，ウサギおよびイヌの肝ミクロソームまたは肝細胞でも生成した。ロルラチニブの酸化的代謝およびグルクロン酸抱合に関与する主な分子種は CYP3A4 ならびに UGT1A4 であり，それぞれ CYP2C19，CYP2C8 および CYP3A5 ならびに UGT1A3 も関与することが示唆された。

1.4. 排泄

ラットおよびイヌにおいて，[^{14}C]ロルラチニブ由来の放射能の 53.0%～82.4%は糞中に排泄され，13.6%～25.5%が尿中へ排泄された。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 27.2%～47.6%であった。

1.5. 薬物動態学的薬物相互作用

In vitro 試験において，ロルラチニブは CYP3A4/5 の可逆的および時間依存的な阻害作用ならびに誘導作用を示したが，ヒト生体内では誘導作用を示した。ロルラチニブは in vitro では CYP2C9 の阻害作用を示したが，その発現を調節する PXR を活性化し，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C19 および CYP2D6 をほとんど阻害しなかった。また，ロルラチニブは CYP3A4 および CYP2B6 を誘導し，PXR および CAR1 を活性化したが，臨床で想定される濃度において CYP1A2 を誘導する可能性は低いと考えられた。ロルラチニブは UGT1A1 を可逆的に阻害した。

ロルラチニブは，BCRP（消化管以外），OAT1，OCT2 および MATE2K の阻害を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いが，P-gp，BCRP（消化管），OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OAT3 および MATE1 を阻害する可能性が考えられた。

PF-06895751 が，評価した 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は低いと考えられた。

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 15-1270，[redacted]1717VSMB_PGC，15-1271，[redacted]1714VSMB_PGC_R1，PF-06895751_[redacted]_035233，[redacted]1720VSMB_PGC，PF-06895751_[redacted]_035032，概要表 2.6.5.2-A，2.6.5.2-B，2.6.5.2-C，2.6.5.2-D

ラットおよびイヌを用いた薬物動態試験での血漿中ロルラチニブ濃度の定量には，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 PF-06463922_[redacted]_120541 および PF-06463922_[redacted]_121134）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，ラット，ウサギおよびイヌ血漿中のロルラチニ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 0.5 ng/mL～1250 ng/mL（ラットおよびイヌ）または 0.5 ng/mL～1000 ng/mL（ウサギ）の濃度範囲で実施した（報告書番号 15-1270，[redacted]1717VSMB_PGC および 15-1271）。ラットおよびイヌの 4 週間毒性試験では脳中ならびに CSF 中のロルラチニブ濃度を HPLC/MS/MS を用いた分析法（定量範囲 0.5 ng/mL～1250 ng/mL）により定量した（報告書番号 [redacted]GR341 および [redacted]GR342）。また，ラットを用いた光毒性試験，胚・胎児発生毒性試験および 13 週間毒性試験ならびにイヌを用いた 13 週間毒性試験における血漿中のロルラチニ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 0.5 ng/mL～1000 ng/mL の濃度範囲で実施した（報告書番号 [redacted]1714VSMB_PGC_R1 および [redacted]1720VSMB_PGC）。13 週間毒性試験におけるラットおよびイヌ血漿中の安息香酸代謝物（PF-06895751）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 2.5 ng/mL～2500 ng/mL の濃度範囲で実施した（報告書番号 PF-06895751_[redacted]_035233 および PF-06895751_[redacted]_035032）。これらの分析方法では除蛋白により血漿からロルラチニブおよび PF-06895751 を抽出した後，HPLC/MS/MS で分析した。

また，ラット，ウサギおよびイヌの血漿中におけるロルラチニブの長期保存安定性（報告書番号 15-1270，[redacted]1717VSMB_PGC および 15-1271）ならびにラットおよびイヌの血漿中における PF-06895751 の長期保存安定性を確認した（報告書番号 PF-06895751_[redacted]_035233 および PF-06895751_[redacted]_035032）。血漿を-20°C または-70°C にて保存した場合，血漿中ロルラチニブはいずれの条件においてもラットで 112 日間，ウサギで 51 日間，イヌでは 91 日間安定であった。また，血漿を-20°C または-70°C にて保存した場合，血漿中 PF-06895751 はラットではいずれの条件においても 260 日間，イヌでは-20°C で 60 日間，-70°C では 279 日間安定であった。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 4 週間毒性試験ならびにウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験から得られた試料（ロルラチニブ），ラットおよびイヌを用いた 13 週間毒性試験から得られた試料（PF-06895751）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。その結果はイヌの PF-06895751 を除き許容基準（総検体数の 66.7%以上で再分析値が初回値の±20%以内）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。イヌ血漿中の PF-06895751 につい

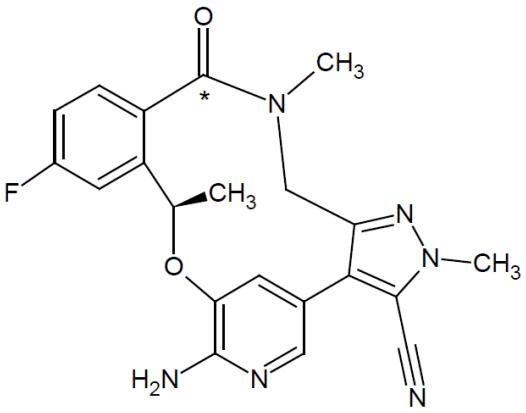
ては，再分析値が初回値の±20%以内となった試料の割合は 63.6%（7/11）と 66.7%にはわずかに及ばなかったが，試料量が十分でなかったことから ISR の再評価は実施できなかった（報告書番号 8001589［[redacted]LJ023］）。しかしながら，イヌ血漿中での PF-06895751 濃度はいずれの用量においても低く, ISR のすべての検体の再分析値は初回値の±25%以内であったことも勘案すると, ISR の許容基準からわずかに外れたことがトキシコキネティクス評価に及ぼす影響は極めて小さいと考えられる。

2.2. 放射性同位元素標識化合物

2.2.1. 被験物質

組織分布試験および排泄試験に用いたロルラチニブの放射性標識化合物（[^{14}C]ロルラチニブ）は Perkin Elmer 社から提供した。[^{14}C]ロルラチニブの構造および標識位置を Figure 1 に示す。[^{14}C]ロルラチニブの比放射能は 59.7 mCi/mmol であり，放射化学的純度は 99.7%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]ロルラチニブ（PF-06463922）の構造



*：^{14}C 標識位置

2.2.2. 放射能測定法

[^{14}C]ロルラチニブを用いたラットの組織分布試験（報告書番号 8308923）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 29.0 ng eq/g であった。また，[^{14}C]ロルラチニブを用いた排泄試験（報告書番号 8321366 および 8321367）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

ラットおよびイヌにロルラチニブを単回投与してロルラチニ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，ロルラチニ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

Wistar Han ラットおよびビーグル犬（毒性試験に用いた動物種）を用いて，ロルラチニ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。ロルラチニブは遊離塩基として経口投与し，血漿中濃度は総濃度（結合型＋非結合型）として報告した。

3.1.1. ラット

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_120541，概要表 2.6.5.3-A

Wistar Han ラット（雄 2 匹/群）にロルラチニブ［溶媒；エタノール：ポリエチレングリコール（PEG）200：水 ＝10：40：50，v/v］を 5 mg/kg で単回経口投与したときの血漿中濃度推移を検討した（Figure 5）。ロルラチニブの血漿中濃度は投与後 5.5 時間で C_{max} に達し，経口バイオアベイラビリティは 100%超であった（Table 1）。また，雌雄の胆管カニューレ挿入 Wistar Han ラットに 10 mg/kg で[^{14}C]ロルラチニブを単回経口投与したときに胆汁中と尿中への放射能回収率の合計は雄で投与量の 70%，雌で 46%であり（2.6.4.6.1 項）ロルラチニ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。

Wistar Han ラット（雄 2 匹/群）にロルラチニブ［溶媒；エタノール：PEG200：水 ＝10：40：50，v/v］を 1 mg/kg で単回急速静脈内投与したときの血漿中濃度推移を検討した（Figure 5）。CL_{tot} は 15.5 mL/min/kg であり，ラットの肝血流量（55.2 mL/min/kg）[1]と比較して低値を示した。V_{ss} は 2.66 L/kg と総体液量（約 0.7 L/kg）[1]を上回り，ロルラチニ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。$t_{½}$は 2.71 時間であった（Table 1）。

3.1.2. イヌ

試験報告書 PF-06463922_[redacted]_121134，概要表 2.6.5.3-B

ビーグル犬（雄 2 匹/群）にロルラチニブ［溶媒；エタノール：PEG200：水 ＝10：40：50，v/v］を 2 mg/kg で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）。ロルラチニブの血漿中濃度は投与後 0.75 時間で C_{max} に達し，消化管吸収は速やかであることが示唆され，経口バイオアベイラビリティは 96.6%であった（Table 1）。

ビーグル犬（雄 2 匹/群）にロルラチニブ［溶媒；エタノール：PEG200：水 ＝10：40：50，v/v］を 1 mg/kg で単回急速静脈内投与したときの血漿中濃度推移を検討した（Figure 6）。CL_{tot} は 9.05 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}（2.80 L/kg）は総体液量（約 0.6 L/kg）[1]を上回り，ロルラチニ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 4.62 時間であった（Table 1）。

Table 1.　雄ラットおよびイヌ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)	C_{max} (ng/mL)	C_0 (ng/mL)	T_{max} (h)	AUC_{inf} (ng•h/mL)	CL_{tot} (mL/min/kg)	V_{ss} (L/kg)	$t_{½}$ (h)	F[a] (%)
ラット	5 (PO)	651	--	5.5	8600	--	--	3.57	>100
（Wistar Han）	1 (IV)	--	735	--	1150	15.5	2.66	2.71	--
イヌ	2 (PO)	592	--	0.75	3580	--	--	8.06	96.6
（ビーグル）	1 (IV)	--	637	--	1850	9.05	2.80	4.62	--

n = 2，平均値
-- = 該当データなし；AUC_{inf} = 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；CL_{tot} = 全身クリアランス；IV = 静脈内；PO = 経口；n = 例数
a. F (%) = ([AUC_{inf} (PO) × Dose (IV)] / [AUC_{inf} (IV) × Dose (PO)]) × 100

3.2. 反復投与時の血漿中濃度（トキシコキネティクス）

Wistar Han ラットおよびビーグル犬におけるロルラチニ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ロルラチニブ濃度について検討した。また，ラットおよびイヌの 13 週間反復投与毒性試験では，in vitro において薬理作用を示さなかったが（2.6.2.2.1.1.3 項），ヒトマスバランス試験において血漿中放射能の 21.0%を占めた代謝物（2.7.2.2.2.1.1 項）である安息香酸体（PF-06895751）の血漿中濃度も定量した。さらに，ラットおよびイヌの 4 週間反復投与毒性試験では，剖検時に採取した脳および脳脊髄液（CSF）中のロルラチニブ濃度も定量した。

3.2.1. ラット

報告書番号 [redacted]GR341，8001588（[redacted]LJ022），20090724（[redacted]GR479），20097796（[redacted]LJ049）

4 週間試験では，Wistar Han ラット（雌雄各 4 匹/群）の雄にロルラチニブの酢酸溶媒和物を 1，4 または 15 mg/kg（遊離塩基換算，溶媒；塩酸酸性化水）で 1 日 2 回（約 6 時間間隔；2，8 または 30 mg/kg/日），雌に 0.5，2 または 7.5 mg/kg（1，4 または 15 mg/kg/日）で経口投与し，投与初日および投与 30 日に未変化体の血漿中濃度を測定した（報告書番号 [redacted]GR341）。ロルラチニブの曝露量はほぼ用量比例的に増加し，ラットでは曝露量に性差が認められ，雌の 2 倍の用量を雄に投与したときの雌雄の曝露量は同程度であった。投与初日と比較して投与 30 日の AUC_{24} はほぼ同程度であり（投与初日の 1.0 倍～1.5 倍），ロルラチニブ濃度の蓄積はほとんどみられなかった（Table 2）。剖検時に採取した脳および CSF 中のロルラチニブ濃度は用量の増加に伴い増加し，血漿中と同様，雌の方が高値を示した（Table 3）。

13 週間試験では，Wistar Han ラット（雌雄各 3 匹/群）の雄にロルラチニブを 1，4 または 7.5 mg/kg（溶媒；塩酸酸性化水）で 1 日 2 回（約 6 時間間隔；2，8 または 15 mg/kg/日），雌に 0.5，2 または 7.5 mg/kg（1，4 または 15 mg/kg/日）で経口投与し，投与初日および投与 91 日に未変化体，投与 4 週に安息香酸体（PF-06895751）の血漿中濃度を測定した（報告書番号 8001588）。ロルラチニブの曝露量には性差がみられ，雌雄同一用量である 15 mg/kg/日における未変化体の AUC_{24} は雌で雄よりも約 2～3 倍高かった。ロルラチニブの曝露量はほぼ用量比例的に増加し，投与初日と比較して投与 91 日の AUC_{24} はほぼ同程度であり（投与初日の 1.0 倍～2.1 倍），ロルラチニブ濃度の蓄積はほとんどみられなかった（Table 2）。PF-06895751 の曝露量は用量の増加に伴い増加したが，いずれの用量においても未変化体と比較して顕著に低かった。雌雄で同一用量を投

与した 7.5 mg/kg（15 mg/kg/日）の結果を比較すると，PF-06895751 曝露量は雄の方が高値を示した（Table 4）。

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ロルラチニ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）	n数/性	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL) 総濃度	C_{max} (ng/mL) 非結合型[a]	AUC_{24} (ng•h/mL) 総濃度	AUC_{24} (ng•h/mL) 非結合型[a]
4週間	1	2 (1 BID)	4/M	1.0	321	97.3	3630	1100
		8 (4 BID)	4/M	1.5	1280	388	16000	4850
		30 (15 BID)	4/M	1.5	4110	1250	58600	17800
		1 (0.5 BID)	4/F	2.3	256	77.6	3860	1170
		4 (2 BID)	4/F	1.0	802	243	13200	4000
		15 (7.5 BID)	4/F	2.3	3260	988	56700	17200
	30	2 (1 BID)	4/M	1.0	306	92.7	3680	1120
		8 (4 BID)	4/M	1.5	1260	382	16000	4850
		30 (15 BID)	3/M	2.7	6390	1940	83200	25200
		1 (0.5 BID)	4/F	2.3	362	110	5740	1740
		4 (2 BID)	4/F	1.0	963	292	18800	5700
		15 (7.5 BID)	4/F	1.0	4750	1440	68500	20800
13週間	1	2 (1 BID)	3/M	1.0	329	99.7	3750	1140
		8 (4 BID)	3/M	1.0	1610	488	18600	5640
		15 (7.5 BID)	3/M	1.7	2640	800	31700	9610
		1 (0.5 BID)	3/F	1.0	249	75.4	3660	1110
		4 (2 BID)	3/F	1.0	1020	309	15200	4610
		15 (7.5 BID)	3/F	1.7	3940	1190	62400	18900
	91	2 (1 BID)	3/M	1.0	322	97.6	3920	1190
		8 (4 BID)	3/M	1.0	1460	442	20600	6240
		15 (7.5 BID)	3/M	1.7	3020	915	44800	13600
		1 (0.5 BID)	3/F	1.0	388	118	5770	1750
		4 (2 BID)	3/F	1.7	1490	451	25800	7820
		15 (7.5 BID)	3/F	1.0	6600	2000	131000	39700

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；BID = 1 日 2 回投与；F = 雌；M = 雄
a. 非結合型 C_{max} または AUC = C_{max} または AUC（総濃度）× 0.303（ラット血漿中の平均 f_u；2.6.4.4.4.1 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ロルラチニブの脳中および CSF 中濃度

試験	投与量 (mg/kg/日)	n数/性	脳中濃度 (ng/g)[a]			CSF中濃度 (ng/mL)[a]	
			総濃度[b]	非結合型[c]	n	非結合型[b,d]	n
4週間	2 (1 BID)	4/M	BLQ	NA	4	0.735	4
	8 (4 BID)	4/M	56.1	6.73	4	9.82	4
	30 (15 BID)	3/M	510	61.2	3	107	2
	1 (0.5 BID)	4/F	86.2	10.3	4	11.5	1
	4 (2 BID)	4/F	257	30.8	4	49.2	3
	15 (7.5 BID)	3/F	1130	136	3	262	3

BID = 1 日 2 回投与；BLQ = 定量下限未満；CSF = 脳脊髄液；F = 雌；M = 雄；；n = 例数；NA = 該当なし
a. 試験 31 日の剖検時に採取した試料中濃度
b. 定量下限値は脳中：15.0 ng/g ， CSF 中：0.5 ng/mL
c. 非結合型 C_{max} = C_{max}（総濃度）× 0.12（ラット脳中の f_u）
d. CSF は蛋白質をほとんど含まないので濃度は非結合型濃度とした

Table 4. 雌雄ラットを用いた反復経口投与毒性試験における PF-06895751 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)	n数/性	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{24} (ng•h/mL)	
					総濃度	非結合型[a]	総濃度	非結合型[a]
13週間	4週	2 (1 BID)	3/M	NR[b]	NR[b]	NC	NR[b]	NC
		8 (4 BID)	3/M	6.7	3.57	0.750	47.0[c]	9.87
		15 (7.5 BID)	3/M	6.7	8.75	1.84	153	32.1
		1 (0.5 BID)	3/F	NR[b]	NR[b]	NC	NR[b]	NC
		4 (2 BID)	3/F	7.0[c]	3.08[c]	0.647	NR[b]	NC
		15 (7.5 BID)	3/F	5.7	4.01	0.842	44.4[c]	9.32

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；BID：1 日 2 回投与；F = 雌；M = 雄；NC：算出せず；NR：報告せず
a. 非結合型 C_{max} または AUC = C_{max} または AUC（総濃度）× 0.210（ラット血漿中の平均 f_u；2.6.4.4.4.2 項）
b. 採取・分析した試料はすべて定量下限値未満であった
c. n = 1

3.2.2. イヌ

報告書番号 [redacted]GR342，8001589（[redacted]LJ023）

4 週間試験では，雌雄ビーグル犬（6 匹/群）にロルラチニブの酢酸溶媒和物を 1，3.5 または 12.5 mg/kg（遊離塩基換算，溶媒；塩酸酸性化水）で 1 日 2 回（約 6 時間間隔；2，7 または 25 mg/kg/日）経口投与し，投与初日および投与 28 日（または 29 日）に未変化体の血漿中濃度を測定した（報告書番号 12GR342）。ロルラチニブの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。曝露量はほぼ用量比例的に増加し，投与初日と比較して投与 28 日（または 29 日）の AUC_{24} は同程度（投与初日の 0.95 倍～1.2 倍）であり，ロルラチニブ濃

度の蓄積はみられなかった（Table 5）。剖検時に採取した脳および CSF 中のロルラチニブ濃度は用量の増加に伴い増加した（Table 6）。

13 週間試験では，雌雄ビーグル犬（3 匹/群）にロルラチニブを 1，3.5 または 12.5 mg/kg（溶媒；塩酸酸性化水）で 1 日 2 回（約 6 時間間隔；2，7 または 25 mg/kg/日）で経口投与し，投与初日，投与 40 日および投与 90 日に未変化体，投与 4 週に安息香酸体（PF-06895751）の血漿中濃度を測定した（報告書番号 8001589）。ロルラチニブの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。曝露量はほぼ用量比例的に増加し，投与初日と比較して投与 40 日および投与 90 日の AUC_{24} は同程度(それぞれ投与初日の 0.93 倍～1.1 倍および 1.0 倍～1.1 倍）であり，ロルラチニブ濃度の蓄積はみられなかった（Table 5）。PF-06895751 の曝露量は用量の増加に伴い増加し，明確な性差はみられなかったが，いずれの用量においても未変化体と比較して顕著に低かった（Table 7）。

Table 5. イヌを用いた反復経口投与試験におけるロルラチニ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）	n数/性	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{24} (ng•h/mL)	
					総濃度	非結合型[a]	総濃度	非結合型[a]
4週間	1	2 (1 BID)	6/M + 6/F	1.0	308	88.4	3370	967
		7 (3.5 BID)	6/M + 6/F	1.0	1060	304	11500	3300
		25 (12.5 BID)	6/M + 6/F	1.0	3530	1010	39700	11400
	28/29	2 (1 BID)	6/M + 6/F	1.0	351	101	4030	1160
		7 (3.5 BID)	6/M + 6/F	1.0	970	278	10900	3130
		25 (12.5 BID)	6/M + 6/F	1.0	3880	1110	40000	11500
13週間	1	2 (1 BID)	3/M + 3/F	1.0	280	80.4	2520	723
		7 (3.5 BID)	3/M + 3/F	1.0	924	265	10000	2870
		25 (12.5 BID)	3/M + 3/F	1.0	2760	792	30800	8840
	40	2 (1 BID)	3/M + 3/F	1.0	300	86.1	2530	726
		7 (3.5 BID)	3/M + 3/F	1.0	1050	301	9270	2660
		25 (12.5 BID)	3/M + 3/F	1.0	4620	1330	34700	9960
	90	2 (1 BID)	3/M + 3/F	1.0	318	91.3	2820	809
		7 (3.5 BID)	3/M + 3/F	1.0	1150	330	10400	2980
		25 (12.5 BID)	3/M + 3/F	1.0	3590	1030	31000	8900

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；BID：1 日 2 回投与；F = 雌；M = 雄
a. 非結合型 C_{max} または AUC = C_{max} または AUC（総濃度）× 0.287（イヌ血漿中の平均 f_u；2.6.4.4.4.1 項）

Table 6. 雌雄イヌを用いた反復経口投与毒性試験におけるロルラチニブの脳中およびCSF中濃度

試験	投与量 (mg/kg/日)	性	脳中濃度 (ng/g)[a]			CSF中濃度 (ng/mL)[a]	
			総濃度[b]	非結合型[c]	n	非結合型[b,d]	n
4週間	2 (1 BID)	M + F	20.0	2.40	8	2.65	7
	7 (3.5 BID)	M + F	35.6	4.27	8	3.85	8
	25 (12.5 BID)	M + F	141	16.9	8	25.5	8

BID = 1 日 2 回投与；CSF = 脳脊髄液；F = 雌；M = 雄；n = 例数
a. 試験 29 日（雌は試験 30 日）の剖検時に採取した試料中濃度
b. 定量下限値は脳中：15.0 ng/g ， CSF 中：0.5 ng/mL
c. 非結合型 C_{max} = C_{max}（総濃度）× 0.12（ラット脳中の f_u と等しいと仮定）
d. CSF は蛋白質をほとんど含まないので濃度は非結合型濃度とした

Table 7. 雌雄イヌを用いた反復経口投与毒性試験における PF-06895751 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)	n数/性	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{24} (ng•h/mL)	
					総濃度	非結合型[a]	総濃度	非結合型[a]
13週間	4週	2 (1 BID)	3/M + 3/F	NR[b]	NR[b]	NC	NR[b]	NC
		7 (3.5 BID)	3/M + 3/F	4.5[c]	4.31[c]	0.403	63.7[d]	5.96
		25 (12.5 BID)	3/M + 3/F	4.2	10.9	1.02	175	16.4

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 ; BID : 1 日 2 回投与 ; F = 雌 ; M = 雄 ; NC : 算出せず ; NR : 報告せず
a. 非結合型 C_{max} または AUC = C_{max} または AUC（総濃度）× 0.0936（イヌ血漿中の平均 f_u ; 2.6.4.4.4.2 項）
b. 採取・分析した試料はすべて定量下限値未満であった
c. 雌雄各 2 例の平均値
d 雄 1 例，雌 2 例の平均値

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 PF-06463922_[redacted]_135242，概要表 2.6.5.15-A

P-gp または BCRP を発現させた MDCK II 細胞を用いて，ロルラチニ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 2 µmol/L の濃度で評価した。

P-gp を発現させた MDCK II 細胞におけるロルラチニブの見かけの efflux ratio（$P_{appB→A}/P_{appA→B}$）は 1.8，BCRP を発現させた MDCK 細胞におけるロルラチニブの見かけの efflux ratio は 1.3 であり，ロルラチニブは P-gp および BCRP に対しても基質とならないと考えられた。

このことは，[^{14}C]ロルラチニ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と符合した。

4. 分布

4.1. 中枢移行性

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_114157，概要表 2.6.5.5-A

Wistar Han ラット（雄 2 匹/時点）に 10 mg/kg のロルラチニブ［エタノール：PEG200：水 = 10：40：50，v/v］を単回経口投与したときの脳中および CSF 中濃度推移を検討した。脳中および血漿中濃度を非結合型濃度に換算したときの脳/血漿中濃度比（Cb,u/Cp,u）および CSF/血漿中濃度比（CSF/Cp,u）の AUC 比は，それぞれ 0.25 および 0.37 であった。

この結果ならびにラットおよびイヌを用いた反復投与毒性試験において，脳中および CSF 中にロルラチニブが検出されたことから，ロルラチニブは血液脳関門を通過することが示された。

4.2. 組織分布

報告書番号 8308923，概要表 2.6.5.5-B

雄 Long Evans ラットに[^{14}C]ロルラチニブ（10 mg/kg, 337 µCi/kg）を単回経口投与し，投与後 0.25，0.5，1，2，4，8，24，48，96，168，336 および 672 時間における組織および体液への[^{14}C]ロルラチニブ由来放射能の分布を定量オートラジオグラフィーで検討した。

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，肝臓，椎間板，副腎，ハーダー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]ロルラチニブ由来の放射能濃度はブドウ膜で最も高く，見かけの $t_{½}$ 287 時間で消失した。[^{14}C]ロルラチニブ由来放射能は血液脳関門を通過し，脳室周囲以外の中枢神経系組織で投与後 24 時間においても検出された。投与後 96 時間には，包皮腺および鼻甲介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投与後 336 時間までには C_{max} の 10%未満まで低下していた。

4.3. 肝取り込みトランスポーター

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_102514，概要表 2.6.5.15-A

肝取り込みトランスポーターOATP1B1 および OATP1B3 を発現させた HEK293 細胞を用いて，ロルラチニブの取り込みについて 0.03 µmol/L～100 µmol/L の濃度で評価した。陽性対照としてロスバスタチン（5 µmol/L）を用いた。

ロルラチニブの取り込み比（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 42 倍超であった。これらの結果から，ロルラチニブが OATP1B1 および OATP1B3 の基質となる可能性は低いことが示された。

4.4. 血漿蛋白結合（in vitro）

4.4.1. ロルラチニブ

報告書番号 ADME-20[redacted]-001-0027，[redacted]/067/086，[redacted]/067/144，[redacted]/067/103，概要表 2.6.5.6-A

ロルラチニブのマウス，ラット，ウサギ，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 2 µmol/L または 2.4 µmol/L（813 ng/mL または 975 ng/mL）の濃度で平衡透析法を用いて検討した。

マウス，ラット，ウサギ，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ロルラチニブの非結合型分率（f_u）は 0.239，0.303，0.358，0.287，0.340，0.474 および 0.620 であった。

4.4.2. 安息香酸代謝物（PF-06895751）

報告書番号 [redacted]067/136，概要表 2.6.5.6-B

ロルラチニブの安息香酸体である PF-06895751 のマウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒト血漿蛋白質に対する蛋白結合率を 2 µmol/L（368 ng/mL）の濃度で平衡透析法を用いて検討した。

検討した濃度において，マウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒト血漿に対する PF-06895751 の f_u は 0.440，0.210，0.115，0.0936 および 0.207 であった。

4.5. 血球移行

報告書番号 [redacted]/067/087，概要表 2.6.5.8

マウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトの全血を用いて，ロルラチニブの血球移行を 1 µmol/L（406 ng/mL）評価した。

マウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトの血液/血漿中濃度比（C_b/C_p）はそれぞれ 0.776，0.838，1.05，0.809 および 0.985 であり，赤血球/血漿間の分配係数（Kp）はそれぞれ 0.633，0.709，1.12，0.675 および 0.968 であった。これらの結果から，ロルラチニブは評価したいずれの動物種においても赤血球と血漿にほぼ均等に分布することが示された。

4.6. 妊娠ラットにおける胎盤通過性

ロルラチニブの胎盤通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，発生毒性として胚・胎児生存率低下，胎児体重減少および奇形が認められ（2.6.6.9.1.12.項），ロルラチニ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（案）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女性には、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

ロルラチニブの 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]ロルラチニブを単回経口投与後の生体試料を用いて評価した。ラットとヒトにおけるロルラチニブの主な代謝経路は酸化およびグルクロン酸抱合であり，イヌにおける主代謝経路は酸化であった。ヒトにおける主要な酸化的代謝はラットおよびイヌにおいてもみられた。グルクロン酸抱合はラットおよびヒトでみられたが抱合位置には種差が認められた。

5.1.1. ラット

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_112741，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 Wistar Han ラットに[^{14}C]ロルラチニブを 10 mg/kg（約 200 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]ロルラチニブを単回経口投与したとき，放射能の主な排泄経路は糞中であり（雄で投与量の 82.4%，雌で 76.4%），尿中排泄は雄で 13.6%，雌で 17.6%であった。胆管カニューレ挿入ラットにおいて，放射能の胆汁中排泄は雄で 47.6%，雌で 27.2%であった（2.6.4.6.1 項）。

無処置ラットの血漿中では，未変化体およびピラゾール N-脱メチル体（PF-06648706，M2a）が主に認められ，雄では血漿中放射能のそれぞれ 37.8%および 54.6%，雌では 70.1%および 25.7%を占めた。血漿中の微量代謝物として N-メチルアミド部分の脱メチル体（M2b）が雌雄ともに認められた。

無処置ラットの糞中においても未変化体と M2a が主要な成分として検出された（雄で投与放射能のそれぞれ 8.0%および 55.3%，雌では 27.8%および 37.5%）。

無処置ラットの尿中でも M2a が主代謝物であり（雄で投与放射能の 5.0%，雌では 10.4%），未変化体は雄で投与量の 0.9%，雌で 2.6%を占めた。尿中の微量代謝物としてピリジン N-オキシド体（PF-06923710，M6）が雌雄ともに認められた（雄で投与放射能の 0.5%，雌では 1.2%）。

胆管カニューレ挿入ラットから採取した胆汁中からは M2a, M2a のグルクロン酸抱合体 2 種（M3a および M3b），未変化体および未変化体のグルクロン酸抱合体（M1b）が主要な成分として検出され，雄では M2a が，雌では M1b が主代謝物であった。M2a，M3a，M3b，未変化体および M1b は，雄ならびに雌において胆汁中放射能のそれぞれ 28.5%，8.5%，10.6%，4.8%および 15.2%ならびに 4.9%，5.3%，5.7%，10.1%および 43.0%を占めた。

以上の結果から，ラットに[^{14}C]ロルラチニブを経口投与したときの主な代謝経路は酸化およびグルクロン酸抱合であり，ピラゾール環の N-脱メチル化およびグルクロン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。なお，安息香酸体（PF-06895751）は，この[^{14}C]ロルラチニブを経口投与後の生体試料を用いた代謝物検索では検出されなかったが，13 週間毒性試験において血漿中に存在することが示されている（2.6.4.3.2.1 項）。

5.1.2. イヌ

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_124011，概要表 2.6.5.9-B

雌雄ビーグル犬に[^{14}C]ロルラチニブを 10 mg/kg（約 20 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]ロルラチニブを単回経口投与したとき，放射能の主な排泄経路は糞中であり（雄で投与量の 53.0%，雌で 72.0%），尿中排泄は雄で 25.5%，雌で 18.6%であった（2.6.4.6.2 項）。

血漿中では，未変化体および M2a（ピラゾール N-脱メチル体）が主に認められ，雄では血漿中放射能のそれぞれ 42.6%および 41.6%，雌では 23.3%および 54.4%を占めた。血漿中の微量代謝物として M3a（M2a のグルクロン酸抱合体），M2a のグルコース抱合体（M10a）が雌雄ともに認められ，血漿中放射能の 1.8%～7.3%であった。

糞中では M2a が主要な成分として検出され，雄で投与放射能の 30.3%，雌では 44.5%を占めた。その他に M2a のグルコース抱合体 2 種（M10a および M10b），M3a および未変化体が検出された。M10a，M10b，M3a および未変化体は，雄ならびに雌において投与放射能のそれぞれ 10.4%，1.7%，5.5%および 1.8%ならびに 14.8%，2.5%，3.5%および 0.7%を占めた。

尿中では未変化体が雄で投与量の 9.0%，雌で 0.6%を占め，M2a，各 2 種の M2a のグルクロン酸およびグルコース抱合体（M3a，M3b，M10a および M10b）が代謝物として検出された。M2a，M3a，M3b，M10a および M10b は，雄ならびに雌において投与放射能のそれぞれ 3.5%，5.6%，1.1%，2.3%および 0.6%ならびに 5.0%，6.2%，0.9%，2.4%および 0.4%を占めた。

以上の結果から，イヌに[^{14}C]ロルラチニブを経口投与したときの主な代謝経路は酸化であり，ピラゾール環の N-脱メチル化主たる消失経路であることが示され，それにより生成した M2a のグルクロン酸抱合およびグルコース抱合も二次的な消失経路であると考えられた。なお，安息香酸体（PF-06895751）は，この[^{14}C]ロルラチニブを経口投与後の生体試料を用いた代謝物検索では検出されなかったが，13 週間毒性試験において血漿中に存在することが示されている（2.6.4.3.2.2 項）。

5.1.3. ヒト

5.1.3.1. In vivo 代謝物

報告書番号 [redacted]/003/297，概要表 2.6.5.9-C

外国人健康男性被験者に[^{14}C]ロルラチニブ 100 mg（約 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]ロルラチニブをヒトに経口投与したとき，放射能の尿中排泄率は投与量の 47.7%であり，糞中排泄率は 40.9%であった（2.6.4.6.3 項）。

血漿中の主な成分は未変化体であり，薬物関連物質の血漿中総量の 44.4%を占めた。血漿中の主な代謝物は，ロルラチニブのアミド結合および芳香族エーテル結合の開裂によって生成される安息香酸体（PF 06895751，M8）であり，血漿中放射能の 21.0%を占めた。それ以外には，未変化体のピリジン N-グルクロン酸抱合体（PF 06924938，M1a），M6（ピリジン N-オキシド体）およ

び M2a（ピラゾール N-脱メチル体）が血漿中に認められ，血漿中放射能のそれぞれ 8.0%，4.5%および 2.3%を占めた。その他の血漿中代謝物はいずれも血漿中放射能の 2%未満であった。

糞中に認められた主な成分は未変化体であり，投与量の 9.1%を占めた。主代謝物は M2a であり，投与量の 6.4%を占め，脂肪族基の水酸化体（M5）は投与量の 2.4%であった。糞中に主代謝物として M1a が検出された被験者は 1 例のみであり，投与量の 13.6%を占めた。また，未同定の抱合体が別の被験者 1 例でのみ糞便試料中に検出され，投与量の 7.2%を占めた。

尿中に最も多く認められた成分は M6，次いで M1a であり，それぞれ投与量の 16.3%および 10.9%を占めた。M8 および M2a は，それぞれ投与量の 5.1%および 2.3%を占め，M8 のラクトン体（M9）は投与量の 0.5%であった。排泄物中のその他の代謝物はいずれも投与量の 2%未満であった。

以上の結果から，ヒトに経口投与された[^{14}C]ロルラチニブは広範に代謝されることが示唆された。構造が同定・推定された代謝物の大部分はロルラチニブの環構造を保持しており，5.6%程度が数段階の代謝を受け環構造が開裂して M8 およびそのラクトン体として尿中に排泄されると考えられた。

なお，環構造が開裂することにより放射性元素を標識したカルボニル部位を含まない代謝物も生成することから，ピラゾール環に標識した[^{14}C]ロルラチニブを用いた臨床試験も実施中である。

5.1.3.2. 生体内光学異性化の検討

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_090034

B7461001 試験の 6 例から採取したヒト血漿を用いて生体内での光学異性化が生じる可能性について検討した。超臨界流体クロマトグラフィによりロルラチニブとその鏡像異性体である PF-06657018 を光学分割して定量したところ，検出された PF-06657018 はロルラチニブの 1%未満であり，ロルラチニブの生体内での光学異性化はほとんど生じないことが示唆された。

5.1.3.3. リファンピシン併用試験における血漿中代謝物

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_113346

リファンピシンとロルラチニブの薬物相互作用試験（B7461011 試験）で 12 例から採取したヒト血漿を用いてリファンピシン併用時における血漿中代謝物について検討した。本試験のロルラチニブ単独投与期間とその後のリファンピシン併用期間中に血漿試料を採取し，肝酵素（AST）が高値を示した群（500 IU/L 超，n=6）とそれ以外の群（500 IU/L 未満，n=6）に分けて血漿試料をプールし，血漿中のロルラチニブの代謝物を LC/MS により分析した。各群の各期間の血漿中におけるロルラチニブ関連物質のプロファイルは類似しており，いずれも未変化体，ピリジン N-グルクロン酸抱合体（M1a），ピラゾール N-脱メチル体（M2a）およびそのグルクロン酸抱合体（M3a），アミド N-脱メチル体（M2b），ピリジン N-オキシド体（M6）ならびに安息香酸体（M8）が検出され，未同定の代謝物は認められなかった。ロルラチニブの単独投与期間およびリファンピシン併用期間のいずれにおいても，各代謝物は未変化体よりも低値を示し，リファンピシンとの併用により顕著に増加する代謝物は認められなかった。

5.1.4. ヒトと動物の代謝物の比較

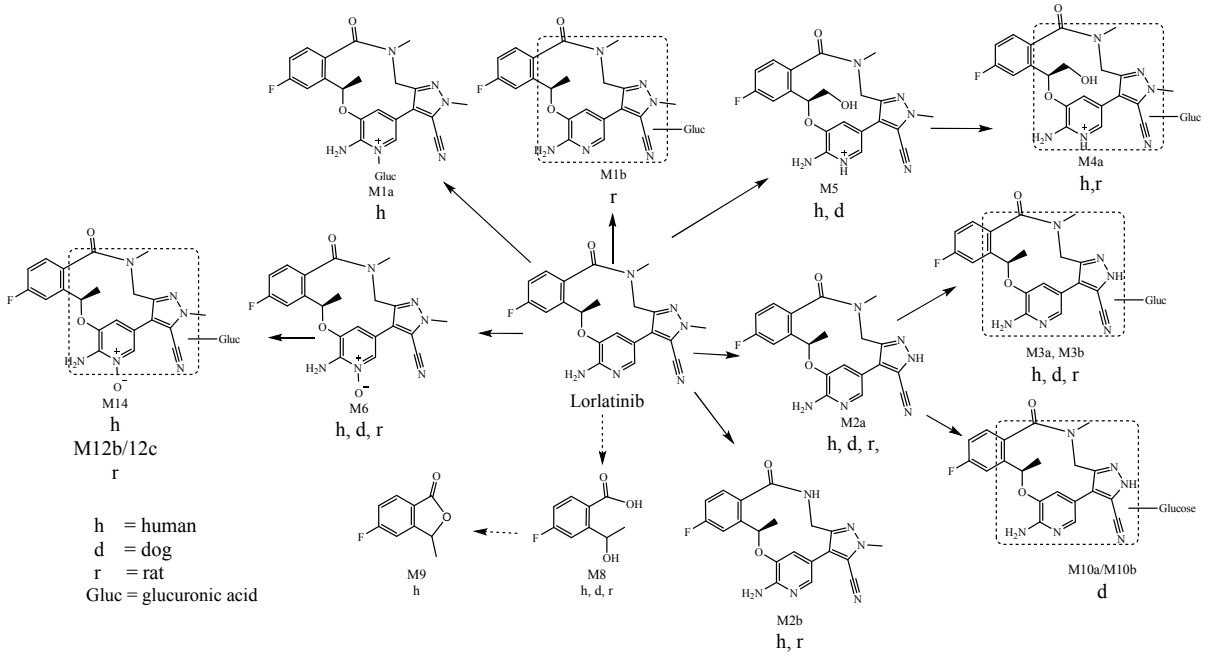
ラット，イヌおよびヒトの血漿中および排泄物中で認められた代謝物の推定構造ならびに推定代謝経路を Figure 2 に示す。

ヒトに[^{14}C]ロルラチニブ 100 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，血漿中放射能の 44.4%を占めた。ヒト血漿中における主代謝物は安息香酸体である M8 で，血漿中放射能の 21.0%を占めたが，排泄された量としては尿中に投与量の 5.6%（そのラクトン体も含む）認められたのみであった。一方，ラットおよびイヌの 13 週間毒性試験において, M8 は血漿中に検出されたものの曝露量は低値を示し（2.6.4.3.2.1 項, 2.6.4.3.2.2 項）, B7461001 試験で定量された M8 濃度よりも顕著に低かったことから，この代謝物は不均衡性代謝物に該当すると考えられた。しかしながら，ロルラチニブは進行性の非小細胞肺癌の治療薬として開発中であること，上述したようにヒト血漿中の主成分は未変化体であること，ラットおよびイヌ血漿中からも M8 が検出されていること，また，M8 は in vitro において薬理作用を有さないこと（2.6.2.2.1.1.3 項）を鑑みると，ICH S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」に関する質疑応答集（案）にもあるように，M8 の追加毒性評価を実施する必要性は低いと考えた。

ヒト血漿中で認められたその他の代謝物（M1a，M2a，M2b および M6）はいずれも血中放射能の 10%未満であった。これらの代謝物は M1a を除きラットまたはイヌの血漿中でも認められ，M1a もアシルグルクロン酸抱合体ではなく，ICH M3(R2) 「医薬品の臨床試験およ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。

以上のことから，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。

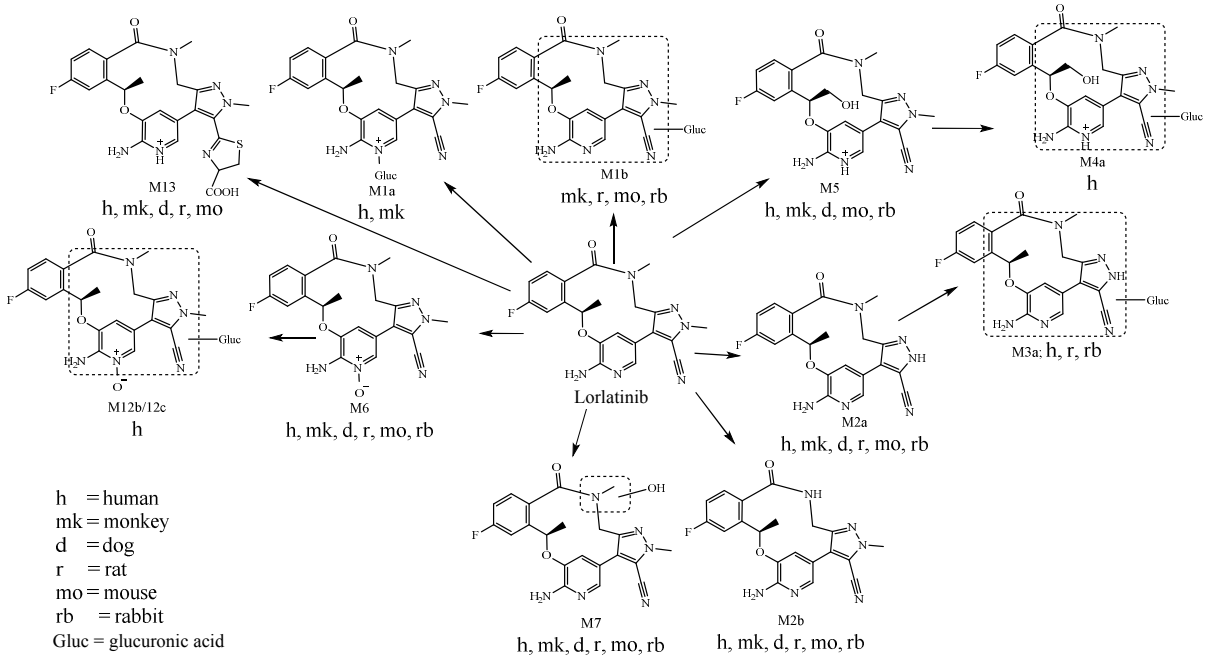
Figure 2.　ロルラチニブのラット，イヌおよびヒトにおける血漿中ならびに排泄物中代謝物



5.2. In vitro

マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サルおよびヒトの肝ミクロソームおよび肝細胞を用いたロルラチニブの in vitro 代謝試験を実施した。また，[^{14}C]ロルラチニブを用いたリファンピシン処理および非処理のヒト肝細胞における in vitro 代謝を検討した。これらの in vitro 代謝試験で認められた代謝物の推定構造ならびに推定代謝経路を Figure 3 に示す。さらに，ヒトに[^{14}C]ロルラチニブ 100 mg を単回経口投与したときの主要代謝経路は，酸化およびグルクロン酸抱合であったことから，ロルラチニブの代謝に関与する CYP および UGT 分子種を同定するための in vitro 代謝試験を実施した。

Figure 3.　マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サルおよびヒトの肝ミクロソームならびに肝細胞におけるロルラチニブの推定代謝経路



5.2.1. 肝ミクロソームおよび肝細胞を用いた in vitro 代謝

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_094132，概要表 2.6.5.10-A

ロルラチニブ（10 µmol/L）をマウス，ラット，ウサギ，イヌ，サルおよびヒトのミクロソームならびに肝細胞とインキュベートしてロルラチニブの in vitro 代謝について検討した。

ロルラチニブは in vitro であまり代謝されなかったが，評価した動物種における主要な代謝経路は酸化およびグルクロン酸抱合であり，未変化体のグルクロン酸抱合体である M1a（サルおよびヒト肝細胞）および M1b（マウス，ラット，ウサギおよびサル肝細胞），N-脱メチル体である M2a（すべての動物種の肝細胞および肝ミクロソーム）および M2b（マウス，ラット，ウサギおよびヒト肝細胞ならびにすべての動物種の肝ミクロソーム）ならびに一酸素付加体である M5，M6 および M7 が一次代謝物として生成した。二次代謝物として上述した一次代謝物のグルクロン

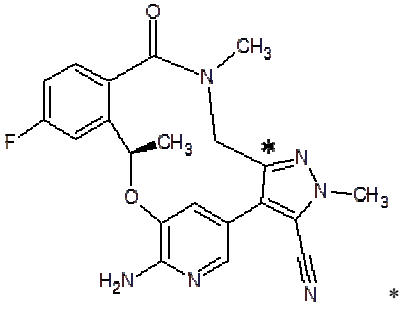
酸抱合体である M3a，M4a，M12b および M12c が生成した。ヒトの肝ミクロソームおよび肝細胞で生成した酸化的代謝物は，毒性試験に用いたラット，ウサギおよびイヌの肝ミクロソームまたは肝細胞でも生成した。ヒト血漿中の主代謝物である M8（安息香酸体）はヒトの肝ミクロソームおよび肝細胞では認められなかったが，ロルラチニブは in vitro であまり代謝されず，この代謝物が複数段階の代謝により生成するためと推測された。

5.2.2. リファンピシン処理および非処理ヒト肝細胞を用いた in vitro 代謝

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_015951，概要表 2.6.5.10-B

放射性同位元素の標識位置が異なる 2 種の[^{14}C]ロルラチニブ（3 µmol/L）をリファンピシン処理または非処理ヒト肝細胞とインキュベートしてロルラチニブの代謝に及ぼすリファンピシンの影響について in vitro で検討した。いずれの標識体を基質として用いた場合も，リファンピシン処理と非処理の肝細胞により生成した代謝物プロファイルに差はみられなかった。リファンピシン非処理のヒト肝細胞を用いた in vitro 代謝試験において，投与量の 1%未満ながら細胞残渣に薬物由来の放射性成分が検出されたことから，代謝活性化が生じることが示唆された。

Figure 4.　ピラゾール環標識[^{14}C]ロルラチニブ（PF-06463922）の構造



*：^{14}C 標識位置

5.3. 代謝に関与する CYP 分子種の同定

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_095521，PF-06463922_[redacted]_123802，概要表 2.6.5.10-C

ロルラチニブの酸化的代謝に関与する CYP 分子種について，CYP1A2（Furafylline），CYP2B6（Phencyclidine），CYP2C8（Gemfibrozil Glucuronide），CYP2C9（Tienilic acid），CYP2C19（Esomeprazole），CYP2D6（Paroxetine），CYP3A（Troleandomycin）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，ヒト肝細胞でのロルラチニブの代謝における CYP の寄与率は約 67%と算出された。ロルラチニ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 37%と見積もられ，CYP2C19 および CYP2C8 もロルラチニブの酸化的代謝に関与することが示唆された（報告書番号 PF-06463922_[redacted]_095521）。

また，ヒトで認められるロルラチニブの 2 種の主な酸化代謝物である N-オキシド体およびピラゾール N-脱メチル体の生成に関与する CYP 分子種について検討したところ，N-オキシド体の生

成には CYP3A4 が，ピラゾール N-脱メチル体の生成には主として CYP3A4 および CYP3A5 が関与し，後者の生成には CYP2C8，CYP2C19 および CYP1A2 も関与することが示唆された（報告書番号 PF-06463922_[redacted]_123802）。

5.4. 代謝に関与する UGT 分子種の特定

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_060322，概要表 2.6.5.10-D

グルクロン酸抱合はロルラチニブのヒトにおける主代謝経路であったことから，ロルラチニブのグルクロン酸抱合に関与する UGT 分子種について，13 種類のヒト遺伝子組換え UGT 分子種（UGT1A1，UGT1A3，UGT1A4，UGT1A6，UGT1A7，UGT1A8，UGT1A9，UGT1A10，UGT2B4，UGT2B7，UGT2B10，UGT2B15 および UGT2B17）ならびにヒト肝ミクロソームを用いて in vitro で検討した。

ロルラチニブと UGT1A3 および UGT1A4 をインキュベートしたとき，未変化体のグルクロン酸抱合体である M1a の生成が認められ，この時のクリアランスはそれぞれ 0.19 µL/min/mg protein および 2.45 µL/min/mg protein と算出された。また，UGT1A4 の阻害剤である hecogenin により肝ミクロソームにおけるロルラチニブの減少および M1a の生成はそれぞれ 84%および 86%減少した。これらの結果から，ロルラチニブのグルクロン酸抱合に関与する主な分子種は UGT1A4 であり，UGT1A3 も関与することが示唆された。

6. 排泄

6.1. ラット

報告書番号 8321366，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 Wistar Han ラットに[^{14}C]ロルラチニブを 10 mg/kg（約 200 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[^{14}C]ロルラチニブを単回経口投与し，投与後 168 時間まで排泄物（尿および糞便）を採取したときの放射能回収率は，雄で投与量の 98.8%，雌で 96.5%であった。放射能の主要排泄経路は糞中排泄で，雄で投与量の 82.4%，雌で 76.5%が回収された。尿中排泄率は，雄で投与量の 13.6%，雌で 17.6%であった。投与放射能の大部分は，雄で投与後 48 時間以内，雌で 72 時間以内に排泄された。

胆管カニューレ挿入ラットに[^{14}C]ロルラチニブを単回経口投与し，投与後 48 時間まで胆汁，尿および糞を採取したときの放射能回収率は，雄で 95.4%，雌で 96.3%であった。胆汁中への放射能排泄率は，雄で投与量の 47.6%，雌で 27.2%であった。尿中および糞中への放射能排泄率は，雄で投与量のそれぞれ 22.4%および 20.5%，雌でそれぞれ 18.8%および 36.5%であった。胆汁中と尿中に排泄された放射能から，投与した[^{14}C]ロルラチニブの少なくとも雄で 70.0%および雌で 46.0%は吸収されたと考えられた。

6.2. イヌ

報告書番号 8321367，概要表 2.6.5.13-B

雌雄ビーグル犬に[^{14}C]ロルラチニブを 10 mg/kg（約 20 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[^{14}C]ロルラチニブを単回経口投与し，投与後 168 時間まで排泄物（尿および糞便）を採取したときの放射能回収率は，雄で 89.0%，雌で 93.1%であった。放射能の主要排泄経路は糞中排泄で，雄で投与量の 53.0%，雌で 72.0%が回収された。尿中排泄率は，雄で投与量の 25.5%，雌で 18.6%であった。投与した放射能の大部分は，投与後 72 時間までに排泄された。

6.3. ヒト

報告書番号 8330018，概要表 2.6.5.13-C

外国人健康男性被験者に[^{14}C]ロルラチニブ 100 mg（約 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 288 時間まで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 88.6%であり，尿中排泄率は投与量の 47.7%，糞中排泄率は 40.9%であった。なお，ヒトにおける未変化体の尿中排泄率は投与量の 2%未満（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 のロルラチニブ消失への寄与は小さいと考えられた。このことから，ロルラチニ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

ICH S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」に関する質疑応答集（案）において，非臨床試験において乳汁および胎盤移行試験を行う必要は特にないとの見解が示されており，ICH S9 が適用される今回の申請においてロルラチニブの乳汁移行性を評価する意義は低いと考えたことから，その乳汁中排泄について検討するための非臨床試験は実施していない。一般に薬物の乳汁中排泄には pH 分配などに基づく受動的な輸送および薬物トランスポーターを介した能動的な輸送が関与し，前者は脂溶性，pKa，血漿蛋白結合率，分子量など薬物の物理化学的性質により規定され，後者は BCRP などの薬物トランスポーターが関与し，乳汁排泄の種差の一因となると考えられている[3]。ロルラチニブは BCRP の基質とはならないものの，その物理化学的性質（pH7 における LogD : 2.47，pKa : 4.92，ヒト血漿中での非結合型分率 : 0.340，分子量 : 406.41）を考慮すると，ロルラチニブが乳汁中に排泄される可能性を否定することはできないと考えられる。

以上のことから，添付文書（案）にて「授乳中の女性に投与することは避け、やむを得ず投与する場合には本剤投与中および本剤の最終投与後少なくとも 7 日間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

ロルラチニブが 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. ロルラチニブ

報告書番号 [redacted]5018，PF-06463922_[redacted]_160350，PF-06463922_[redacted]_145029，概要表 2.6.5.12-A，2.6.5.12-B，2.6.5.15-H，2.6.5.15-I

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，7 種類の CYP 分子種（CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 および CYP3A4/5）に対するロルラチニ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，ロルラチニブ（0.1 µmol/L～100 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。ロルラチニブは評価した濃度範囲において CYP2C9 および CYP3A4/5 を除くいずれの CYP 分子種も阻害せず，50%阻害濃度（IC_{50} 値）は 100 µmol/L 超（Ki 値として 50 µmol/L 超）であったが，CYP2C9 ならびに CYP3A4/5（テストステロン 6β-水酸化活性，ミダゾラム 1'-水酸化活性およびニフェジピン酸化活性を指標）に対してはそれぞれ IC_{50} 値 44 ならびに 23，10 および 22 µmol/L（Ki 値としてそれぞれ 22 ならびに 11.5，5 および 11 µmol/L）で可逆的阻害能を示した（報告書番号 [redacted]5018，概要表 2.6.5.12-A）。

ヒト肝ミクロソームを用いて，ロルラチニブ（0.1 µmol/L～100 µmol/L）の CYP 分子種（CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 および CYP3A4/5）に対する時間依存的阻害作用について評価した。ロルラチニブは CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 および 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，ロルラチニブを NADPH 存在下で 30 分間プレインキュベーションしたところ，CYP3A4/5 に対する IC_{50} 値は 28，14 および 25 倍（それぞれテストステロン 6β-水酸化活性，ミダゾラム 1'-水酸化活性およびニフェジピン酸化活性を指標）低下した（報告書番号 [redacted]5018，概要表 2.6.5.12-A）。

ヒト肝ミクロソームを用いて，ロルラチニブによる CYP3A4/5 に対する時間依存的阻害作用についてテストステロン 6β-水酸化活性およびミダゾラム 1'-水酸化活性を指標としてさらに精査した。ロルラチニブによるミダゾラム 1'-水酸化活性に対する時間依存的阻害の K_I および k_{inact} はそれぞれ 2.81 µmol/L および 0.218 min^{-1} であった。ロルラチニブはテストステロン 6β-水酸化活性に対して時間依存的阻害を示したが，評価した濃度範囲で阻害は飽和せず，不活化速度も非常に速やかであったことから K_I および k_{inact} は算出できなかった（報告書番号 PF-06463922_[redacted]_160350，概要表 2.6.5.12-B）。

ヒト肝細胞を用いて，ロルラチニブによる CYP3A4/5 に対する時間依存的阻害作用についてミダゾラム 1'-水酸化活性を指標としてさらに評価したところ，k_{inact} および K_I はそれぞれ 0.081 min^{-1} および 7.92 µmol/L であった（報告書番号 PF-06463922_[redacted]_145029，概要表 2.6.5.12-B）。

以上の結果から，ロルラチニブは in vitro において CYP3A4/5 に対する時間依存的阻害を示すことが示された。なお，ロルラチニブはヒト肝細胞中において，PXR および CAR1 を活性化し，CYP3A4 に対する誘導能も示し（2.6.4.7.2 項），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ロルラチニブを併用投与した臨床試験においては，ミダゾラムのAUC はロルラチニブの 1 日 1 回 25 mg または 150 mg の反復投与によりそれぞれ 51.3 ng·h/mL から 20.4 ng·h/mL または 36.5 ng·h/mL から 14.4 ng·h/mL に減少した（2.7.2.2.2.2.1 項）。

ヒトにロルラチニブ 100 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 576.5 ng/mL（1.42 µmol/L，非結合型として 0.483 µmol/L）である（2.7.2.2.2.2.1 項）。上述した in vitro 試験で得られた Ki 値に基づくと，総濃度を用いた場合には CYP3A4/5 を除く CYP1A2，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が（概要表 2.6.5.15-H），非結合型濃度を用いた場合には CYP2C9 も阻害する可能性が示された（概要表 2.6.5.15-I）。一方, ロルラチニブは CYP2C9 の発現を調節する PXR[4]を活性化することから（2.6.4.7.2 項），ヒト生体内で CYP2C9 の阻害作用を示すか誘導作用を示すかは不明であり，実施中の CYP2C9 の基質薬であるトルブタミドと併用する臨床試験において評価している。

7.1.2. PF-06895751

報告書番号 [redacted]5083，PF-06895751_[redacted]_032126，概要表 2.6.5.12-C，2.6.5.12-D，2.6.5.15-J，2.6.5.15-K

PF-06895751（安息香酸体）はヒト血漿中の薬物関連物質の 21.0%を占めた代謝物であることから（2.6.4.5.1.3 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 CYP3A4/5）に対する PF-06895751 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-06895751（0.1 µmol/L～100 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。PF-06895751 は評価した濃度範囲においていずれの分子種に対しても IC_{50} 値は 100 µmol/L 超（Ki 値として 50 µmol/L 超）とほとんど阻害しなかった（報告書番号 [redacted]5083，概要表 2.6.5.12-C）。Ki 値およびヒトにロルラチニブ 100 mg を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態における PF-06895751 の C_{max}（総濃度として 193.7 ng/mL = 1.05 µmol/L，非結合型濃度として 0.217 µmol/L，2.7.2.2.2.2.1 項）に基づき，PF-06895751 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（概要表 2.6.5.15-J，2.6.5.15-K）。

ヒト肝ミクロソームを用いて，PF-06895751（0.1 µmol/L～100 µmol/L）の CYP 分子種（CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 および CYP3A4/5）に対する時間依存的阻害作用について評価した。PF-06895751 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, PF-06895751 を NADPH 存在下で 30 分間プレインキュベーションしたところ，ミダゾラム 1'-水酸化活性およびテストステロン 6β-水酸化活性を指標とした CYP3A4/5 に対する時間依存的阻害が認められた（報告書番号 [redacted]5083，概要表 2.6.5.12-C）。

ヒト肝ミクロソームを用いて，PF-06895751（3 µmol/L～300 µmol/L）による CYP3A4/5 に対する時間依存的阻害作用についてテストステロン 6β-水酸化活性およびミダゾラム 1'-水酸化活性を指標としてさらに精査した。PF-06895751 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-水酸化活性に対する時間依存的阻害はそれぞれ 300 µmol/L および 94.9 µmol/L 以上の濃度で認められ，K_I および k_{inact} は算出できなかった（報告書番号 PF-06895751_[redacted]_032126，概要表 2.6.5.12-D）。

7.2. CYP 誘導

7.2.1. ロルラチニブ

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_125344，概要表 2.6.5.12-E

3 ロットの凍結ヒト肝細胞を用いて，CYP1A2，CYP2B6 および CYP3A4 の mRNA 発現または酵素活性に対するロルラチニブの誘導能を 0.03 µmol/L～125 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），CYP3A4 にはリファンピシン（10 µmol/L）を用いた。

3 ロットの肝細胞のいずれにおいてもロルラチニブは評価した濃度範囲で CYP3A4 の mRNA 発現を濃度依存的に誘導し，0.03 µmol/L～0.5 µmol/L の範囲でその酵素活性（ミダゾラム 1'-水酸化）を濃度依存的に誘導した。3 ロットの肝細胞のいずれにおいてもロルラチニブは 0.5 µmol/L 以上の濃度で CYP2B6 の mRNA 発現を濃度依存的に誘導し，0.3 µmol/L～3 µmol/L の範囲でその酵素活性（bupropion 水酸化）を濃度依存的に誘導した。3 ロット中 2 ロットの肝細胞においてロルラチニブは評価した濃度範囲で CYP1A2 の mRNA 発現を誘導せず，他の 1 ロットでは 50 µmol/L 以上の濃度で 2 倍以上 mRNA 発現を上昇させた。3 ロットの肝細胞のいずれにおいてもロルラチニブは CYP1A2 の酵素活性（フェナセチン O-脱アルキル化）を誘導しなかった。

以上の in vitro 試験の結果から，ロルラチニブが臨床において CYP3A4 および CYP2B6 の誘導を介した薬物動態学的薬物相互作用を引き起こす可能性が示唆された。臨床での薬物相互作用試験において，ロルラチニブの 1 日 1 回反復経口投与により CYP3A4 の基質薬であるミダゾラムの AUC が低下したことは in vitro 試験の結果と整合した。なお，ロルラチニブが CYP2B6 の基質薬である bupropiona の血漿中濃度に及ぼす影響については，実施中の臨床試験において評価している。

ヒトにロルラチニブ 100 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 576.5 ng/mL（1.42 µmol/L，非結合型として 0.483 µmol/L）である。上述したヒト肝細胞を用いた in vitro 試験において，ロルラチニブは非結合型 C_{max} の 50 倍（24.2 µmol/L）以上である 30 µmol/L まで CYP1A2 に対する 2 倍以上の誘導作用を示さず，mRNA の上昇がみられた 1 ロットの肝細胞においても酵素活性の上昇は認められなかったことから，臨床で想定される濃度のロルラチニブが CYP1A2 を誘導する可能性は低いと考えられた。

7.2.2. PF-06895751

報告書番号 PF-06895751_[redacted]_104203，概要表 2.6.5.12-F

3 ロットの凍結ヒト肝細胞を用いて，CYP1A2，CYP2B6 および CYP3A4 の mRNA 発現または酵素活性に対する PF-06895751 の誘導能を 1 µmol/L～1000 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），CYP3A4 にはリファンピシン（10 µmol/L）を用いた。

3 ロットの肝細胞のいずれにおいても PF-06895751 は評価した濃度範囲で CYP3A4 の mRNA 発現をほぼ濃度依存的に誘導したが，3 ロット中 2 ロットの肝細胞における上昇は 4 倍未満であった。3 ロットの肝細胞のいずれにおいても評価した濃度範囲でその酵素活性（ミダゾラム 1'-水酸化）を 2 倍以上上昇させなかった。3 ロットの肝細胞のいずれにおいても PF-06895751 は評価した濃

度範囲で CYP2B6 の mRNA 発現をほぼ濃度依存的に誘導し，132 µmol/L 以上の濃度では mRNA 発現および酵素活性（bupropion 水酸化）の 2 倍以上の上昇もみられた。3 ロットの肝細胞のいずれにおいても PF-06895751 は CYP1A2 の mRNA 発現および酵素活性（フェナセチン O-脱アルキル化）を 2 倍以上上昇させなかった。

ヒトにロルラチニブ 100 mg を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態における PF-06895751 の C_{max} は 193.7 ng/mL（1.05 µmol/L，非結合型濃度として 0.217 µmol/L）である。3 ロットいずれの肝細胞においても CYP2B6 または CYP3A4 の mRNA 発現の 2 倍または 4 倍の上昇は，いずれも非結合型 C_{max} の 50 倍（11 µmol/L）以上である 88 µmol/L または 296 µmol/L までみられておらず，臨床で想定される濃度の PF-06895751 が CYP1A2，CYP2B6 および CYP3A の誘導を介した薬物動態学的薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

7.2.3. ロルラチニブによる PXR および CAR1 の活性化

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_020056，PFZ_20[redacted]_100，概要表 2.6.5.12-G

凍結ヒト肝細胞を用いた試験において認められたロルラチニブによる CYP3A4 および CYP2B6 の誘導作用の機序について検討するための in vitro 試験を実施した。CYP3A4 および CYP2B6 の発現はそれぞれ主として PXR および CAR により調節されていると考えられている [4] ことから，これらの受容体の発現細胞を用いてロルラチニブによる活性化の有無について検討した。ロルラチニブは評価した濃度範囲（0.01 µmol/L～100 µmol/L）で濃度依存的に PXR を活性化し，そのときの EC_{50} 値および E_{max} 値はそれぞれ 2.85 µmol/L および 13.8 倍であった。これらの値は既知の PXR アゴニストであるリファンピシンと同等（それぞれ 2.76 µmol/L および 13 倍）であった。ロルラチニブは評価した濃度範囲（0.01 µmol/L～50 µmol/L）で濃度依存的に CAR1 を最大 6.46 倍活性化した。陽性対照であるフェノバルビタール（3.1 µmol/L～750 µmol/L）および CITCO（0.005 µmol/L～20 µmol/L）による活性化はそれぞれ最大 3.05 倍および 22.46 倍であった。これらの結果から，ロルラチニブは PXR および CAR1 を活性化し，これらがヒト肝細胞でみられた CYP3A4 および CYP2B6 の誘導に寄与していると考えられた。

7.3. UGT 阻害

7.3.1. ロルラチニブ

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_112051，概要表 2.6.5.12-H，2.6.5.15-L，2.6.5.15-M

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 分子種に対するロルラチニブの阻害能を 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），ジドブジン（UGT2B7）およびオキサゼパム（UGT2B15）を用いた。

2%ウシ血清アルブミンの非存在下では，ロルラチニブは UGT1A4，UGT1A6，UGT1A9，UGT2B7 および UGT2B15 に対する可逆的阻害作用をほとんど示さなかったが，UGT1A1 に対する IC_{50} 値は 46 µmol/L であった。2%ウシ血清アルブミンの存在下では，ロルラチニブは UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9 および UGT2B15 に対する可逆的阻害作用をほとんど示さなかったが，UGT1A1 および

UGT2B7 の IC_{50} 値はそれぞれ 37 および 64 µmol/L（非結合型としてそれぞれ 31 および 53 µmol/L）[a] であった。

上述の検討で得られた Ki 値（IC_{50} 値/2）およびヒトにロルラチニブ 100 mg を 1 日 1 回反復投与したときの C_{max}（総濃度として 1.42 µmol/L，非結合型として 0.483 µmol/L）に基づき，ロルラチニブがこれらの UGT 分子種を阻害する可能性は，総濃度を用いた場合には低いことが示されたが（概要表 2.6.5.15-L），非結合型濃度を用いた場合には UGT1A1 を阻害する可能性が示された（概要表 2.6.5.15-M）。なお，ロルラチニブは UGT1A1 の発現に関与する PXR[4] を活性化したことから，ヒト生体内での UGT1A1 に対する影響は不明であり，実施中の UGT1A1 の基質薬であり癌患者でも使用可能なアセトアミノフェンと併用する臨床試験において評価している。

7.3.2. PF-06895751

報告書番号 PF-06895751_[redacted]_095326，概要表 2.6.5.12-I，2.6.5.15-N，2.6.5.15-O

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 PF-06895751 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），ジドブジン（UGT2B7）およびオキサゼパム（UGT2B15）を用いた。

2%ウシ血清アルブミンの存在下，非存在下のいずれにおいても，PF-06895751 は UGT1A1，UGT1A4，UGT1A6，UGT1A9，UGT2B7 および UGT2B15 に対する可逆的阻害作用をほとんど示さなかった。これらの結果から，臨床で想定される濃度の PF-06895751 が評価した各 UGT 分子種の阻害を介した薬物動態学的薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた（概要表 2.6.5.15-N，2.6.5.15-O）。

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

7.4.1.1. ロルラチニブ

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_093100，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に対するロルラチニブ（0.1 µmol/L～300 µmol/L または 0.00955 µmol/L～300 µmol/L）の阻害能を P-gp または BCRP を発現させた MDCKII 細胞（または MDCKII-LE 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（12 µmol/L）およびピタバスタチン（2 µmol/L）を用いた。P-gp および BCRP に対する陽性対照として，それぞれ PSC833（10 µmol/L）および Ko143（10 µmol/L）を用いた。ロルラチニブは 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，IC_{50} 値は 2.99 µmol/L であった。一方，BCRP を介したピタバスタチンの輸送は評価した最高濃度の 300 µmol/L でのみ阻害され，IC_{50} 値は 94.9 µmol/L 超と推定された。この試験で用いたジゴキシンの基質濃度は Km 値より明らかに

[a] 2%ウシ血清アルブミン中におけるロルラチニブの非結合型分率：0.83

小さく，P-gp および BCRP に対する Ki 値はそれぞれ 2.99 µmol/L および 47.5 µmol/L 超とした。臨床で想定される消化管中濃度（100 mg/250 mL = 984 µmol/L）に基づくとロルラチニブが P-gp および BCRP を阻害する可能性が考えられた（概要表 2.6.5.15-C，2.6.5.15-D）。In vitro 試験において，ロルラチニブは P-gp の発現を調節する PXR[4] を活性化したことから，ヒト生体内で P-gp を阻害するか誘導するかは不明であり，実施中の P-gp の基質薬であるフェキソフェナジンと併用する臨床試験において評価している。

7.4.1.2. PF-06895751

報告書番号 PF-06895751_[redacted]_121128，概要表 2.6.5.15-E，2.6.5.15-F，2.6.5.15-G

排出トランスポーターに対する PF-06895751（0.0412 µmol/L～268 µmol/L）の阻害能を P-gp または BCRP を発現させた MDCKII 細胞（または MDCKII-LE 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[^{3}H]ジゴキシン（10.1 µmol/L）およびピタバスタチン（0.5 µmol/L）を用いた。P-gp および BCRP に対する陽性対照として，それぞれ PSC833（10 µmol/L）および Ko143（10 µmol/L）を用いた。PF-06895751 は P-gp および BCRP を介したジゴキシンおよびピタバスタチンの双方向輸送を阻害せず，Ki 値はいずれも 268µmol/L 超と推定され，臨床用量のロルラチニブを投与したときに生成する PF-06895751 が P-gp および BCRP を阻害する可能性は低いと考えられた（概要表 2.6.5.15-F，2.6.5.15-G）。

7.4.2. 肝取り込みトランスポーター阻害

7.4.2.1. ロルラチニブ

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_093100，概要表 2.6.5.15-B，2.6.5.15-C，2.6.5.15-D

肝取り込みトランスポーターに対するロルラチニブ（0.412 µmol/L～300 µmol/L または 0.016 µmol/L～50 µmol/L）の阻害能を OATP1B1，OATP1B3 および OCT1 を発現した HEK293 細胞を用いた in vitro 輸送系で検討した。OATP1B1 および OATP1B3 の典型的基質としてロスバスタチン（5 µmol/L）を，OCT1 の典型的基質として[^{14}C]メトホルミン（20 µmol/L）用いた。OATP1B1 および OATP1B3 ならびに OCT1 に対する陽性対照として，それぞれ Rifamycin SV（10 µmol/L）ならびにキニジン（500 µmol/L）を用いた。ロルラチニブは OATP1B1，OATP1B3 および OCT1 を濃度依存的に阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 32.6，100 超および 4.21 µmol/L であった。この試験で用いた OCT1 の基質として用いたメトホルミン濃度は Km 値より明らかに小さく，OATP1B1，OATP1B3 および OCT1 に対する Ki 値はそれぞれ 16.3，50 超および 4.21 µmol/L とした。臨床における$[I]_{u,inlet,max}$（5.74 µmol/L）に基づくと$[I]_{u,inlet,max}/K_i$ 値はいずれも 0.1 以上となり，臨床で想定される濃度のロルラチニブがこれらのトランスポーターを阻害する可能性が考えられた（概要表 2.6.5.15-C，2.6.5.15-D）。

7.4.2.2. PF-06895751

報告書番号 PF-06895751_[redacted]_121128，概要表 2.6.5.15-E，2.6.5.15-F，2.6.5.15-G

肝取り込みトランスポーターに対する PF-06895751（0.368 µmol/L～268 µmol/L または 0.016 µmol/L～50 µmol/L）の阻害能を OATP1B1，OATP1B3 および OCT1 を発現した HEK293 細胞を用いた in vitro 輸送系で検討した。OATP1B1 および OATP1B3 の典型的基質としてロスバスタチン（5 µmol/L）を，OCT1 の典型的基質として[^{14}C]メトホルミン（20 µmol/L）用いた。OATP1B1

および OATP1B3 ならびに OCT1 に対する陽性対照として，それぞれ Rifamycin SV（10 µmol/L）ならびにキニジン（500 µmol/L）を用いた。PF-06895751 は OATP1B1，OATP1B3 および OCT1 を濃度依存的に阻害せず，評価した最高濃度における阻害はそれぞれ 27.3%，28.6%および 11%であった（IC_{50} 値：286 µmol/L 超または 50 µmol/L 超）。この試験で用いた OCT1 の基質として用いたメトホルミン濃度は Km 値より明らかに小さく，OATP1B1，OATP1B3 および OCT1 に対する Ki 値はそれぞれ 134 超，134 超および 50 µmol/L 超とした。臨床における非結合型 C_{max}（0.217 µmol/L）に基づくと非結合型 C_{max}/K_i 値はいずれも 0.1 未満であり，臨床用量のロルラチニブを投与したときに生成する PF-06895751 が OATP1B1，OATP1B3 および OCT1 を阻害する可能性は低いと考えられた（概要表 2.6.5.15-F，2.6.5.15-G）。

7.4.3. 腎トランスポーター阻害

7.4.3.1. ロルラチニブ

報告書番号 PF-06463922_[redacted]_093100，概要表 2.6.5.15-B，2.6.5.15-C，2.6.5.15-D

腎トランスポーターに対するロルラチニブ（0.0122 µmol/L～50 µmol/L）の阻害能を OAT1, OAT3, OCT2，MATE1 および MATE2K を発現させた HEK293 細胞を用いた in vitro 輸送系で検討した。OAT1 および OAT3 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）および[^{3}H]エストロン-3-硫酸（0.2 µmol/L）を，OCT2，MATE1 および MATE2K の典型的基質としていずれも[^{14}C]メトホルミン（10 µmol/L～25 µmol/L）を用いた。OAT1 および OAT3，OCT2 ならびに MATE1 および MATE2K に対する陽性対照として，それぞれプロベネシド（500 µmol/L），キニジン（500 µmol/L）ならびにシメチジン（1000 µmol/L）を用いた。ロルラチニブは OAT1，OCT2 および MATE2K を阻害しなかった（IC_{50} 値：50 µmol/L 超）。一方，ロルラチニブは OAT3 および MATE1 を濃度依存的に阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 2.72 µmol/L および 3.71 µmol/L であった。この試験で用いた基質濃度は OAT1 のパラアミノ馬尿酸を除き Km 値より明らかに小さく，OAT1, OAT3，OCT2，MATE1 および MATE2K に対する Ki 値はそれぞれ 25 超，2.72，50 超，3.71 および 50 µmol/L 超とした。臨床における非結合型 C_{max}（0.483 µmol/L）に基づくと非結合型 C_{max}/K_i 値は OAT3 では 0.1 以上，MATE1 では 0.02 以上となり，臨床で想定される濃度のロルラチニブがこれらのトランスポーターを阻害する可能性が考えられたが，OAT1，OCT2 および MATE2K を阻害する可能性は低いと考えられた（概要表 2.6.5.15-C，2.6.5.15-D）。

7.4.3.2. PF-06895751

報告書番号 PF-06895751_[redacted]_121128，概要表 2.6.5.15-E，2.6.5.15-F，2.6.5.15-G

腎トランスポーターに対する PF-0689575（0.0122 µmol/L～50 µmol/L または 0.024 µmol/L～100 µmol/L）の阻害を OAT1，OAT3，OCT2，MATE1 および MATE2K を発現させた HEK293 細胞を用いた in vitro 輸送系で検討した。OAT1 および OAT3 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）および[^{3}H]エストロン-3-硫酸（0.2 µmol/L）を，OCT2，MATE1 および MATE2K の典型的基質としていずれも[^{14}C]メトホルミン（10 µmol/L～25 µmol/L）を用いた。OAT1 および OAT3，OCT2 ならびに MATE1 および MATE2K に対する陽性対照として，それぞれプロベネシド（1000 µmol/L），キニジン（500 µmol/L）ならびにシメチジン（1000 µmol/L）を用いた。PF-06895751 は OAT1，OAT3，OCT2，MATE1 および MATE2K を濃度依存的に阻害せず，評価した最高濃度における阻害はそれぞれ 11.3%，14.1%，16.9%，12.9%および 8.1%であった（IC_{50} 値：50 µmol/L 超または 100 µmol/L 超）。この試験で用いた基質濃度は OAT1 のパラア

ミノ馬尿酸を除き Km 値より明らかに小さく，OAT1，OAT3，OCT2，MATE1 および MATE2K に対する Ki 値はそれぞれ 50 超，100 超，100 超，50 超および 50 µmol/L 超とした。臨床における非結合型 C_{max}（0.217 µmol/L）に基づくと非結合型 C_{max}/K_i 値はいずれも 0.1 未満であり，臨床用量のロルラチニブを投与したときに生成する PF-06895751 が OAT1，OAT3，OCT2，MATE1 および MATE2K を阻害する可能性は低いと考えられた（概要表 2.6.5.15-F，2.6.5.15-G）。

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. 考察および結論

ロルラチニブを単回投与後の血漿中濃度推移について毒性試験で用いた動物種であるラットおよびイヌを用いて検討したところ，静脈内投与後の CL_{tot} はそれぞれ 15.5 mL/min/kg および 9.05 mL/min/kg といずれも低値を示し，V_{ss}（それぞれ 2.66 L/kg および 2.80 L/kg）はいずれも総体液量を上回り，$t_{½}$はそれぞれ 2.71 時間および 4.62 時間であった。経口バイオアベイラビリティはラットでは 100%超，イヌでも 96.6%といずれも良好であった。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，曝露量は用量にほぼ比例して増加し，ラットでは雌の方が雄より 2～3 倍程度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。ラットおよびイヌのいずれにおいても反復投与によるロルラチニブの顕著な蓄積は認められなかった。ヒト血漿中の主代謝物である M8（PF-06895751）の曝露量はいずれの用量においても未変化体と比較して顕著に低かった。In vitro 試験の結果から，ロルラチニブが P-gp，BCRP，OATP1B1 および OATP1B3 の基質となる可能性は低いことが示された。

[^{14}C]ロルラチニブを有色ラット（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た。放射能濃度はブドウ膜で最も高く，見かけの $t_{½}$ 287 時間で消失した。[^{14}C]ロルラチニブ由来放射能は血液脳関門を通過し，脳室周囲以外の中枢神経系組織で投与後 24 時間においても検出された。このことはラットを用いた中枢移行性試験ならびにラットおよびイヌの 4 週間反復投与毒性試験において脳および CSF 中のロルラチニブ濃度が検出されたことと符合するものであり，ロルラチニブが血液脳関門を通過することが示された。マウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒト血漿に対するロルラチニブの f_u は 0.239～0.358 であった。ロルラチニブのマウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトの赤血球および血漿へほぼ均等に分布した。

ロルラチニブの主な代謝経路はラットとヒトでは酸化およびグルクロン酸抱合，イヌでは酸化であり，ヒトにおける主要な酸化的代謝はラットおよびイヌにおいてもみられた。ヒト血漿中の主な成分は未変化体であり，主代謝物である安息香酸体の M8（PF-06895751）は薬物関連物質の血漿中総量の 21.0%を占めたが，排泄された量としては尿中に投与量の 5.6%（そのラクトン体も含む）認められたのみであった。ラットおよびイヌの 13 週間毒性試験においても，M8 はヒトよりも顕著に低い曝露量であったが血漿中から検出されており，M8 の追加毒性評価を実施する必要性は低いと考えた。ヒトに経口投与された[^{14}C]ロルラチニブは広範に代謝されたが，構造が同定・推定された代謝物の大部分はロルラチニブの環構造を保持しており，5.6%程度が数段階の代謝を受け環構造が開裂して M8 およびそのラクトン体として尿中に排泄されると考えられた。ロルラチニブをマウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトの肝ミクロソームならびに肝細胞とインキュベートしたところ，いずれの in vitro 系においてもロルラチニブはあまり代謝されなかったが，ヒトの肝ミクロソームおよび肝細胞で生成した酸化的代謝物は，毒性試験に用いた動物種の肝ミクロソームまたは肝細胞でも生成した。ロルラチニブの酸化的代謝およびグルクロン酸抱合に関与する主な分子種は CYP3A4 および UGT1A4 であり，それぞれ CYP2C19，CYP2C8 および CYP3A5 ならびに UGT1A3 も関与することが示唆された。

リファンピシンとロルラチニブの併用試験において肝機能検査値の上昇が認められたことから，リファンピシン処理と非処理の肝細胞による代謝について検討したところ，両者により生成した代謝物プロファイルに差はみられなかった。この in vitro 代謝試験において，投与量の 1%未満ながら細胞残渣に薬物由来の放射性成分が検出されたことから，代謝活性化が生じることが示唆されたが，リファンピシンとロルラチニブの併用試験において認められた肝機能検査値の上昇との

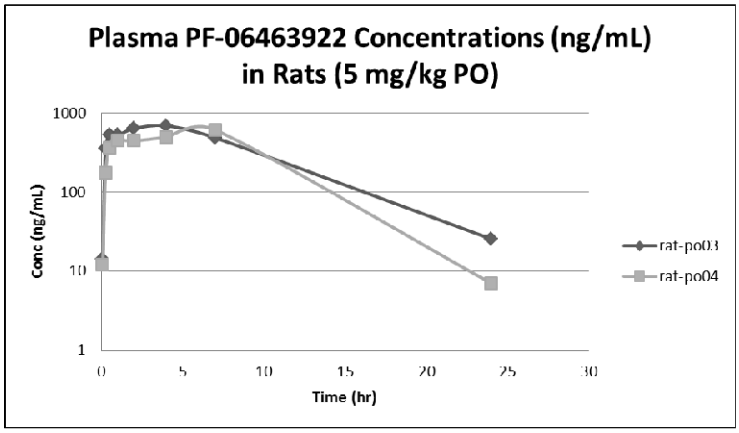
関連性は不明である。複数のキナーゼ阻害薬（ダサチニブ，エルロチニブ，エベロリムス，ゲフィチニブ，イマチニブ，ラパチニブ，ニロチニブ，ソラフェニブおよびスニチニブ等）でも in vitro で代謝活性化が生じることが知られている[5]。しかしながら，ロルラチニブでみられたようなリファンピシンとの併用による肝機能検査値の上昇は，他の各キナーゼ阻害薬とリファンピシン（ラパチニブではカルバマゼピン）を反復投与した臨床薬物相互作用試験ではみられていない[6,7,8,9,10,11,12,13,14]。

ラットおよびイヌにおいて，[^{14}C]ロルラチニブ由来の放射能は主として糞中に排泄されたが，ヒトにおける糞中および尿中への放射能の排泄率はそれぞれ投与量の 40.9%および 47.7%であった。

In vitro 試験において，ロルラチニブは CYP3A4/5 の可逆的および時間依存的な阻害作用ならびに誘導作用を示したが，CYP3A4 の基質薬であるミダゾラムとの併用した臨床試験では CYP3A4/5 の誘導作用を示した。ロルラチニブは in vitro では CYP2C9 の阻害作用を示したが，その発現を調節する PXR を活性化し，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C19 および CYP2D6 をほとんど阻害しなかった。また，ロルラチニブによる CYP3A4 および CYP2B6 の誘導がみられたが，これには PXR および CAR1 の活性化が寄与していることが示唆された。臨床で想定される濃度において CYP1A2 を誘導する可能性は低いと考えられた。ロルラチニブは UGT1A1 を可逆的に阻害した。ロルラチニブは，BCRP（消化管以外），OAT1，OCT2 および MATE2K の阻害を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いが, P-gp, BCRP（消化管）, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OAT3 および MATE1 を阻害する可能性が考えられた。PF-06895751 が，評価した 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は低いと考えられた。

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。



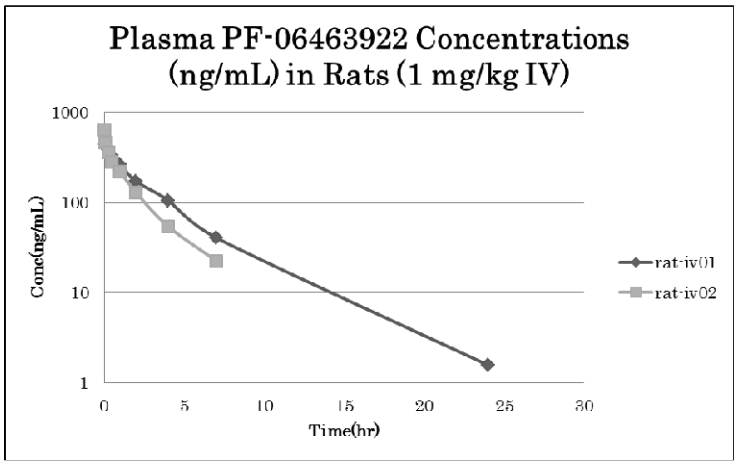


Figure 5.　雄ラットにロルラチニブを単回投与したときの血漿中ロルラチニブ濃度推移（n=2）
（出典：報告書番号PF-06463922_[redacted]_120541）

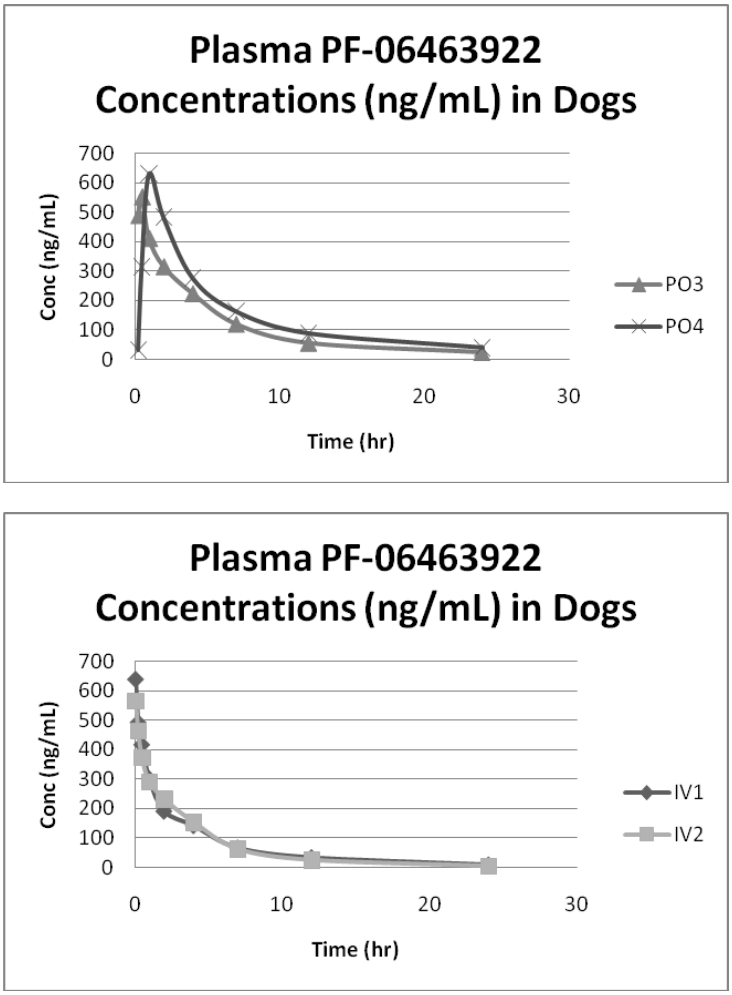


Figure 6.　雄イヌにロルラチニブを単回投与したときの血漿中ロルラチニブ濃度推移（n=2）
（出典：報告書番号PF-06463922_[redacted]_121134）

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.

[3] Ito N, Ikebuchi Y, Toyoda Y, et al. Prediction of Drug Transfer into Milk Considering Breast Cancer Resistance Protein (BCRP)-Mediated Transport. Pharm Res. 2015;32(8):2527-37.

[4] Urquhart BL, Tirona RG, Kim RB. Nuclear receptors and the regulation of drug-metabolizing enzymes and transporters: Implications for interindividual variability in response to drugs. J Clin Pharmacol 2007;47:566-78.

[5] Kenny JR, Mukadam S, Zhang C, et al. Drug-drug interaction potential of marketed oncology drugs: In vitro assessment of time-dependent cytochrome P450 inhibition, reactive metabolite formation and drug-drug interaction prediction. Pharm Res 2012;29:1960-76.

[6] Hamilton M, Wolf JL, Drolet DW, et al. The effect of rifampincin, a prototypical CYP3A4 inducer, on erlotinib pharmacokinetics in healthy subjects. Cancer Chemother Pharmacol 2014;73:613-21.

[7] Kovarik JM, Hartmann S, Figueiredo J, et al. Effect of rifampin on apparent clearance of everolimus. Ann Pharmacother 2002;36:981-5.

[8] Swaisland HC, Ranson M, Smith RP, et al. Pharmacokinetic drug interactions of gefitinib with rifampicin, itraconazole, and metoprolol. Clin Pharmacokinet 2005;44(10):1067-81.

[9] Bolton AE, Peng B, Hubert M, et al. Effect of rifampicin on the pharmacokinetics of imatinib mesylate (Gleevec, STI571) in healthy subjects. Cancer Chemother Pharmacol 2004;53:102-6.

[10] Smith DA, Koch KM, Arya N, et al. Effects of ketoconazole and carbamazepine on lapatinib pharmacokinetics in healthy subjects. Br J Clin Pharmacol 2009;67(4):421-6.

[11] Tanaka C, Yin OQP, Smith T, et al. Effects of rifampin and ketoconazole on the pharmacokinetics of nilotinib in healthy participants. J Clin Pharmacol 2011;51:75-83.

[12] Sprycel (Dasatinib) [United States Package Insert] 2010.

[13] Nexavar (sorafenib) [United States Package Insert] 2010.

[14] Sutent (sunitinib malate) [United States Package Insert] 2015.

TABLE OF CONTENTS

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW 3
2.6.5.2-A. OVERALL SUMMARY OF NON-CLINICAL ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS 8
2.6.5.2-B. SUMMARY OF LORLATINIB NON-CLINICAL ANALYTICAL METHOD VALIDATION PARAMETERS 9
2.6.5.2-C. SUMMARY OF PF-06897571 NON-CLINICAL ANALYTICAL METHOD VALIDATION PARAMETERS 10
2.6.5.2-D. SUMMARY OF NON-CLINICAL PHARMACOKINETIC AND TOXICOKINETIC STUDIES WITH ASSOCIATED BIOANALYTICAL METHODS 11
2.6.5.3-A. PHARMACOKINETICS: ABSORPTION IN RATS AFTER A SINGLE DOSE 12
2.6.5.3-B. PHARMACOKINETICS: ABSORPTION IN DOGS AFTER A SINGLE DOSE 13
2.6.5.5-A. PHARMACOKINETICS: BRAIN DISTRIBUTION IN RATS 14
2.6.5.5-B. PHARMACOKINETICS: RAT ORGAN DISTRIBUTION 15
2.6.5.6-A. PHARMACOKINETICS: PROTEIN BINDING 18
2.6.5.6-B. PHARMACOKINETICS: PROTEIN BINDING 19
2.6.5.8. PHARMACOKINETICS: RED BLOOD CELL DISTRIBUTION 20
2.6.5.9-A. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN RATS 21
2.6.5.9-B. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN DOGS 22
2.6.5.9-C. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN HUMAN VOLUNTEERS 23
2.6.5.10-A. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO 24
2.6.5.10-B. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO: RIFAMPIN-INDUCED HUMAN HEPATOCYTES 25
2.6.5.10-C. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO: CYP ENZYME PHENOTYPING 26
2.6.5.10-D. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO: UGT ENZYME KINETICS 27
2.6.5.11-A. PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS ACROSS SPECIES PLASMA AND EXCRETA 28
2.6.5.11-B. PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS ACROSS SPECIES IN LIVER MICROSOMES AND HEPATOCYTES 29
2.6.5.12-A. PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF CYP ENZYMES 30
2.6.5.12-B. PHARMACOKINETICS: TIME-DEPENDENT INHIBITION OF CYP ENZYMES 31
2.6.5.12-C. PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF CYP ENZYMES 32
2.6.5.12-D. PHARMACOKINETICS: TIME-DEPENDENT INHIBITION OF CYP ENZYMES 33
2.6.5.12-E. PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES 34
2.6.5.12-F. PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES 36
2.6.5.12-G. PHARMACOKINETICS: MECHANISMS FOR INDUCTION OF CYP ENZYMES 38
2.6.5.12-H. PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF UGT ENZYMES 39

2.6.5.12-I. PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF UGT ENZYMES 40
2.6.5.13-A. PHARMACOKINETICS: EXCRETION IN RAT 41
2.6.5.13-B. PHARMACOKINETICS: EXCRETION IN DOG 42
2.6.5.13-C. PHARMACOKINETICS: EXCRETION IN HUMAN 43
2.6.5.14. PHARMACOKINETICS: EXCRETION INTO RAT BILE 44
2.6.5.15-A. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER SUBSTRATE 45
2.6.5.15-B. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION 46
2.6.5.15-C. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION RISK ASSESSMENT, FDA 47
2.6.5.15-D. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION RISK ASSESSMENT, EMA 48
2.6.5.15-E. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION 49
2.6.5.15-F. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION RISK ASSESSMENT, FDA 50
2.6.5.15-G. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION RISK ASSESSMENT, EMA 51
2.6.5.15-H. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, CYP INHIBITION, FDA 52
2.6.5.15-I. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, CYP INHIBITION, EMA 53
2.6.5.15-J. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, CYP INHIBITION, FDA 54
2.6.5.15-K. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, CYP INHIBITION, EMA 55
2.6.5.15-L. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, UGT INHIBITION, FDA 56
2.6.5.15-M. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, UGT INHIBITION, EMA 57
2.6.5.15-N. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, UGT INHIBITION, FDA 58
2.6.5.15-O. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, UGT INHIBITION, EMA 59

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: Lorlatinib

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number
Method Validation Reports				
	Rat	NA	[redacted][a]	15-1270
	Rat	NA	[redacted][b]	[redacted]1714VSMB_PGC_R1
	Rat	NA	Pfizer Inc[c]	PF-06895751_[redacted]_035233
	Rabbit	NA	[redacted][b]	[redacted]1717VSMB_PGC
	Dog	NA	[redacted][a]	15-1271
	Dog	NA	[redacted][b]	[redacted]1720VSMB_PGC
	Dog	NA	Pfizer Inc[c]	PF-06895751_[redacted]_035032
Absorption				
In Vivo Absorption and Pharmacokinetics				
Single-Dose Lorlatinib PK	Male Rats, (Wistar Han)	Oral (5 mg/kg) Intravenous (1 mg/kg)	[redacted][d]	PF-06463922_[redacted]_120541
Single-Dose Lorlatinib PK	Male Dogs, (Beagle)	Oral (2 mg/kg) Intravenous (1 mg/kg)	Pfizer Inc[e]	PF-06463922_[redacted]_121134
Repeated Dose Toxicokinetics				
4-Week Oral Lorlatinib Toxicity Study with 1-Month Recovery [[redacted]GR341]	Male and Female Rats, (Wistar-Han)	Oral (1, 4, and 15 mg/kg/day Females and 2, 8, and 30 mg/kg/day Males)	Pfizer Inc[f]	[redacted]GR341
13-Week Oral Lorlatinib Toxicity Study with 1-Month Recovery [[redacted]LJ022][g]	Male and Female Rats, (Wistar-Han)	Oral (1, 4, and 15 mg/kg/day Females and 2, 8, and 15 mg/kg/day Males)	[redacted][h]	8001588
4-Week Oral Lorlatinib Toxicity Study with 1-Month Recovery [[redacted]GR342]	Male and Female Dogs, (Beagle)	Oral (2, 7, 25 mg/kg/day)	Pfizer Inc[f]	[redacted]GR342
13-Week Oral Lorlatinib Toxicity Study with 1-Month Recovery [[redacted]LJ023][g]	Male and Female Dogs, (Beagle)	Oral (2, 7, and 25 mg/kg/day)	[redacted][h]	8001589

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: Lorlatinib (continued)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number
Reproductive Toxicology				
Oral Embryo-Fetal Development (GD17) of Lorlatinib [[redacted]GR479]	Female Gravid Rats, (Wistar-Han)	Oral (1, 4, 15, and 30 mg/kg/day)	[redacted]	20090724
Oral Embryo-Fetal Development (GD19) of Lorlatinib [[redacted]GR478]	Female Gravid Rabbits, (New Zealand White)	Oral (1, 4, 15, and 30 mg/kg/day)	[redacted]	20090725
Other Toxicity				
Multiple-Dose Lorlatinib Phototoxicity Study [[redacted]LJ049]	Pigmented Female Rats (Long-Evans)	Oral (1, 4, and 15 mg/kg/day)	[redacted]	20097796
In Vitro Absorption				
Lorlatinib P-gp and BCRP Permeability and Transport	Transfected MDCKII- and MDCKII-LE cells	In Vitro (2 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_135242
Distribution				
Single-Dose Plasma and Brain Concentrations of Lorlatinib	Male Rats (Wistar-Han)	Oral (10 mg/kg)	[redacted]	PF-06463922_[redacted]_114157
Tissue Distribution (WBAL) of [^{14}C]Lorlatinib	Male Rats (Long-Evans)	Oral (10 mg/kg) (~337 µCi/kg)	[redacted]	8308923
Lorlatinib Uptake with human OATP1B1 and OATP1B3	Transfected HEK293 Cells	In Vitro (0.03 to 100 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_102514
Plasma Protein Binding of Lorlatinib	Rat, Dog and Human Plasma	In Vitro (2.4 µM)	[redacted]	ADME-20[redacted]-001-0027
Plasma Protein Binding of Lorlatinib	Mouse and Rabbit Plasma	In Vitro (2 µM)	[redacted]	[redacted]/067/086
Plasma Protein Binding of Lorlatinib	Wistar-Han Rat Plasma	In Vitro (2 µM)	[redacted]	[redacted]/067/144
Protein Binding of Lorlatinib	Human Serum Albumin and α1-Acid Glycoprotein	In Vitro (2 µM)	[redacted]	[redacted]/067/103
Plasma Protein Binding of PF-06895751	Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Plasma	In Vitro (2 µM)	[redacted]	[redacted]067/136
Blood to Plasma Distribution of Lorlatinib	Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Whole Blood	In Vitro (1 µM)	[redacted]	[redacted]/067/087

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: Lorlatinib (continued)

Type of Study	Test System	Type of Study	Test System	Report Number
Metabolism				
In Vivo Metabolism				
Disposition and Metabolite Identification of [^{14}C]Lorlatinib	Male and Female Rats (Wistar-Han)	Oral (10 mg/kg) (~200 µCi/kg)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_112741
Disposition and Metabolite Identification of [^{14}C]Lorlatinib	Male and Female Dogs (Beagle)	Oral (10 mg/kg) (~20 µCi/kg)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_124011
Disposition and Metabolite Identification of [^{14}C]Lorlatinib [CSR; Study B7461004]	Male Humans (Healthy Volunteers)	Oral (100 mg) (100 µCi)	[redacted]	[redacted]/003/297
Chiral Inversion of Lorlatinib [CSR; Study B7461001]	Human Volunteers	Oral (100 mg)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_090034
Identification of Lorlatinib Metabolites [Rifampin DDI study (CSR; Study B7461011)]	Male Humans (Healthy Volunteers)	Oral (100 mg)[m]	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_113346
In Vitro Metabolism				
Preliminary Identification of Lorlatinib Metabolites	Mouse, Rat, Dog, Rabbit, Monkey, and Human Liver Microsomes and Hepatocytes; Rat and Dog Plasma, Rat bile and Urine	In Vitro (10 µM) In Vivo (Rat: 6, 20, and 60 mg/kg/day and Dog: 100 mg/kg/day)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_094132
In Vitro Metabolism of [^{14}C]Lorlatinib in Hepatocytes With and Without Rifampin-Induction	Human Hepatocytes	In Vitro (3 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_015951
Reaction Phenotyping for Lorlatinib with Hepatocyte Relay Method	Human Hepatocytes	In Vitro	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_095521
CYP Enzyme Phenotyping for Lorlatinib	Human Liver Microsomes and Recombinant CYP Enzymes	In Vitro (0.3 to 300 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_123802
UGT Enzyme Phenotyping for Lorlatinib	Human Liver Microsomes and Recombinant UGT Enzymes	In Vitro (5 to 1000 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_060322

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: Lorlatinib (continued)

Type of Study	Test System	Type of Study	Test System	Report Number
Excretion				
Excretion of [^{14}C]Lorlatinib in Plasma, Urine, Bile and Feces	Rats (Wistar-Han) Intact and BDC	Oral (10 mg/kg) (~200 µCi/kg)	[redacted]	8321366
Excretion of [^{14}C]Lorlatinib in Plasma, Urine, and Feces	Dogs (Beagle)	Oral (10 mg/kg) (~20 µCi/kg)	[redacted]	8321367
Excretion of [^{14}C]Lorlatinib in Urine and Feces [CSR; Study B7461004]	Male Humans (Healthy Volunteers)	Oral (100 mg) (100 µCi)	[redacted]	8330018
Pharmacokinetic Drug Interactions				
CYP-Mediated Interactions				
CYP Enzyme Inhibition with Lorlatinib	Human Liver Microsomes	In Vitro (0.1 to 100 µM)	[redacted]	[redacted]5018
CYP Enzyme Time-Dependent Inhibition with Lorlatinib	Human Liver Microsomes	In Vitro (0.3 to 60 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_160350
CYP Enzyme Time-Dependent Inhibition with Lorlatinib	Human Hepatocytes	In Vitro (0.5 to 50 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_145029
CYP Enzyme Inhibition with PF-06895751	Human Liver Microsomes	In Vitro (0.1 to 100 µM)	[redacted]	[redacted]5083
CYP Enzyme Time-Dependent Inhibition with PF-06895751	Human Liver Microsomes	In Vitro (3 to 300 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-064895751_[redacted]_032126
CYP3A4, CYP2B6, and CYP1A2 Induction with Lorlatinib	Human Hepatocytes	In Vitro (0.03 to 125 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_125344
PXR Assay for Induction by Lorlatinib	Human pregnane X receptor reporter system	In Vitro (0.01 to 100 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_020056
Human CAR1 Activation by Phenobarbital and Lorlatinib	hCAR1 Cells	In Vitro (0.01 to 50 µM)	[redacted]	PFZ_20[redacted]_100
CYP3A4, CYP2B6, and CYP1A2 Induction with PF-06895751	Human Hepatocytes	In Vitro (1 to 1000 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-064895751_[redacted]_104203
UGT-Mediated Interactions				
UGT Enzyme Inhibition with Lorlatinib	Human Liver Microsomes	In Vitro (1 to 100 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_112051
UGT Enzyme Inhibition with PF-06895751	Human Liver microsomes	In Vitro (1 to 100 µM)	Pfizer Inc[c]	PF-06895751_[redacted]_095326

2.6.5.1. PHARMACOKINETICS OVERVIEW — Test Article: Lorlatinib (continued)

Type of Study	Test System	Type of Study	Test System	Report Number
Transporter-Mediated Interactions				
Lorlatinib Inhibition of MDR1 (P-gp), BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, and MATE2K Transporters	Transfected MDCKII, MDCKII-LE or HEK293 Cells	In Vitro[p]	Pfizer Inc[c]	PF-06463922_[redacted]_093100
PF-06895751 Inhibition of MDR1 (P-gp), BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, and MATE2K Transporters	Transfected MDCK, MDCKII-LE, or HEK293 Cells	In Vitro[q]	Pfizer Inc[c]	PF-06895751_[redacted]_121128

BCRP = Breast cancer resistance protein (ABCG2); BDC = Bile duct cannulated; CAR =Constitutive androstane receptor; CSR = Clinical study report; CYP = Cytochrome P450; DDI = Drug-drug interaction; GD = Gestation day; Lorlatinib = PF-06463922; HEK293 = Human embryonic kidney cells; MATE = Multidrug and toxic compound extrusion; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDCKII = Madin-Darby canine kidney type II cells; MDCKII-LE = Madin-Darby canine kidney type II- low efflux cells MDR1 = Multidrug resistance protein 1 (P-gp); NA = Not applicable; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8), circulating metabolite in human plasma; P-gp = P-glycoprotein; PK = Pharmacokinetics; PXR = Pregnane X receptor; UGT = Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase; WBAL = Whole body autoradioluminography.

a. [redacted]
b. [redacted]
c. Pfizer Inc; Groton, CT.
d. In-Life and bioanalytical portions of the study conducted at [redacted], China.
e. Both the in-life and bioanalytical portions of the study conducted at Pfizer Inc; Groton, CT.
f. In-Life portion of the study conducted at Pfizer Inc; Groton, CT: bioanalytical portion of the study conducted at [redacted].
g. Quantitation of lorlatinib and PF-06895751.
h. In-Life portion of the study conducted at [redacted], Canada: lorlatinib bioanalytical portion of the study conducted at [redacted] while the PF-06895751 bioanalytical portion of the study conducted at Pfizer Inc; Groton, CT.
i. In-Life portion of he study conducted at [redacted]: bioanalytical portion of the study conducted at [redacted]
j. [redacted]
k. [redacted], China.
l. [redacted] UK.
m. Rifampin was adm nistered as a daily 600 mg dose.
n. [redacted]
o. [redacted]
p. MDR1 (0.1 to 300 µM), BCRP (0.00955 to 300 µM), OATP1B1/1B3 (0.412 to 300 µM), OAT1/3, OCT2, MATE1/2K (0.0122 to 50 µM), and OCT1 (0.0159 to 50 µM).
q. MDR1, BCRP (0.0412 to 268 µM), MATE1/2K (0.0122 to 50 µM), OAT1/3 and OCT2 (0.0244 to 100 µM), OATP1B1/1B3 (0.368 to 268 µM), and OCT1 (0.0159 to 50 µM).

2.6.5.2-A. OVERALL SUMMARY OF NON-CLINICAL ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS

Test Articles: Lorlatinib and PF-06895751

Species	Report Number	Analyte	Report Approval Date	Type of Analytical Method	Matrix/ Anticoagulant	Range (ng/mL)	Comments
Rat	15-1270	Lorlatinib	[redacted]	LC-MS/MS	Plasma[a]/K_2EDTA	0.5 to 1250	Method Validation and Long Term Stability
Rat	[redacted]1714VSMB_PGC_R1	Lorlatinib	[redacted]	LC-MS/MS	Plasma[a]/K_2EDTA	0.5 to 1000	Method Validation
Rat	PF-06895751_[redacted]_035233	PF-06897571	[redacted]	LC-MS/MS	Plasma	2.5 to 2500	Method Validation
Rabbit	[redacted]1717VSMB_PGC	Lorlatinib	[redacted]	LC-MS/MS	Plasma/K_2EDTA	0.5 to 1000	Method Validation
Dog	15-1271	Lorlatinib	[redacted]	LC-MS/MS	Plasma/K_2EDTA	0.5 to 1250	Method Validation and Long Term Stability
Dog	[redacted]1720VSMB_PGC	Lorlatinib	[redacted]	LC-MS/MS	Plasma/K_2EDTA	0.5 to 1000	Method Validation
Dog	PF-06895751_[redacted]_035032	PF-06897571	[redacted]	LC-MS/MS	Plasma	2.5 to 2500	Method Validation

K_2EDTA = Potassium ethylenediaminetetraacetic acid; Lorlatinib = PF-06463922; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8).
a. Wistar Han plasma.

2.6.5.2-B. SUMMARY OF LORLATINIB NON-CLINICAL ANALYTICAL METHOD VALIDATION PARAMETERS

Test Article: Lorlatinib

Validation Report Number	15-1270	[redacted]1714VSMB_PGC_R1	[redacted]1717VSMB_PGC	15-1271	[redacted]1720VSMB_PGC
Species	Rat	Rat	Rabbit	Dog	Dog
Sample	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Method	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Range of Quantitation (ng/mL) [LLOQ-ULOQ]	0.5 to 1250	0.5 to 1000	0.5 to 1000	0.5 to 1250	0.5 to 1000
QC Nominal Concentrations (ng/mL)	0.5, 1.5, 10, 100 and 1000	0.5, 1.5, 22.5, 300 and 750	0.5, 1.5, 22.5, 300 and 750	0.5, 1.5, 10, 100 and 1000	0.5, 1.5, 22.5, 300 and 750
Dilution QC Nominal Concentration (ng/mL)	2500	5000	5000	2500	5000
Inter-day Precision Range (%CV)	4.0 to 8.5[a]	2.9 to 11.2[a]	2.2 to 9.1[a]	0.8 to 5.8[a,b]	2.4 to 7.8[a]
Inter-day Accuracy Range (% RE)	-11.6 to 5.2[a]	-2.6 to 7.8[a]	-3.6 to 3.6[a]	-2.8 to 8.4[a,b]	-0.3 to 3.6[a]
LTS (at -20°C)	112 days	32 days	51 days	91 days	57 days
LTS (at -70°C)	112 days	32 days	51 days	91 days	57 days

CV = Coefficient of variation; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLOQ = Lower limit of quantitation; Lorlatinib = PF-06463922; LTS = Long-term stability; QC = Quality control; RE = Relative error; ULOQ = Upper limit of quantitation.
a. Determined from QC and dilution QC samples.
b. Values represent intra-day precision range (CV%) and accuracy range (% RE).

2.6.5.2-C. SUMMARY OF PF-06897571 NON-CLINICAL ANALYTICAL METHOD VALIDATION PARAMETERS

Test Article: PF-06895751

Validation Report Number	PF-06895751 [redacted] 035233	PF-06895751 [redacted] 035032
Species	Rat	Dog
Sample	Plasma	Plasma
Method	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Range of Quantitation (ng/mL) [LLOQ-ULOQ]	2.5 to 2500	2.5 to 2500
QC Nominal Concentrations (ng/mL)	2.5, 7.5, 150, and 1900	2.5, 7.5, 150, and 1900
Dilution QC Nominal Concentration (ng/mL)	12500	12500
Inter-day Precision Range (%CV)	2.9 to 6.1[a,b]	5.7 to 18.2[a,b]
Inter-day Accuracy Range (% RE)	4.7 to 13.2[a]	-6.8 to 9.2[a,b]
LTS (at -20°C)	260 days	60 days
LTS (at -70°C)	260 days	279 days

CV = Coefficient of variation; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLOQ = Lower limit of quantitation; LTS = Long-term stability; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); QC = Quality control; RE = Relative error; ULOQ = Upper limit of quantitation.
a. Determined from QC and dilution QC samples.
b. Samples from validation batch runs only.

2.6.5.2-D. SUMMARY OF NON-CLINICAL PHARMACOKINETIC AND TOXICOKINETIC STUDIES WITH ASSOCIATED BIOANALYTICAL METHODS

Test Article: Lorlatinib and PF-06895751

Study Description (Study Number) Report Number	Analytical Method Report Number	Type of Analytical Method	Matrix	Quantitation Range (ng/mL)	Regulatory Status
Rat					
Single-Dose PK, PF-06463922_[redacted]_120541	NA	LC-MS/MS	Plasma	1.0 to 2000[a,b]	Characterized Assay
4-Week Oral TK ([redacted]GR341), [redacted]GR341	15-1270	LC-MS/MS	Plasma	0.5 to 1250	Validated Method
	15N-1294B	LC-MS/MS	Brain	0.5 to 1250[b,c]	Characterized Assay
	15N-1294A	LC-MS/MS	CSF	0.5 to 1250[b,d]	Characterized Assay
13-Week Oral TK ([redacted]LJ022), 8001588	[redacted]1714VSMB_PGC_R1 and PF-06895751_[redacted]_035233	LC-MS/MS	Plasma	0.5 to 1000[e] 2.5 to 2500[f]	Validated Method
Oral Phototoxicity ([redacted]LJ049), 20097796	[redacted]1714VSMB_PGC_R1	LC-MS/MS	Plasma	0.5 to 1000	Validated Method
17-Day Oral Embryo TK ([redacted]GR479), 20090724	[redacted]1714VSMB_PGC_R1	LC-MS/MS	Plasma	0.5 to 1000	Validated Method
Rabbit					
7-Day Oral Embryo ([redacted]GR478), 20090725	[redacted]1717VSMB_PGC	LC-MS/MS	Plasma	0.5 to 1000	Validated Method
Dog					
Single-Dose PK, PF-06463922_[redacted]_121134	NA	LC-MS/MS	Plasma	0.5 to 2500[b,g]	Characterized Assay
4-Week Repeat Dose Oral TK ([redacted]GR342), [redacted]GR342	15-1271	LC-MS/MS	Plasma	0.5 to 1250	Validated Method
	15N-1295B	LC-MS/MS	Brain	0.5 to 1250[b,h]	Characterized Assay
	15N-1295A	LC-MS/MS	CSF	0.5 to 1250[b,i]	Characterized Assay
13-Week Oral TK ([redacted]LJ023), 8001589	[redacted]1720VSMB_PGC and PF-06895751_[redacted]_035232	LC-MS/MS	Plasma	0.5 to 1000[e] 2.5 to 2500[f]	Validated Method

CSF = Cerebrospinal fluid; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922; NA = Not available; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); PK = Pharmacokinetic; TK = Toxicokinetics.
a. Analytical details provided in study report (PF-06463922_[redacted]_120541).
b. Determination of concentration data was conducted using a non-validated, characterized LC-MS/MS assay.
c. The analytical qualification details (in study report 15N-1294B) are appended to the [redacted]GR341 Study Report.
d. The analytical qualification details (in study report 15N-1294A) are appended to the [redacted]GR341 Study Report.
e. Lorlatinib (PF-06463922).
f. PF-06895751.
g. The analytical details provided in study report (PF-06463922_[redacted]_121134).
h. The analytical qualification details (in study report 15N-1295B) are appended to the [redacted]GR342 Study Report.
i. The analytical qualification details (in study report 15N-1295A) are appended to the [redacted]GR342 Study Report.

2.6.5.3-A. PHARMACOKINETICS: ABSORPTION IN RATS AFTER A SINGLE DOSE

Test Article: Lorlatinib

Report Number: **PF-06463922_[redacted]_120541**

Species (Strain)	Rat (Wistar Han)	
Sex/Number of Animals	Male/2	
Feeding Condition	Fed	
Vehicle/Formulation	Ethanol:PEG200:water (10:40:50)	
Sample	Plasma	
Assay for Lorlatinib	LC-MS/MS	
Method of Administration	**Oral**	**Intravenous**
Dose	5 mg/kg	1 mg/kg
Mean Lorlatinib PK Parameters		
C_{max} (ng/mL)	651	--
C_0 (ng/mL)	--	735
T_{max} (hour)	5.5	--
AUC_{inf} (ng•hour/mL)	8600	1150
AUC_{last} (ng•hour/mL)	8510	1100
CL (mL/min/kg)	--	15.5
V_{ss} (L/kg)	--	2.66
$t_{½}$ (h)	3.57	2.71
F (%)[a]	150	--

-- = Not determine or not reported; AUC_{inf} = Area under concentration-time curve from time zero to infinity postdose; AUC_{last} = Area under concentration-time curve from time zero to the time of the last measurable concentration; CL = Systemic plasma clearance; C_0 = Concentration back extrapolated at time zero; C_{max} = Maximal plasma concentration; IV = Intravenous; F = Bioavailability; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922; PEG = Polyethylene glycol; PK = Pharmacokinetics; $t_{½}$ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}; V_{ss} = Apparent volume of distribution at steady state.
a. F (%) = ([AUC(Oral)×Dose(IV)]/[AUC(IV)×Dose(Oral)])×100.

2.6.5.3-B. PHARMACOKINETICS: ABSORPTION IN DOGS AFTER A SINGLE DOSE

Test Article: Lorlatinib

Report Number: **PF-06463922_[redacted]_121134**

Species (Strain)	Dog (Beagle)	
Sex/Number of Animals	Male/2	
Feeding Condition	Fasted	
Vehicle/Formulation	Ethanol:PEG200:water (10:40:50)	
Sample	Plasma	
Assay for Lorlatinib	LC-MS/MS	
Method of Administration	**Oral**	**Intravenous**
Dose	2 mg/kg	1 mg/kg
Mean Lorlatinib PK Parameters		
C_{max} (ng/mL)	592	---
C_0 (ng/mL)	---	637
T_{max} (hour)	0.75	---
AUC_{inf} (ng•hour/mL)	3580	1850
AUC_{last} (ng•hour/mL)	3200	1800
CL (mL/min/kg)	---	9.05
V_{ss} (L/kg)	---	2.80
$t_{½}$ (h)	8.06	4.62
F (%)[a]	96.6	---
% Excreted in Urine[b]	---	0.22

-- = Not determine or not reported; AUC_{inf} = Area under concentration-time curve from time zero to infinity postdose; AUC_{last} = Area under concentration-time curve from time zero to the time of the last measurable concentration; CL = Systemic plasma clearance; C_0 = Concentration back extrapolated at time zero; C_{max} = Maximal plasma concentration; IV = Intravenous; F = Bioavailability; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922; PEG = Polyethylene glycol; PK = Pharmacokinetics; $t_{½}$ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}; V_{ss} = Apparent volume of distribution at steady state.

a. F (%) = ([AUC(Oral)×Dose(IV)]/[AUC(IV)×Dose(Oral)])×100.

b. (Total drug concentration in urine/total drug dosed)×100

2.6.5.5-A. PHARMACOKINETICS: BRAIN DISTRIBUTION IN RATS

Test Article: Lorlatinib

Report Number: **PF-06463922_[redacted]_114157**

Species (Strain)	Rat (Wistar-Han)
Sex/Number of Animals	Male/2 per time point
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	Ethanol:PEG200:water (10:40:50)
Sample	Plasma/Brain/CSF
Assay for Lorlatinib	LC-MS/MS
Method of Administration	Oral
Dose	10 mg/kg

Mean Pharmacokinetic Parameters	**C_{max} (ng/mL or ng/g)[a]**	**AUC_{24} (ng•hour/mL or ng•hour/g)[b]**
C_b	1150	7970
$C_{b,u}$[c]	138	956
C_p	1560	12500
$C_{p,u}$[d]	473	3790
CSF	198	1410
$C_{b,u}$[c]/$C_{p,u}$[d,e]	0.29	0.25
$C_{b,u}$[c]/CSF	0.70	0.68
CSF/$C_{p,u}$[d]	0.42	0.37

AUC_{24} = Area under concentration-time curve from time zero to 24 hours postdose; C_b= Concentration in brain; $C_{b,u}$ = Concentration unbound in brain; C_{max} = Maximal concentration; C_p= Concentration in plasma; $C_{p,u}$ = Concentration unbound in plasma; CSF = Cerebrospinal fluid; f_u = Fraction unbound; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922; PEG = Polyethylene glycol.

a. Measured as ng/g in brain or ng/mL in plasma and CSF.

b. Measured as ng•hour/g in brain or ng•hour/mL in plasma and CSF.

c. f_u in brain was 0.12.

d. f_u in plasma was 0.303.

e. Assume volume to weight ratio of 1 mL = 1 gram.

2.6.5.5-B. PHARMACOKINETICS: RAT ORGAN DISTRIBUTION

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib
Report Number: 8308923

Species (Strain)	Rat (Long-Evans)
Sex/Number of Animals	Male/12
Feeding Condition	Fed
Vehicle/Formulation	2 mM Hydrochloric acid in reverse osmosis water
Method of Administration	Oral
Dose	9.97±0.05 mg/kg (337 µCi/kg)
Dose Frequency	Single dose
Radionuclide	[^{14}C]Lorlatinib
Specific Activity	59.7 mCi/mmol
Sampling Time	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 96, 168, 336, 672 hours post dose

Tissues/Organs	C_{max}[a] (ng eq/g)	T_{max} (hour)	T_{last} (hour)	C_{last} (ng eq/g)	AUC_{last}[a] (ng eq•h/g)	$t_{½}$ (hour)
Tissue						
Arterial Wall	9630	1	48	38.6	103000	5.67
Blood	3610	1	24	136	39500	4.31
Bone	360	1	8	189	1750	13.3
Bone Marrow	4380	1	24	141	37800	4.51
Esophagus	4300	1	24	184	42200	4.82
Intervertebral Discs	14500	1	168	37.0	162000	141
Liver	28000	1	336	249	820000	86.9
Lungs	4060	1	24	155	42500	4.41
Lymph Nodes	4180	1	24	154	38200	4.64
Muscle	3980	1	24	87.2	33900	3.97
Myocardium	6990	1	24	184	68300	4.03
Nasal Turbinates	2550	1	672	84.3	168000	419
Skin, Non-pigmented	3910	1	24	117	36400	4.22
Skin, Pigmented	4140	1	96	229	83900	41.3
Spleen	4490	1	168	35.5	49400	94.5
Urinary Bladder	3620	2	24	172	47200	5.01
Adipose						
Abdominal	5330	2	24	173	67800	3.53
Brown	7970	1	24	152	68700	3.85
Reproductive	4860	4	24	159	52400	3.98
Subcutaneous	5090	2	24	102	56400	3.50

2.6.5.5-B. PHARMACOKINETICS: RAT ORGAN DISTRIBUTION

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib
Report Number: 8308923 (continued)

Tissues/Organs	C_{max}[a] (ng eq/g)	T_{max} (hour)	T_{last} (hour)	C_{last} (ng eq/g)	AUC_{last}[a] (ng eq•h/g)	$t_{½}$ (hour)
Central Nervous System						
Cerebellum	1260	0.5	24	29.2	12700	4.05
Cerebrum	1470	0.5	24	42.1	13900	4.39
Medulla	1410	0.5	8	632	8370	5.16
Olfactory Lobe	1240	0.5	24	38.5	12200	4.49
Pituitary	6070	1	24	185	56700	4.36
Spinal Cord	1320	1	8	614	7630	6.02
Gastrointestinal						
Cecum	4570	2	24	611	50800	8.03
Diaphragm	5310	1	24	195	46100	4.96
Large Intestine	3860	1	48	55.2	50000	7.56
Small Intestine	4720	2	24	532	65600	6.41
Stomach	6090	1	24	176	55900	4.24
Glands						
Adrenal	11900	1	24	334	97200	4.37
Bulbo Urethral	5970	1	24	230	55300	4.67
Harderian	9830	1	24	229	77500	4.17
Lacrimal, Exorbital	6820	1	24	168	58900	4.14
Lacrimal, Intraorbital	4680	2	24	154	55100	4.06
Pancreas	6030	1	24	182	54500	4.33
Preputial	6330	8	672	260	463000	299
Salivary	6050	1	24	176	53200	4.33
Sebaceous	7960	4	48	239	150000	8.48
Thymus	3530	1	24	103	31400	4.32
Thyroid	6270	1	672	42.8	126000	497
Ocular						
Eye	9550	4	672	44.2	250000	279
Lens	1460	4	672	33.2	59700	500
Uvea	49800	4	672	250	1440000	287
Vitreous Body	1020	4	24	141	10500	9.08
Urogenital						
Epididymis	4340	1	24	124	38100	4.25

2.6.5.5-B. PHARMACOKINETICS: RAT ORGAN DISTRIBUTION

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib
Report Number: 8308923 (continued)

Tissues/Organs	C_{max}[a] (ng eq/g)	T_{max} (hour)	T_{last} (hour)	C_{last} (ng eq/g)	AUC_{last}[a] (ng eq•h/g)	$t_{½}$ (hour)
Kidney(s)	9380	1	672	49.5	199000	282
Prostate	4400	1	24	144	40800	4.42
Kidney Cortex	9750	1	672	103	269000	342
Kidney Medulla	8910	1	336	69.8	139000	294
Seminal Vesicle	4410	1	24	207	51300	4.50
Testis	2760	1	24	73.1	23300	4.23

AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time zero to the last measurable drug-derived radioequivalent concentration; C_{last} = Last measurable drug-derived radioequivalent concentration; C_{max} = Maximal tissue drug-derived radioequivalent concentration; eq = Equivalents; Lorlatinib = PF-06463922; $t_{½}$ = Apparent terminal half-life; T_{last} = Last time point of measurable drug-derived radioequivalent concentrations; T_{max} = Time of first occurrence of C_{max}.
a. C_{max} and AUC_{last} were rounded to 3 significant figures.

2.6.5.6-A. PHARMACOKINETICS: PROTEIN BINDING

Test Article: Lorlatinib
Report Numbers: ADME-20[redacted]-001-0027, [redacted]/067/144, [redacted]/067/086, [redacted]/067/103

Study System	In Vitro
Test system	Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human plasma
Method	Equilibrium dialysis
Analytical Method	LC-MS/MS
Lorlatinib Concentration	2 or 2.4 µM
Duration of Incubation	6 hours

Species (Strain) and/or Binding Protein	**Fraction Unbound**	
	Geometric Mean[a]	**95% Confidence Interval**
Mouse (CD-1)	0.239	0.219 to 0.262
Rat (Wistar-Han)	0.303	0.254 to 0.363
Rat (Sprague-Dawley)[b]	0.356	0.330 to 0.386
Rabbit (New Zealand White)	0.358	0.272 to 0.472
Dog (Beagle)[b]	0.287	0.267 to 0.312
Human[b]	0.340	0.317 to 0.367
HSA	0.474[c]	0.332 to 0.677
AAG	0.620	0.455 to 0.844

AAG = α1-Acid Glycoprotein; HSA = Human Serum Albumin; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922.
a. Data are mean of 12 replicates.
b. Incubation concentration was 2.4 µM.
c. Data are mean of 11 replicates.

2.6.5.6-B. PHARMACOKINETICS: PROTEIN BINDING

Test Article: PF-06895751
Report Number: [redacted]067/136

Study System	In Vitro
Test system	Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Plasma
Method	Equilibrium dialysis
Analytical Method	LC-MS/MS
PF-06895751 Concentration	2 μM
Duration of Incubation	6 hours

Species (Strain)	Fraction Unbound	
	Geometric Mean[a]	95% Confidence Interval
Mouse (CD-1)	0.440	0.255 to 0.759
Rat (Wistar-Han)	0.210	0.137 to 0.322
Rabbit (New Zealand White)	0.115	0.0850 to 0.154
Dog (Beagle)	0.0936	0.0792 to 0.111
Human	0.207	0.128 to 0.336

LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; PF-06895751 = Benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8).
a. Data are mean of 12 replicates.

2.6.5.8. PHARMACOKINETICS: RED BLOOD CELL DISTRIBUTION

Test Article: Lorlatinib
Report Number: [redacted]/067/087

Study System	In Vitro
Test system	Mouse, Rat, Rabbit, Dog, and Human Whole Blood
Analytical Method	LC-MS/MS
Lorlatinib Concentration	1 μM
Duration of Incubation	1 hour

Species	Cb/Cp (Mean[a] ± SD)	K_p (Mean[a] ± SD)
Mouse (CD-1)	0.776±0.043[b]	0.633±0.070[b]
Rat (Wistar-Han)	0.838±0.088	0.709±0.158
Rabbit (New Zealand White)	1.05±0.08	1.12±0.22
Dog (Beagle)	0.809±0.166	0.675±0.283
Human	0.985±0.123	0.968±0.257

Cb/Cp = Concentration in blood/concentration in plasma; Lorlatinib = PF-06463922; K_p = Partition coefficient calculated as C_{RBC}/Cp where C_{RBC} is the concentration in red blood cells; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; SD = Standard deviation.
a. Data are mean of 4 replicates.
b. Data are mean of 3 replicates.

2.6.5.9-A. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN RATS

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib

Report Number: PF-06463922_[redacted]_112741

Species (Strain)	Rat (Wistar-Han)
Sex/Number of Animals	Male: 10/3/2[a] and Female: 10/3/2[a]
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	2 mM Hydrochloric acid in reverse osmosis water
Method of Administration	Oral
Nominal Dose	10 mg/kg (~200 µCi/kg)
Radionuclide/Test Article	[^{14}C]Lorlatinib Acetic Acid Solvate
Specific Activity of the Dose	19.6 µCi/mg

Metabolite Label	**m/z**	**Mean Percentage of Lorlatinib and Metabolites**							
		Plasma (% of Total Radioactivity)		**Urine (% of Dose)**		**Feces (% of Dose)**		**Bile (% of Total Radioactivity)**	
		0-24 hours postdose		**0-168 hours postdose**		**0-168 hours postdose**		**0-48 hours postdose**	
		Male	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Lorlatinib	407	37.8	70.1	0.9	2.6	8.0	27.8	4.8	10.1
M1b	583	--	--	--	--	--	--	15.2	43.0
M2a (PF-06648706)	393	54.6	25.7	5.0	10.4	55.3	37.5	28.5	4.9
M2b	393	1.9	0.2	--	--	--	--	--	--
M3a	569	--	--	--	--	--	--	8.5	5.3
M3b	569	--	--	--	--	--	--	10.6	5.7
M6 (PF-06923710)	423	--	--	0.5	1.2	--	--	--	--
M8 (PF-06895751)[b]	185	--	--	--	--	--	--	--	--

-- = Not detected; ADME = Absorption, distribution, metabolism, and excretion; Lorlatinib = PF-06463922; M = Metabolite number; m/z = Mass-to-charge ratio; PF-06895751 = Benzoic acid metabolite of lorlatinib.

a. 2 males and 2 females per time point (1, 3, 7, 12, and 24 hours postdose) for plasma, 3 males and 3 females for urine and feces, 2 males and 2 females for bile.

b. PF-06895751 was not detected in the rat [^{14}C]ADME study after a single dose of lorlatinib, but was observed in rat plasma following multiple dose administration of lorlatinib in the 13-week toxicity study (8001588).

2.6.5.9-B. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN DOGS

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib
Report Number: PF-06463922_[redacted]_124011

Species (Strain)	Dog (Beagle)
Sex/Number of Animals	Male/2 and Female/2
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	10 mM Hydrochloric acid in reverse osmosis water
Method of Administration	Oral
Nominal Dose	10 mg/kg (~20 µCi/kg)
Radionuclide/ Test Article	[^{14}C]Lorlatinib Acetic Acid Solvate
Specific Activity of the Dose	1.95 µCi/mg

Metabolite Label	**m/z**	**Mean Percentage of Lorlatinib and Metabolites**					
		Plasma (% of Total Radioactivity)		**Urine (% of Dose)**		**Feces (% of Dose)**	
		0-12 hours postdose		**0-168 hours postdose**		**0-168 hours postdose**	
		Male	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Lorlatinib	407	42.6	23.2	9.0	0.6	1.8	0.7
M2a (PF-06648706)	393	41.6	54.4	3.5	5.0	30.3	44.5
M3a	569	7.0	7.3	5.6	6.2	5.5	3.5
M3b	569	--	--	1.1	0.9	--	--
M8 (PF-06895751)[a]	185	--	--	--	--	--	--
M10a	555	1.8	3.7	2.3	2.4	10.4	14.8
M10b	555	--	--	0.6	0.4	1.7	2.5

-- = Not detected; ADME = Absorption, distribution, metabolism, and excretion; Lorlatinib = PF-06463922; M = Metabolite number; m/z = Mass-to-charge ratio.
a. PF-06895751 was not detected in the dog [^{14}C]ADME study after a single dose of lorlatinib, but was observed in dog plasma following multiple dose administration of lorlatinib in the 13-week toxicity study (8001589).

2.6.5.9-C. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN HUMAN VOLUNTEERS

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib
Report Number: [redacted]/003/297

Subjects	Healthy Male Volunteers
Sex/Number of Subjects	Male/6
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	Aqueous solution
Method of Administration	Oral
Dose	100 mg (100 µCi)
Radionuclide	[^{14}C]Lorlatinib
Specific Activity	1.03 µCi/mg

Metabolite Label	m/z	Mean Percentage of Lorlatinib and Metabolites		
		Plasma (% of Total Radioactivity)	Urine (% of Dose)	Feces (% of Dose)
		0-288 hours postdose[a]	0-168 hours postdose	0-192 hours postdose[b]
Lorlatinib	407	44.4	1.9	9.1
M1a (PF-06924938)	583	8.0	10.9	2.6[c]
M2a (PF-06648706)	393	2.3	2.3	6.4[d]
M3a	569	--	0.6	--
M4a	599	--	0.6	--
M5	423	--	--	2.4[d]
M6 (PF-06923710)	423	4.5	16.3	0.3
M8 (PF-06895751)	185	21.0	5.1	--
M9 (PF-06811569)	167	--	0.5	--
M14	599	--	0.6	--
M15	556	--	--	1.2[e]

-- = Not detected; Lorlatinib = PF-06463922; M = Metabolite number; m/z = Mass-to-charge ratio.
a. All available time points were used to prepare a time-normalized plasma sample.
b. The fecal pool for subject 3 was prepared from 0-168 hours.
c. Value represents 13.6% of dose in the fecal sample from 1 subject, <1% of dose in the fecal samples from the other subjects.
d. Metabolites M2a and M5 co-eluted in some fecal samples.
e. Metabolite was observed in 1 subject (Subject 4) only.

2.6.5.10-A. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO

Test Article: Lorlatinib

Report Number: PF-06463922_[redacted]_094132

Type of Study	Identification of Lorlatinib Metabolites In Vitro
In Vitro Study System	Liver Microsomes and Hepatocytes
Lorlatinib Concentration	10 µM
Duration of Incubation	1 Hour (liver microsomes) and 4 hours (hepatocytes)
Method of Analysis	LC-MS/MS

Metabolite Label	m/z	Relative Abundance											
		Microsomes						Hepatocytes					
		Mouse	Rat	Dog	Rabbit	Monkey	Human	Mouse	Rat	Dog	Rabbit	Monkey	Human
M1a (PF-06924938)	583	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	++	++
M1b	583	--	--	--	--	--	--	+	+	--	++	++	--
M2a (PF-06648706)	393	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
M2b	393	++	++	+	++	++	+	++	++	--	++	--	+
M3a	569	--	--	--	--	--	--	--	++	--	++	--	+
M4a	599	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	++
M5	423	++	--	+	+	++	++	--	--	++	++	--	++
M6 (PF-06923710)	423	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++
M7	423	++	++	++	++	++	++	--	--	+	+	+	--
M12b	599	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	+
M12c	599	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	++
M13	511	--	--	--	--	--	--	+	+	++	--	+	+

-- = Not detected; + = Present in low abundance; ++ = Present in moderate abundance; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922; M = Metabolite number; m/z = Mass to charge ratio.

2.6.5.10-B. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO: RIFAMPIN-INDUCED HUMAN HEPATOCYTES

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib
Report Number: PF-06463922_[redacted]_015951

Type of Study	Evaluation of lorlatinib in vitro metabolism with [^{14}C]radiolabel at two distinct substructure sites
In Vitro Study System	In vitro incubation with un-induced and rifampin-induced HHEP
Lorlatinib Concentration	[^{14}C](carbonyl)-lorlatinib (3 µM) and [^{14}C](pyrazole)-lorlatinib (3 µM)
Duration of Incubation	24 hours
Method of Analysis	LC-MS/MS

Drug Substance	m/z	[^{14}C](carbonyl)-lorlatinib		[^{14}C](pyrazole)-lorlatinib	
		Un-induced HHEP	Rifampin-induced HHEP	Un-induced HHEP	Rifampin-induced HHEP
Lorlatinib	407	49.4	25.1	52.4	24.6
M1a (PF-06924938)	583	24.2	24.9	32.6	36.2
M2a	393	4.2	2.4	2.7	2.3
M2b	393	0.3	0.9	0.1	0.4
M4a	599	3.1	9.3	1.8	6.1
M12c	599	ND	9.5	2.5	7.5
M12b	599	ND	ND	2.3	3.4
M6	423	0.7	0.7	0.8	2.7
U[a]	--	9.0	13.9	4.7	16.9

-- = Not applicable; HHEP = Human hepatocytes; m/z = mass to charge ratio; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922; ND = Not detected; U = Unidentified.
a. Total unidentified radiochemical peaks.

2.6.5.10-C. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO: CYP ENZYME PHENOTYPING

Test Article: Lorlatinib
Report Number: PF-06463922_[redacted]_095521

Type of Study	Evaluate the contribution of individual CYP enzymes and non-CYP enzymes for lorlatinib metabolism
Method	In vitro incubation with pooled HHEP using hepatocyte relay method with chemical inactivators
Lorlatinib Concentration	1 μM
Duration of Incubation	4 hours/relay and 20 hours for ABT incubation
Analytical Method	LC-MS/MS

CYP Enzymes	Positive Control	Inactivator (Concentration)	% Contribution[a] (Positive Control)	$CL_{int,app,scaled}$ (mL/min/kg) (Lorlatinib)	% Contribution (Lorlatinib)
HHEP	--	--	--	6.63	--
1A2	Phenacetin	Furafylline (1 μM)	79-93	6.53	--
2B6	Bupropion	Phencyclidine (10 μM)	78-85	6.10	--
2D6	Dextromethorphan	Paroxetine (2 μM)	96-97	7.61	--
2C8	Amodiaquine	Gemfibrozil Glucuronide (100 μM)	84-89	5.07	8.6
2C9	Diclofenac	Tienilic acid (15 μM)	75-80	6.87	--
2C19	S-Mephenytoin	Esomeprazole (10 μM)	83-92	3.68	21
3A	Midazolam	Troleandomycin (25 μM)	85-93	<1.46	37
HHEP	--	--	--	9.43	--
Pan-CYP	Disopyramide	ABT (1000 μM)	>68	3.14	67[b]

-- = Not applicable; ABT = 1-Aminobenzotriazole; $CL_{int,app,scaled}$ = Clearance, intrinsic apparent scaled; CYP = Cytochrome P450; HHEP = Human hepatocytes; LC-MS/MS = Liquid chromatography tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922.
a. The % contribution = % individual CYP contribution /total % CYP inhibition.
b. The %CYP contribution inhibited by ABT.

2.6.5.10-D. PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO: UGT ENZYME KINETICS

Test Article: Lorlatinib
Report Number: PF-06463922_[redacted]_060322

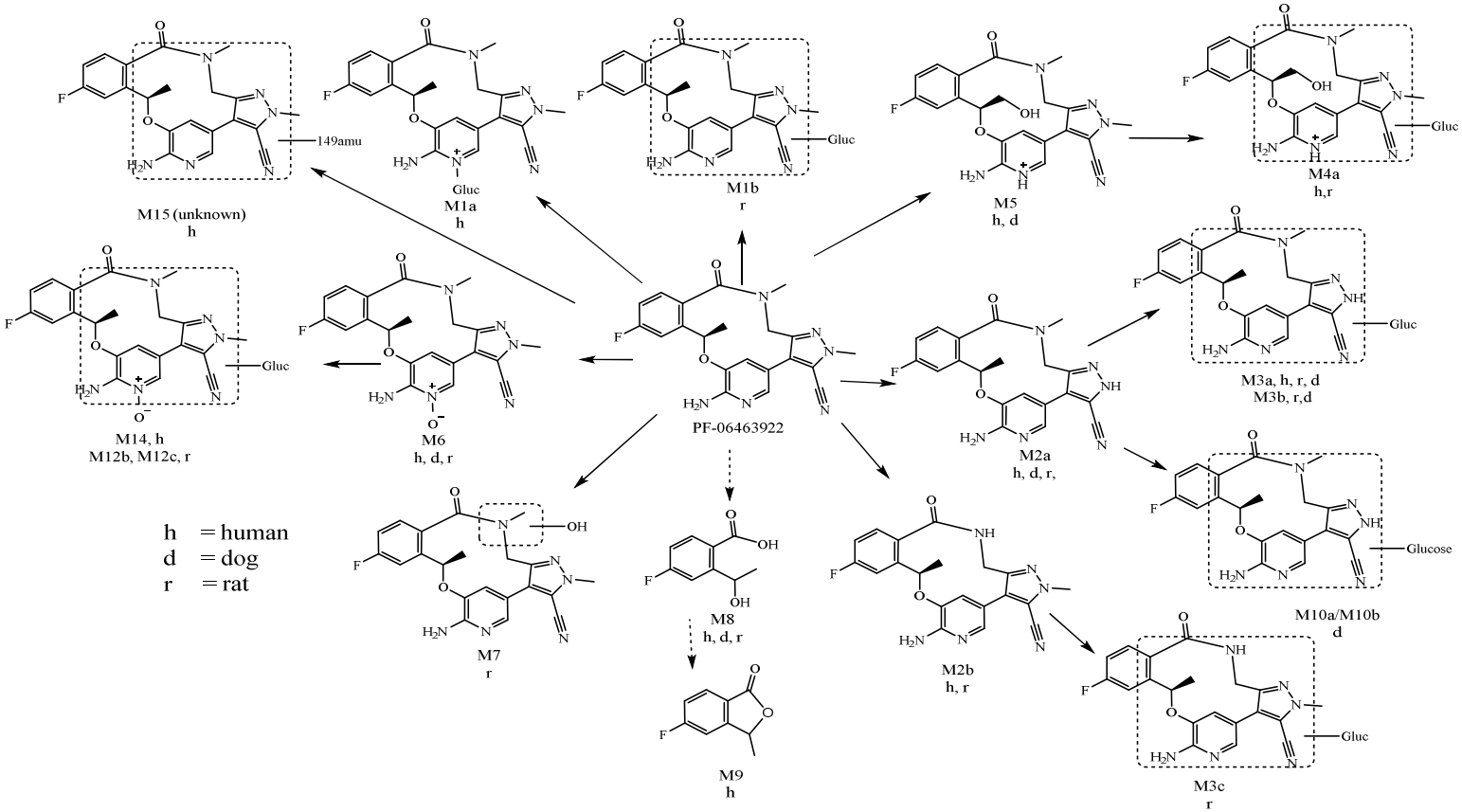
Type of Study	Identification of UGT isoforms contributing to the formation of PF-06924938 (M1a) from lorlatinib.
Method	In vitro incubation of lorlatinib with UDPGA and rhUGT enzymes
Duration of Incubation	1 hour
Analytical Method	LC-MS/MS

rhUGT Isoform	**PF-06924938 (M1a) Formation rate (pmol/min/mg)**		
	40 µM[a]	**200 µM[a]**	**1000 µM[a]**
1A1	ND	ND	ND
1A3	4.62	12.4	11
1A4	41.7	112	146
1A6	ND	ND	ND
1A7	ND	ND	ND
1A8	ND	ND	ND
1A9	ND	ND	ND
1A10	ND	ND	ND
2B4	ND	ND	ND
2B7	ND	ND	ND
2B10	ND	ND	ND
2B15	ND	ND	ND
2B17	ND	ND	ND
Vector control	ND	ND	ND

HLM = Human liver microsomes; K_m = Substrate concentration at half maximal velocity (Michaelis constant); rhUGT = Recombinant human UGT; UDPGA = Uridine-diphosphate-glucuronic acid; UGT = Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase; LC-MS/MS = Liquid chromatography tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922; M1a = PF-06924938: lorlatinib glucuronide; ND = Not detected.
a. Lorlatinib concentrations represent 0.2-fold, 1-fold, and 5-fold the apparent K_m value in HLM after incubation with lorlatinib.

2.6.5.11-A. PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS ACROSS SPECIES PLASMA AND EXCRETA

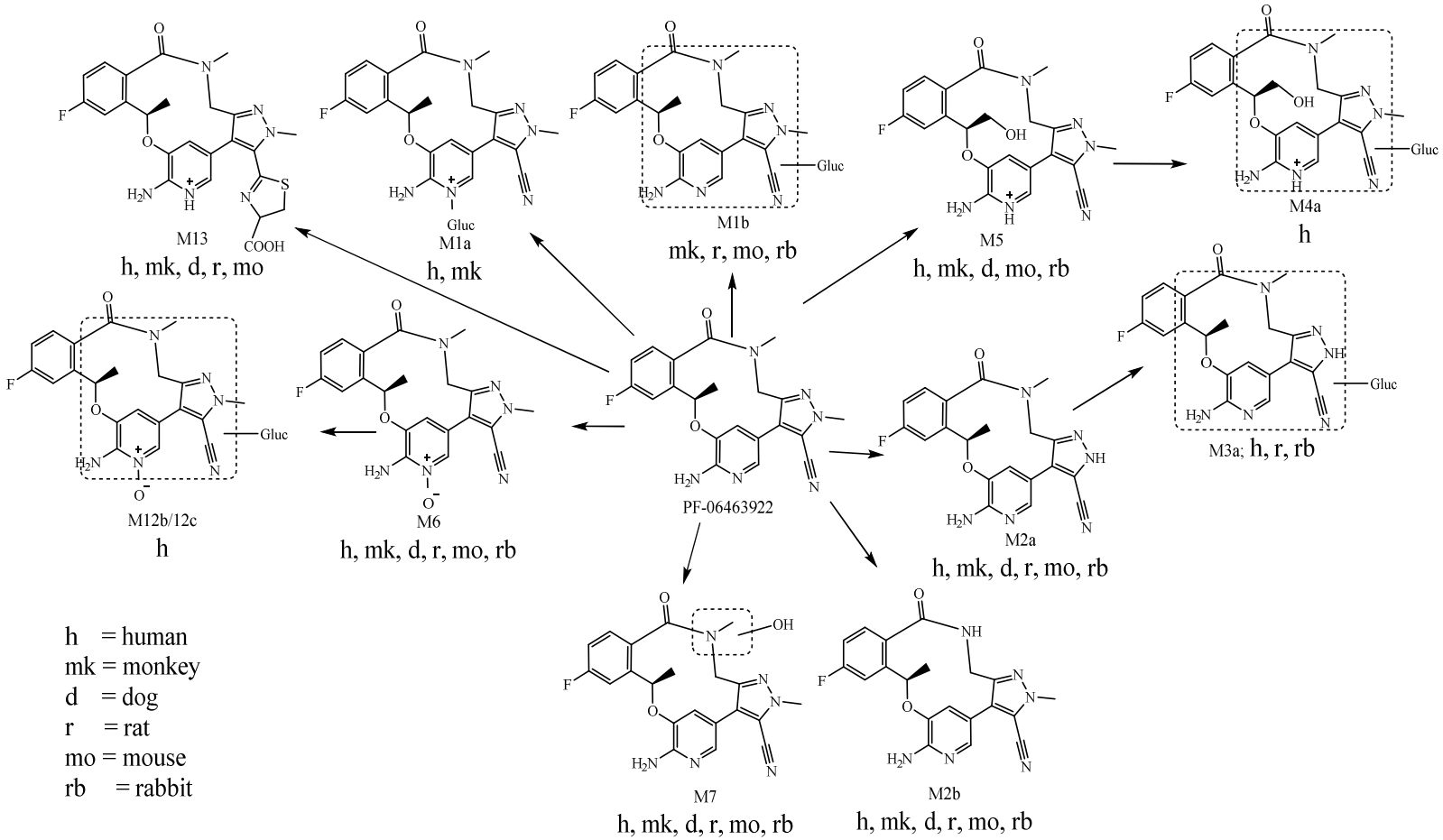
Test Article: Lorlatinib and [^{14}C]Lorlatinib
Report Numbers:
PF-06463922_[redacted]_112741, PF-06463922_[redacted]_124011, PF-06463922_[redacted]_094132 PF-06463922_[redacted]_113346, PF-06463922_[redacted]_090034, and [redacted]/003/297



d = Dog; Gluc = Glucuronide conjugate; h = Human, M = Metabolite; Lorlatinib = PF-06463922; M8 = PF-06895751 = Benzoic acid metabolite of lorlatinib; r = Rat.

2.6.5.11-B. PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAYS ACROSS SPECIES IN LIVER MICROSOMES AND HEPATOCYTES

Test Article: Lorlatinib
Report Numbers: PF-06463922_[redacted]_094132, PF-06463922_[redacted]_015951



d = Dog; Gluc = Glucuronide conjugate; h = Human, Lorlatinib = PF-06463922; M = Metabolite; mk = Monkey; mo = Mouse; r = Rat; rb = Rabbit.

2.6.5.12-A. PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF CYP ENZYMES

Test Article: Lorlatinib
Report Number: [redacted]5018

Type of Study	In Vitro CYP450 Inhibition
Assay	In vitro incubation with human liver microsomes and individual substrates of CYP enzymes with and without the presence of NADPH
Analytical Method	LC-MS/MS
Lorlatinib Concentrations	0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 and 100 µM

CYP	Enzyme Reaction	Zero-Minute Preincubation (Direct Inhibition)			30-Minute Preincubation without NADPH (TDI)			30-Minute Preincubation with NADPH (MBI)			Potential for TDI[c,d] (NADPH-Independent Inhibition)	Potential for MDI[c,d] (Time-& NADPH-Dependent Inhibition)
		IC_{50} (µM)[a]	Inhibition at 100 µM (%)[b]	r^2	IC_{50} (µM)[a]	Inhibition at 100 µM (%)[b]	r^2	IC_{50} (µM)[a]	Inhibition at 100 µM (%)[b]	r^2		
1A2	Phenacetin *O*-dealkylation	>100	5.2	NC	>100	7.4	NC	>100	24	0.945	No	No
2B6	Bupropion hydroxylation	>100	21	0.698	>100	21	0.943	>100	23	0.907	No	No
2C8	Paclitaxel 6α-hydroxylation (original)	>100	9.7	NC	>100	15	NC	>100	19	NC	No	No
	Paclitaxel 6α-hydroxylation (repeat)	>100	27	0.741	>100	26	0.854	>100	30	0.834	No	No
2C9	Diclofenac 4′-hydroxylation	44	70	0.993	38	72	0.993	36	72	0.994	No	No
2C19	*S*-Mephenytoin 4′-hydroxylation	>100	24	0.622	>100	20	0.735	>100	21	0.756	No	No
2D6	Dextromethorphan *O*-demethylation	>100	28	0.922	>100	31	0.959	>100	23	0.955	No	No
3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	23	69	0.945	29	65	0.978	0.81	100	0.997	No	28
3A4/5	Midazolam 1′-hydroxylation	10	87	0.990	13	88	0.988	0.74	99	0.992	No	14
3A4/5	Nifedipine oxidation	22	76	0.980	21	77	0.997	0.87	94	0.979	No	25

CYP = Cytochrome P450; DDI = Drug-drug interaction; EMA = European Medicines Agency; FDA = Food and Drug Administration; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922; MDI = Metabolism-dependent inhibition; NC = Not calculated; NADPH = Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; r^2 = Regression coefficient; TDI = Time-dependent inhibition.
a. Average data obtained from duplicate samples for each test article, where 7 concentrations were used to calculate the IC_{50} values.
b. Inhibition observed (%) = 100% − Percent solvent control.
c. Potential for TDI and MDI was determined by comparison of IC_{50} values both with and without pre-incubation and with and without NADPH-generating system present. In the cases where a number is listed, this number represents the fold shift of the IC_{50} value to a lower number after pre-incubation.
d. An assessment of risk for in vivo DDI between lorlatinib and co-administered substrates of these enzymes, based on current FDA and EMA DDI guidance documents are provided in Tabulated Summaries 2.6.5.15-H and 2.6.5.15-I, respectively.

2.6.5.12-B. PHARMACOKINETICS: TIME-DEPENDENT INHIBITION OF CYP ENZYMES

Test Article: Lorlatinib
Report Numbers: PF-06463922_[redacted]_160350, PF-06463922_[redacted]_145029

Type of Study	Evaluation of time-dependent inhibition of CYP3A 4/5 by lorlatinib
Method	In vitro incubation with HLM (in the presence of NADPH) or HHEP and individual substrates of CYP3A
Duration of Incubation	30 minutes (HLM) and 120 minutes (HHEP)
Analytical Method	LC-MS/MS

Incubation Matrix	Probe Substrate (Concentration)	Lorlatinib Concentration (μM)	k_{inact} ± SE (min^{-1})	K_I ± SE (μM)	k_{inact}/K_I (mL/μmol/min)
HLM	Midazolam (23 μM)	0.3 to 60	0.218±0.021	2.81±1.17	77.6
	Testosterone (440 μM)	0.1 to 15	ND	ND	49.6±1.45[a]
HHEP	Midazolam (80 μM)	0.5 to 50	0.081 ± 0.007	7.92 ± 2.49	10.2

CYP = Cytochrome P450; HHEP = Human hepatocytes; HLM = Human liver microsomes; K_I = Apparent inactivation constant at half-maximal rate of inactivation; k_{inact} = Maximal inactivation rate; k_{inact}/K_I = Measure of inactivator efficiency; k_{obs} = Observed inactivation rate; Lorlatinib = PF-06463922; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NADPH = Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; ND = Not determined; SE = Standard error; TDI = Time-dependent inhibition.

a. Composite slope was determined since inactivation was not saturable and k_{inact} was rapid, reaching the limit of measurable k_{obs} or half-life of the assay.

2.6.5.12-C. PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF CYP ENZYMES

Test Article: PF-06895751
Report Number: [redacted]5083

Type of Study	In Vitro CYP450 Inhibition
Assay	In vitro incubation with human liver microsomes and individual substrates of CYP enzymes with and without the presence of NADPH
Analytical Method	LC-MS/MS
PF-06895751 (M8) Concentrations	0, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 and 100 µM

CYP	Enzyme Reaction	Zero-Minute Preincubation (Direct Inhibition)			30-Minute Preincubation without NADPH (TDI)			30-Minute Preincubation with NADPH (MBI)			Potential for TDI[c,d] (NADPH-Independent Inhibition)	Potential for MDI[c,d] (Time-& NADPH-Dependent Inhibition)
		IC50 (µM)[a]	Inhibition at 100 µM (%)[b]	r^2	IC50 (µM)[a]	Inhibition at 100 µM (%)[b]	r^2	IC50 (µM)[a]	Inhibition at 100 µM (%)[b]	r^2		
1A2	Phenacetin *O*-dealkylation	>100	8.6	NC	>100	7.5	NC	>100	10	NC	No	No
2B6	Bupropion hydroxylation	>100	14	NC	>100	7.9	NC	>100	3.8	NC	No	No
2C8	Amodiaquine N-dealkylation	>100	17	NC	>100	14	NC	>100	22	0.97	No	No
2C9	Diclofenac 4′-hydroxylation	>100	12	NC	>100	12	NC	>100	16	NC	No	No
2C19	*S*-Mephenytoin 4′-hydroxylation	>100	9.5	NC	>100	9.4	NC	>100	9.3	NC	No	No
2D6	Dextromethorphan *O*-demethylation	>100	4.0	NC	>100	0.2	NC	>100	4.8	NC	No	No
3A4/5	Midazolam 1′-hydroxylation	>100	30	NC	>100	9.4	NC	97±12	44	0.97	No	Yes
3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	>100	1.3	NC	>100	2.5	NC	>100	44	0.97	No	Yes
3A4/5	Nifedipine oxidation	>100	16	NC	>100	10	NC	>100	15	NC	No	No

CYP = Cytochrome P450; DDI = Drug-drug interaction; EMA = European Medicines Agency; FDA = Food and Drug Administration; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; MDI = Metabolism-dependent inhibition; NC = Not calculated; NADPH = Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); r^2 = Regression coefficient; TDI = Time-dependent inhibition.

a. Average data obtained from duplicate samples for each test article, where 7 concentrations were used to calculate the IC_{50} values. Where appropriate, data are reported as mean ± standard deviation.

b. Inhibition observed (%) = 100% − Percent solvent control.

c. Potential for TDI and MDI was determined by comparison of IC_{50} values both with and without pre-incubation and with and without NADPH-generating system present. In the cases where a number is listed, this number represents the fold shift of the IC_{50} value to a lower number after pre-incubation.

d. An assessment of risk for in vivo DDI between PF-06895751 and co-administered substrates of these enzymes, based on current FDA and EMA DDI guidance documents are provided in Tabulated Summaries 2.6.5.15-J and 2.6.5.15-K, respectively.

2.6.5.12-D. PHARMACOKINETICS: TIME-DEPENDENT INHIBITION OF CYP ENZYMES

Test Article: PF-06895751
Report Number: PF-06895751_[redacted]_032126

Type of Study	Evaluation of time-dependent inhibition of CYP3A 4/5 by PF-06895751
Method	In vitro incubation with HLM and individual substrates of CYP3A with and without the presence of NADPH
Duration of Incubation	1 hour
Analytical Method	LC-MS/MS

Incubation Matrix	Probe Substrate (Concentration)	PF-06895751 Concentration (μM)	k_{inact} ± SE (min^{-1})	K_I ± SE (μM)	k_{inact}/K_I (mL/μmol/min)
HLM	Midazolam (23 μM)	3 to 300	ND[a]	ND[a]	ND[b]
	Testosterone (440 μM)	3 to 300	ND[c]	ND[c]	0.0158±0.0017

CYP = Cytochrome P450; HLM = Human liver microsomes; K_I = Apparent inactivation constant at half-maximal rate of inactivation; k_{inact} = Maximal inactivation rate; k_{inact}/K_I = Measure of inactivator efficiency; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NADPH = Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; ND = Not determined; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); SE = Standard error; TDI = Time-dependent inhibition.

a. TDI was observed at 300 μM; K_I and k_{inact} could not be determined.

b. Not determined since only 1 data point (300 μM) was positive as TDI.

c. TDI was observed at ≥94.9 μM; K_I and k_{inact} could not be determined.

2.6.5.12-E. PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES

Test Article: Lorlatinib
Report Number: PF-06463922_[redacted]_125344

Type of Study	Evaluation of CYP3A4, CYP2B6, and CYP1A2 induction by Lorlatinib[a]
Assay	In Vitro incubation with cryopreserved human hepatocytes
Analytical Method	Quantitation by LC-MS/MS and Quantitative RT-PCR
CYP Substrate (Concentrations)	Midazolam (30 μM), Bupropion (200 μM), Phenacetin (100 μM)

Hepatocyte Lot[b]	Lorlatinib Concentration (μM)	CYP3A4 mRNA Fold Induction	CYP2B6 mRNA Fold Induction	CYP1A2 mRNA Fold Induction	CYP3A4 1′-Hydroxymidazolam Activity Fold Induction	CYP2B6 Hydroxybupropion Activity Fold Induction	CYP1A2 Phenacetin O-Dealkylation Activity Fold Induction
HH1089	0.03	1.27	0.620	0.654	1.29	0.988	0.941
	0.1	3.32	0.780	0.621	1.54	1.18	0.875
	0.3	10.4	0.974	0.583	2.64	1.11	0.772
	0.5	20.6	1.37	0.655	3.57	1.41	0.738
	1	27.1	1.86	0.654	3.44	2.25	1.06
	3	40.6	3.52	0.630	2.26	2.77	1.03
	10	69.5	5.65	0.965	1.01	2.89	1.08
	30	134	12.5	1.80	0.815	1.55	1.25
	50	220	20.8	2.97	0.764	0.940	0.811
	75	321	30.8	4.17	0.741	0.640	0.591
	125	411	34.4	4.52	0.649	0.379	0.503
HC7-4	0.03	2.23	0.774	0.986	1.41	1.09	1.02
	0.1	8.31	1.05	0.881	2.36	1.45	0.954
	0.3	26.3	1.60	0.598	4.88	1.97	0.795
	0.5	34.9	3.17	0.661	6.28	2.55	0.983
	1	33.9	4.82	0.669	6.04	3.62	0.920
	3	33.5	4.94	0.648	3.77	5.07	0.934
	10	49.7	7.16	0.970	2.05	6.84	1.05
	30	65.1	10.5	1.33	1.86	7.26	1.23
	50	128	16.5	1.61	1.86	7.21	1.17
	75	271	27.1	1.62	1.48	4.03	0.698
	125	536	43.7	1.96	1.01	0.705	0.182

2.6.5.12-E. PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES **Test Article: Lorlatinib**

Report Number: PF-06463922_[redacted]_125344 (continued)

Hepatocyte Lot[b]	Lorlatinib Concentration (μM)	CYP3A4 mRNA Fold Induction	CYP2B6 mRNA Fold Induction	CYP1A2 mRNA Fold Induction	CYP3A4 1′-Hydroxymidazolam Activity Fold Induction	CYP2B6 Hydroxybupropion Activity Fold Induction	CYP1A2 Phenacetin O-Dealkylation Activity Fold Induction
FOS	0.03	1.43	0.662	0.777	1.20	0.970	1.48
	0.1	3.45	0.628	0.662	1.84	1.04	1.29
	0.3	7.89	1.06	0.632	3.28	1.57	1.12
	0.5	13.5	1.25	0.522	4.24	2.09	1.24
	1	9.08	1.69	0.459	3.84	2.63	1.54
	3	17.4	3.02	0.452	2.73	3.35	1.05
	10	16.8	3.40	0.417	1.11	3.30	0.879
	30	30.2	7.85	0.721	0.690	2.65	0.942
	50	56.4	15.4	1.07	0.560	2.18	0.782
	75	73.8	22.7	1.21	0.458	1.46	0.580
	125	91.2	30.1	1.24	0.413	0.940	0.450

CYP = Cytochrome P450; Lorlatinib = PF-06463922; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; mRNA = Messenger ribonucleic acid; n = number; RT-PCR = Reverse transcription-polymerase chain reaction.

a. Positive Controls: Rifampin for CYP3A4 (10 μM), Phenobarbital for CYP2B6 (750 μM), and Omeprazole for CYP1A2 (30 μM).

b. Reported values are a mean of n= 3.

2.6.5.12-F. PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES

Test Article: PF-06895751
Report Number: PF-06895751_[redacted]_104203

Type of Study	Evaluation of CYP3A4, CYP2B6, and CYP1A2 induction by PF-06895751[a]
Assay	In Vitro incubation with cryopreserved human hepatocytes
Analytical Method	Quantitation by LC-MS/MS and Quantitative RT-PCR
CYP Substrate (Concentrations)	Midazolam (30 μM), Bupropion (200 μM), Phenacetin (100 μM)

Hepatocyte Lot[b]	PF-06895751 Concentration (μM)	CYP3A4 mRNA Fold Induction	CYP2B6 mRNA Fold Induction	CYP1A2 mRNA Fold Induction	CYP3A4 1′-Hydroxymidazolam Activity Fold Induction	CYP2B6 Hydroxybupropion Activity Fold Induction	CYP1A2 Phenacetin O-Dealkylation Activity Fold Induction
HH1089	1	1.02	0.905	0.850	0.917	0.830	0.763
	3	0.950	0.879	0.920	0.976	0.903	0.805
	10	0.970	0.938	0.880	1.02	0.939	1.34
	30	1.06	1.02	0.920	1.15	1.07	1.33
	88	1.13	1.44	0.910	1.11	1.28	1.42
	132	1.15	1.58	0.880	1.12	1.42	1.08
	198	1.32	1.89	0.920	1.20	1.71	1.23
	296	1.81	2.54	0.920	1.18	2.02	0.907
	444	2.25	3.05	0.950	1.04	1.95	1.15
	667	2.50	3.65	1.01	1.15	2.42	1.33
	1000	3.36	4.28	0.930	1.27	3.19	1.73
HC7-4	1	1.64	1.03	1.03	1.14	1.13	1.14
	3	1.11	0.854	1.08	0.938	0.925	1.25
	10	0.885	0.830	1.00	0.917	0.954	1.15
	30	0.649	0.823	0.712	0.784	1.00	1.03
	88	1.38	1.97	1.15	1.16	1.67	1.68
	132	1.95	2.87	1.16	1.33	2.17	1.48
	198	2.57	3.76	1.28	1.54	2.88	1.52
	296	3.67	5.29	1.22	1.49	3.04	0.987
	444	4.90	6.87	1.07	1.89	3.99	1.20
	667	4.29	6.47	1.06	1.76	3.95	1.05
	1000	3.80	5.94	0.980	1.55	3.68	1.14

2.6.5.12-F. PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES **Test Article: PF-06895751**

Report Number: PF-06895751_[redacted]_104203 (continued)

Hepatocyte Lot[b]	PF-06895751 Concentration (μM)	CYP3A4 mRNA Fold Induction	CYP2B6 mRNA Fold Induction	CYP1A2 mRNA Fold Induction	CYP3A4 1′-Hydroxymidazolam Activity Fold Induction	CYP2B6 Hydroxybupropion Activity Fold Induction	CYP1A2 Phenacetin O-Dealkylation Activity Fold Induction
FOS	1	1.02	0.868	0.820	0.967	0.821	0.846
	3	1.02	0.857	0.860	0.977	0.899	1.27
	10	1.02	0.865	0.800	0.919	0.905	1.25
	30	1.11	1.17	0.860	0.958	0.961	1.24
	88	1.26	1.84	0.830	0.972	1.18	0.915
	132	1.55	2.41	0.820	1.16	1.49	1.12
	198	1.82	3.36	0.840	1.14	1.61	0.648
	296	2.27	4.35	0.880	1.08	1.55	0.612
	444	2.38	4.46	0.870	1.31	1.71	1.06
	667	2.83	5.42	0.900	1.51	2.34	1.29
	1000	3.44	6.54	0.980	1.78	2.98	1.43

CYP = Cytochrome P450; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; mRNA = Messenger ribonucleic acid; n = number; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); RT-PCR = Reverse transcription-polymerase chain reaction.

a. Positive Controls: Rifampin for CYP3A4 (10 μM), Phenobarbital for CYP2B6 (750 μM), and Omeprazole for CYP1A2 (30 μM).

b. Reported values are a mean of n= 3.

2.6.5.12-G. PHARMACOKINETICS: MECHANISMS FOR INDUCTION OF CYP ENZYMES

Test Article: Lorlatinib
Report Numbers: PF-06463922_[redacted]_020056, PFZ_20[redacted]_100

Type of Study	Evaluation of the potential mechanisms for lorlatinib induction of CYP3A4 and CYP2B6
Method	In vitro incubation with cells expressing the human PXR or CAR1 receptors

Cell Line	**Positive Control Concentration (μM)**	**Lorlatinib Concentration (μM)**	**EC_{50} (μM)**	**E_{max} (fold)**
Human PXR Reporter Cells	Rifampin 0.1 to 30[a]	0.01 to 100	2.85	13.8
Puracyp hCAR1 Cells	CITCO 0.005 to 20[b]	0.01 to 50	ND[c]	ND[c]

CAR = Constitutive androstane receptor; CITCO = 6-(4-Chlorophenyl)imidazo[2,1-b][1,3]thiazole-5-carbaldehyde O-(3,4-dichlorobenzyl) oxime; CYP = Cytochrome P450; EC_{50} = Concentration of agonist associated with half-maximal activation (total nominal concentration); E_{max} = Maximum fold activation observed; hCAR = Human constitutive androstane receptor; hPXR = Human pregnane X receptor; Lorlatinib = PF-06463922; ND = Not determined because atypical dose-response curves were observed; PXR = Pregnane X receptor.

a. The EC_{50} and E_{max} for rifampin were 2.76 μM and 13.0-fold, respectively.

b. The EC_{50} and E_{max} for CITCO were 0.5 μM and 26.3-fold, respectively.

c. Maximum fold activation for lorlatinib was 6.46-fold at the highest concentration (50 μM) tested.

2.6.5.12-H. PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF UGT ENZYMES

Test Article: Lorlatinib
Report Number: PF-06463922_[redacted]_112051

Type of Study	Evaluation of UGT Inhibition by Lorlatinib
Method	In vitro incubation with HLM and individual substrates of UGT enzymes in the absence or presence of 2% BSA
Analytical Method	LC-MS/MS
Lorlatinib Concentrations	1-100 µM

UGT Enzyme	Enzyme Reaction	Lorlatinib[a]				
		Without 2% BSA[b]		With 2% BSA		
		IC_{50} (µM)	% of Control at 100 µM	Total IC_{50} (µM)	Unbound IC_{50} (µM)[c]	% of Control at 100 µM
1A1	β-Estradiol-3-Glucuronidation	46	31	37	31	28
1A4	Trifluorperazine-*N*-Glucuronidation	>100	88	>100	NC	67
1A6	5-Hydroxytryptophol-*O*-Glucuronidation	>100	81	>100	NC	81
1A9	Propofol-*O*-Glucuronidation	>100	94	>100	NC	84
2B7	Zidovudine-5′-Glucuronidation	>100	57	64	53	41
2B15	S-Oxazepam- Glucuronidation	>100	83	>100	NC	77

BSA = Bovine serum albumin; DDI = Drug-drug interaction; EMA = European Medicines Agency; FDA = Food and Drug Administration; f_u = Fraction unbound; HLM = Human liver microsomes; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Lorlatinib = PF-06463922; NC = Not calculated, IC_{50} >100 µM; UDPGA = Uridine diphosphate glucuronic acid; UGT = Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.

a. An assessment of risk for in vivo DDI between lorlatinib and co-administered substrates of these UGT enzymes, based on current FDA and EMA DDI guidance documents, are provided in Tabulated Summaries 2.6.5.15-L and 2.6.5.15-M, respectively.

b. Lorlatinib f_u assumed to be 1 due to minimal amount of protein (0.025 mg/mL) present.

c. The f_u in 2% BSA was 0.83.

2.6.5.12-I. PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF UGT ENZYMES

Test Article: PF-06895751
Report Number: PF-06895751_[redacted]_095326

Type of Study	Evaluation of UGT Inhibition by PF-06895751 (M8)
Method	In vitro incubation with HLM and individual substrates of UGT enzymes in the absence or presence of 2% BSA
Analytical Method	LC-MS/MS
PF-06895751 Concentrations	1-100 µM

UGT Enzyme	Enzyme Reaction	PF-06895751[a]				
		Without 2% BSA[b]		With 2% BSA		
		IC_{50} (µM)	% of Control at 100 µM	Total IC_{50} (µM)	Unbound IC_{50} (µM)[c]	% of Control at 100 µM
1A1	β-Estradiol-3-Glucuronidation	>100	90	>100	NC	111
1A4	Trifluorperazine-*N*-Glucuronidation	>100	100	>100	NC	106
1A6	5-Hydroxytryptophol-*O*-Glucuronidation	>100	92	>100	NC	98
1A9	Propofol-*O*-Glucuronidation	>100	94	>100	NC	90
2B7	Zidovudine-5′-Glucuronidation	>100	100	>100	NC	91
2B15	S-Oxazepam-Glucuronidation	>100	94	>100	NC	93

BSA = Bovine serum albumin; f_u = Fraction unbound; HLM = Human liver microsomes; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NC = Not calculated, IC_{50} >100 µM; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); UDPGA = Uridine diphosphate glucuronic acid; UGT = Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.

a. An assessment of risk for in vivo DDI between PF-06895751 and coadministered substrates of these UGT enzymes, based on current FDA and EMA DDI guidance documents, are provided in Tabulated Summaries 2.6.5.15-N and 2.6.5.15-O, respectively.

b. PF-06895751 f_u assumed to be 1 due to minimal amount of protein (0.025 mg/mL) present.

c. The f_u in 2% BSA was not determined, no inhibition was observed.

2.6.5.13-A. PHARMACOKINETICS: EXCRETION IN RAT

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib
Report Number: 8321366

Species (Strain)	Rat (Wistar-Han)
Sex/Number of Animals	Male/3 + Female/3
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	2 mM Hydrochloric acid in reverse osmosis water
Method of Administration	Oral
Nominal Dose	10 mg/kg (~200 µCi/kg)
Radionucleotide/Test Article	[^{14}C]Lorlatinib Acetic Acid Solvate
Assay	LSC

	Mean Excretion of Lorlatinib-Derived Radioactivity (% of dose)							
	Male				**Female**			
Excretion Route:	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Total[a]**	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Total[a]**
Time (hour)/Sample								
0-8	4.54	NA	NA	4.54	3.11	NA	NA	3.11
8-24	7.05	65.7[b]	0.675[b]	73.4	6.68	22.2[b]	0.446[b]	29.3
24-48	1.45	14.9	0.175	16.5	4.61	29.1	0.279	34.0
48-72	0.234	0.969	0.0441	1.25	2.02	18.3	0.166	20.5
72-96	0.138	0.344	0.0318	0.514	0.739	5.30	0.0616	6.10
96-120	0.0778	0.203	0.0194	0.300	0.244	1.06	0.0437	1.35
120-144	0.0518	0.165	0.0196	0.236	0.110	0.353	0.0368	0.50
144-168	0.0422	0.125	NS	0.167	0.0627	0.171	NS	0.234
Sub-Total	13.6	82.4	0.964	97.0	17.6	76.5	1.03	95.1
0-168 (Cage Wash)	NA	NA	NA	0.122	NA	NA	NA	0.308
0-168 (Cage Wipe)	NA	NA	NA	0.173	NA	NA	NA	0.279
Carcass (Residual)	NA	NA	NA	1.59	NA	NA	NA	0.866
Total Recovery[c]				98.8				96.5

Lorlatinib = PF-06463922; LCS = Liquid scintillation counting; NA = Not applicable; NS = No sample.
a. Total equals the combined excretion of drug-derived radioactivity (% of dose) in urine, feces, and cage rinse.
b. Sample time was 0-24 hours.
c. Total recovery equals the combined excretion of drug-derived radioactivity (% of dose) in urine, feces, cage rinse, cage wash, cage wipe, and carcass.

2.6.5.13-B. PHARMACOKINETICS: EXCRETION IN DOG

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib
Report Number: 8321367

Species (Strain)	Dog (Beagle)
Sex /Number of Animals	Male/2 and Female/2
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	10 mM Hydrochloric acid in reverse osmosis water
Method of Administration	Oral
Nominal Dose	10 mg/kg (~20 µCi/kg)
Radionucleotide/Test Article	[^{14}C]Lorlatinib Acetic Acid Solvate
Assay	LSC

	Mean Excretion of Lorlatinib-Derived Radioactivity (% of dose)							
	Male				**Female**			
Excretion Route:	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Total[a]**	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Total[a]**
Time (hour)/Sample								
0-8	13.8	NA	NA	13.8	6.35	NA	NA	6.35
8-24	8.20	36.6[b]	3.21[b]	48.0	10.4	49.9[b]	0.735[b]	61.0
24-48	2.51	14.1	0.819	17.4	1.33	21.1	0.284	22.7
48-72	0.412	1.74	0.680	2.83	0.224	0.649	0.199	1.07
72-96	0.311	0.283	0.470	1.06	0.133	0.116	0.161	0.41
96-120	0.116	0.104	0.489	0.709	0.0752	0.0679	0.133	0.276
120-144	0.0846	0.0648	0.249	0.398	0.0331	0.0596	0.0761	0.169
144-168	0.0830	0.0584	NS	0.141	0.0334	0.0254	NS	0.0588
Sub-Total	25.5	53.0	5.92	84.4	18.6	72.0	1.59	92.2
0-168 (Cage debris)	NA	NA	NA	0.433	NA	NA	NA	0.659
0-168 (Cage wash)	NA	NA	NA	0.222	NA	NA	NA	0.0254
0-168 (Cage wipe)	NA	NA	NA	0.970	NA	NA	NA	0.258
0-6 (Vomitus/emesis)	NA	NA	NA	2.89	NA	NA	NA	0.00
Total Recovery[c]				89.0				93.1

Lorlatinib = PF-06463922; LCS = Liquid scintillation counting; NA = Not applicable; NS = No sample.
a. Total equals the combined excretion of drug-derived radioactivity (% of dose) in urine, feces, and cage rinse.
b. Sample time was 0-24 hours.
c. Total recovery equals the combined excretion of drug-derived radioactivity (% of dose) in urine, feces, cage rinse, cage debris, cage wash, cage wipe, and vomitus.

2.6.5.13-C. PHARMACOKINETICS: EXCRETION IN HUMAN

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib
Report Number: 8330018

Species	Healthy Human Volunteers
Clinical Study Report	CSR; Study B7461004
Sex /Number of Subjects	Male/6
Method of Administration	Oral
Dose	100 mg (~100 µCi)
Radionucleotide/Test Article	[^{14}C]Lorlatinib

	Mean Cumulative Excretion of Lorlatinib-Derived Radioactivity (% of dose)		
Excretion Route:	**Urine**	**Feces**	**Total[a]**
Time (hour)			
0-24	17.2	3.73	20.9
48	30.1	12.8	42.8
72	37.8	20.4	58.3
96	42.8	31.4	74.2
120	45.1	32.5	77.6
144	46.5	38.6	85.1
168	47.2	39.8	86.9
192	47.6	40.3	87.9
216	47.7	40.7	88.4
240	47.7	40.8	88.5
264	47.7	40.9	88.6
288	47.7	40.9	88.6

CSR = Clinical study report; Lorlatinib = PF-06463922.
a. Total equals the combined excretion of drug-derived radioactivity (% of dose) in urine and feces.

2.6.5.14. PHARMACOKINETICS: EXCRETION INTO RAT BILE

Test Article: [^{14}C]Lorlatinib
Report Number: 8321366

Species (Strain)	Rat (Wistar-Han)
Sex/Number of Animals	Male/2 + Female/2
Feeding Condition	Fasted
Vehicle/Formulation	2 mM Hydrochloric acid in reverse osmosis water
Method of Administration	Oral
Target Dose	10 mg/kg (200 µCi/kg)
Radionucleotide/Test Article	[^{14}C]Lorlatinib Acetic Acid Solvate

	(%) Dose Excretion in 48 hours			
	Urine	**Feces**	**Bile**	**Cage Rinse[a]**
Male	22.4	20.5	47.6	0.550
Female	18.8	36.5	27.2	0.831

Lorlatinib = PF-06463922.
a. Sample time was 0-24 hours.

2.6.5.15-A. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER SUBSTRATE

Test Article: Lorlatinib

Type of Study	In Vitro Transporter Substrate
Assay	Efflux in P-gp and BCRP transfected MDCKII cells and uptake in OATP transfected HEK cells
Analytical Method	LC-MS/MS
Lorlatinib Concentrations	2 µM (P-gp and BCRP) and 0.03-100 µM (OATP)

Transporter	Report Numbers	Test System	Substrate (Yes/No)
P-gp	PF-06463922_[redacted]_135242	MDCKII-MDR1 cells	No[a]
BCRP		MDCKII-LE-BCRP cells	No[a]
OATP1B1	PF-06463922_[redacted]_102514	HEK293-OATP1B1 cells	No[b]
OATP1B3		HEK293-OATP1B3 cells	No[b]

BA/AB = Basolateral to apical/apical to basolateral; BCRP = Breast cancer resistance protein; HEK = Human embryonic kidney; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; LE = Low efflux; Lorlatinib = PF-06463922; MDCKII = Madin-Darby canine kidney Type II cells; MDR1 = Multi-drug resistance gene that encodes for P-gp; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; P-gp = P-glycoprotein.

a. BA/AB ratios of >2.5 are considered conclusive for active efflux (positive for substrate potential). The BA/AB efflux ratio of lorlatinib for P-gp was 1.8, while the BA/AB ratio for BCRP was 1.32. The BA/AB efflux ratios for the P-gp positive control, digoxin (10 µM) was 63.7, and for the BCRP positive controls, pitavastatin and topotecan (2 µM) were 7.46 and 2.40, respectively.

b. Uptake of lorlatinib by OATP1B1 and OATP1B3 was <2-fold compared to the uptake in HEK293 wild-type cells. Uptake of rosuvastatin (5 µM) was 78.2- and 42.4-fold for OATP1B1 and OATP1B3, respectively.

2.6.5.15-B. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION

Test Article: Lorlatinib

Report Number: **PF-06463922_[redacted]_093100**

Type of Study	In Vitro Transporter Inhibition
Assay	Inhibitory potential for human transporters expressed in mammalian cellular systems
Analytical Method	LC-MS/MS or MicroBeta Counter
Lorlatinib Concentrations	~ 0.01 to 300 μM

Transporter	Test System	Probe Substrate	IC_{50} (μM)	Estimated Ki[a]	% Inhibition at Highest Concentration Tested[b]	Inhibitor (Yes/No)[c]
P-gp	MDCKII-MDR1 cells	Digoxin	2.99	2.99	95.1	Yes (Intestinal); Yes (Systemic)
BCRP	MDCKII-LE-BCRP cells	Pitavastatin	>94.9	>47.5	54.7	Yes (Intestinal); No (Systemic)
OATP1B1	HEK293-OATP1B1 cells	Rosuvastatin	32.6	16.3	91.8	No (FDA); Yes (EMA)
OATP1B3	HEK293-OATP1B3 cells	Rosuvastatin	>100	>50	61.0	No (FDA); Yes (EMA)
OCT1	HEK293-OCT1 cells	[^{14}C]Metformin	4.21	4.21	93.4	Yes
OCT2	HEK293-OCT2 cells	[^{14}C]Metformin	>50	>50	3.9	No
OAT1	HEK293-OAT1 cells	[^{3}H]PAH	>50	>25	3.1	No
OAT3	HEK293-OAT3 cells	[^{3}H]E3S	2.72	2.72	75.6	Yes
MATE1	HEK293-MATE1 cells	[^{14}C]Metformin	3.71	3.71	85.5	Yes
MATE2K	HEK293-MATE2K cells	[^{14}C]Metformin	>50	>50	40.8	No

BCRP = Breast cancer resistance protein; DDI = Drug-drug interaction; E3S = Estrone-3-sulfate; EMA = European Medicines Agency; FDA = Food and Drug Administration; HEK = Human embryonic kidney; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; K_i = Inhibition constant; K_m = Michaelis constant; LE = Low efflux; Lorlatinib = PF-06463922; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; MATE = Multidrug and toxin extrusion; MDCKII = Madin-Darby canine kidney Type II cells; MDR1 = Multi-drug resistance gene that encodes for P-gp; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; PAH = p-Aminohippuric acid; P-gp = P-glycoprotein (also known as MDR1).

a. Assume $K_i = IC_{50}/2$ except for P-gp, OCT1, OCT2, OAT3, MATE1, and MATE2K where $IC_{50} = K_i$, as the concentrations of substrates [digoxin (for P-gp), estrone-3-sulfate (for OAT3), and metformin (for OCT1, OCT2, MATE1, and MATE2K)] used in these studies were << K_m values reported in the literature.

b. Highest concentration of lorlatinib tested: P-gp, BCRP, OATP1B1, and OATP1B3 = 300 μM, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3, MATE1, and MATE2K = 50 μM.

c. An assessment of risk for in vivo DDI between lorlatinib and coadministered substrates of these transporters, based on the current FDA and EMA guidance documents, are provided in Tabulated Summaries 2.6.5.15-C and 2.6.5.15-D, respectively.

2.6.5.15-C. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION RISK ASSESSMENT, FDA

Test Article: Lorlatinib

Report Number: **PF-06463922_[redacted]_093100**

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

	Transporter	$[I]_1$[b] (μM)	$[I]_{1,u}$[c] (μM)	$[I]_2$[d] (μM)	IC_{50} (μM)	$[I]/IC_{50}$	$[I]/IC_{50}$ Threshold Cutoff For Potential DDI
Systemic	**P-gp**	1.42	--	--	2.99	>0.1[e]	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
	BCRP	1.42	--	--	>94.9	<0.1	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
	OATP1B1	1.42	--	--	32.6	<0.1	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
	OATP1B3	1.42	--	--	>100	<0.1	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
	OCT1[f]	1.42	--	--	4.21	>0.1[e,g]	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
	OCT2	--	0.483	--	>50	<0.1	$[I]_{1,u}/IC_{50} \geq 0.1$
	OAT1	--	0.483	--	>50	<0.1	$[I]_{1,u}/IC_{50} \geq 0.1$
	OAT3	--	0.483	--	2.72	>0.1[e]	$[I]_{1,u}/IC_{50} \geq 0.1$
	MATE1[h]		0.483	--	3.71	>0.1[e]	$[I]_{1,u}/IC_{50} \geq 0.1$
	MATE2K[h]		0.483	--	>50	<0.1	$[I]_{1,u}/IC_{50} \geq 0.1$
Intestinal	**P-gp**	--	--	984	2.99	>10[e]	$[I]_2/IC_{50} \geq 10$
	BCRP	--	--	984	>94.9	>10[e]	$[I]_2/IC_{50} \geq 10$

Note: Molecular weight of lorlatinib = 406.4 g/mole.

-- = Data not applicable; BCRP = Breast cancer resistance protein; C_{max} = Maximum observed concentration; CSR = Clinical study report; DDI = Drug-drug interaction; FDA = Food and Drug Administration; $F_a \times F_g$ = Fraction of the dose of inhibitor which is absorbed and escapes gut metabolism; f_u = Fraction unbound for lorlatinib in human plasma; $[I]_1$ = Mean steady-state total C_{max} at the highest proposed clinical dose; $[I]_{1,u}$ = Mean steady-state unbound C_{max}; $[I]_2$ = Theoretical maximum gastrointestinal drug concentration; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; $I_{in,max}$ = Maximal inhibitor concentration in the hepatic inlet; k_a = Absorption rate constant of the inhibitor; Lorlatinib = PF-06463922; MATE = Multidrug and toxin extrusion; MDR1 = Multi-drug resistance gene that encodes for P-gp; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein (also known as MDR1); QD = Once daily; Q_H = Hepatic blood flow.

a. Draft Guidance for Industry: Drug Interaction Studies – Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. Issued by: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Feb 2012.

b. $[I]_1$ = 1.42 μM [576.5 ng/mL] for systemic DDI: the lorlatinib geometric mean determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001).

c. $[I]_{1,u}$ = 0.483 μM [196 ng/mL]) for systemic DDI: determined as $[I]_1 \times f_u$, where human f_u = 0.34.

d. $[I]_2$ = Calculated as the clinical dose of 100 mg on a molar basis, in a volume of 250 mL for intestinal DDI.

e. Exceeded the threshold cutoff for potential DDI.

f. OCT1 is a hepatic uptake transporter; therefore, the same criteria as OATP1B1 and OATP1B3 were used to assess DDI risk.

g. R-value = 2.34 (>1.25), calculated as $1+ (f_u \times I_{in,max}/IC_{50})$ where human f_u = 0.34 and $I_{in,max}$ = 16.6 μM, calculated as $[C_{max} + (k_a \times \text{Dose} \times F_a \times F_g/Q_H)]$ where C_{max}= 1.42 μM, k_a = 6 h^{-1}, dose = 100 mg/day, $F_a \times F_g$ = 1, and Q_H = 97 L/h.

h. MATE1 amd MATE2K are renal transporters; therefore, the same criteria as OCT2, OAT1, and OAT3 were used to assess DDI risk.

2.6.5.15-D. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION RISK ASSESSMENT, EMA

Test Article: Lorlatinib

Report Number: **PF-06463922_[redacted]_093100**

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

	Transporter	Ki[b] (μM)	50 × $C_{max,u}$[c] (μM)	25 × $I_{u,inlet,max}$[d] (μM)	0.1 × Dose[e]/250 mL	Threshold Cutoff For Potential DDI
Systemic	**P-gp**	2.99	24.2[f]	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
	BCRP	>47.5	24.2	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
	OATP1B1	16.3	--	143[f]	--	$K_i \leq (25 \times I_{max,u})$
	OATP1B3	>50	--	143[f]	--	$K_i \leq (25 \times I_{max,u})$
	OCT1	4.21	--	143[f]	--	$K_i \leq (25 \times I_{max,u})$
	OCT2	>50	24.2	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
	OAT1	>25	24.2	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
	OAT3	2.72	24.2[f]	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
	MATE1	3.71	24.2[f]		--	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
	MATE2K	>50	24.2		--	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
Intestinal	**P-gp**	2.99	--	--	98.4[f]	$K_i \leq (0.1 \times dose/250)$
	BCRP	>47.5	--	--	98.4[f]	$K_i \leq (0.1 \times dose/250)$

Note: Molecular weight of lorlatinib = 406.4 g/mole.

BCRP = Breast cancer resistance protein; Cb/Cp = Ratio of drug concentration in blood/plasma; C_{max} = Maximum observed steady-state concentration; $C_{max,u}$ = Unbound mean steady-state C_{max}; CSR = Clinical study report; DDI = Drug-drug interaction; EMA = European Medicines Agency; $F_a \times F_g$ = Fraction of the dose of inhibitor which is absorbed and escapes gut metabolism; f_u = Fraction unbound in human plasma; $f_{u,b}$ = Fraction unbound in blood; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; $I_{u,inlet,max}$ = Unbound hepatic inlet inhibitor concentration; $[I]_{max,b}$ = Maximum concentration in blood; k_a = Absorption rate constant; K_i = Inhibition constant; K_m = Michaelis constant; Lorlatinib = PF-06463922; MATE = Multidrug and toxin extrusion; MDR1 = Multi-drug resistance gene that encodes for P-gp; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein (also known as MDR1); PAH = p-Aminohippuric acid; QD = Once daily; Q_H = hepatic blood flow; -- = Data not applicable.

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

b. Assume $K_i = IC_{50}/2$ except for P-gp, OCT1, OCT2, OAT3, MATE1, and MATE2K where $IC_{50} = K_i$, as the concentrations of digoxin (for P-gp), Estrone-3-sulfate (for OAT3), and metformin (for OCT1, OCT2, MATE1, and MATE2K) used in these studies were << K_m values reported in the literature.

c. $C_{max,u}$ = 0.483 μM [196 ng/mL] for systemic DDI; calculated as C_{max} x f_u, where C_{max} = 1.42 μM [576.5 ng/mL]: the lorlatinib geometric mean determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001) and human f_u = 0.34.

d. $I_{u,inlet,max}$ = 5.74 μM for systemic DDI, calculated as $[f_{u,b} \times ([I]_{max,b} + (F_a \times F_g \times k_a \times Dose/Q_H))]$; where $f_{u,b}$= 0.35, calculated as $[f_u/(Cb/Cp)]$ where f_u = 0.34 and Cb/Cp =0.985, $[I]_{max,b}$ = 1.4 μM, determined as (C_{max} × Cb/Cp), $k_a = 6\ h^{-1}$, dose = 100 mg/day, $F_a \times F_g = 1$ and Q_H = 97 L/h.

e. Calculated using the clinical dose of 100 mg (on a molar basis) in a volume of 250 mL for intestinal DDI.

f. Exceeded the threshold cutoff for potential DDI.

2.6.5.15-E. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION

Test Article: PF-06895751

Report Number: PF-06895751_[redacted]_121128

Type of Study	In Vitro Transporter Inhibition
Assay	Inhibitory potency for human transporters expressed in mammalian cellular systems
Analytical Method	LC-MS/MS or MicroBeta Counter
PF-06895751 (M8) Concentrations	~ 0.01-268 μM

Transporter	Test System	Probe Substrate	IC_{50} (μM)	Estimated K_i (μM)[a]	% Inhibition at Highest Concentration Tested[b]	Inhibitor (Yes/No)[c]
P-gp	MDCK-MDR1 cells	[^{3}H]Digoxin	>268	>268	-1.0	No
BCRP	MDCKII-LE-BCRP cells	Pitavastatin	>268	>268	0.2	No
OATP1B1	HEK293-OATP1B1 cells	Rosuvastatin	>268	>134	27.3	No
OATP1B3	HEK293-OATP1B3 cells	Rosuvastatin	>268	>134	28.6	No
OCT1	HEK293-OCT1 cells	[^{14}C]Metformin	>50	>50	11.0	No
OCT2	HEK293-OCT2 cells	[^{14}C]Metformin	>100	>100	16.9	No
OAT1	HEK293-OAT1 cells	[^{3}H]PAH	>100	>50	11.3	No
OAT3	HEK293-OAT3 cells	[^{3}H]E3S	>100	>100	14.1	No
MATE1	HEK293-MATE1 cells	[^{14}C]Metformin	>50	>50	12.9	No
MATE2K	HEK293-MATE2K cells	[^{14}C]Metformin	>50	>50	8.1	No

BCRP = Breast cancer resistance protein; DDI = Drug-drug interaction; E3S = Estrone-3-sulfate; EMA = European Medicines Agency; FDA = Food and Drug Administration; HEK = Human embryonic kidney cells; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; K_i = Inhibition constant; K_m = Michaelis constant; LE = Low efflux; LC-MS/MS = Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; MATE = Multidrug and toxin extrusion; MDCKII = Madin-Darby canine kidney cells; MDR1 = Multi-drug resistance gene that encodes for P-gp; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; PAH = p-Aminohippuric acid; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); P-gp = P-glycoprotein (also known as MDR1).

a. Assume $K_i = IC_{50}/2$ except for P-gp, BCRP, OCT1, OCT2, OAT3, MATE1, and MATE2K where $IC_{50} = K_i$, as the concentrations of digoxin (for P-gp), Pitavastatin (for BCRP), Estrone-3-sulfate (for OAT3), and metformin (for OCT1, OCT2, MATE1, and MATE2K) used in these studies were << K_m values reported in the literature.

b. Highest concentration of PF-06895751 tested: P-gp, BCRP, OATP1B1, and OATP1B3 = 268 μM, OAT1, OAT3, OCT2 = 100 μM, OCT1, MATE1, and MATE2K = 50 μM.

c. An assessment of risk for in vivo DDI between PF-06895751 and coadministered substrates of these transporters, based on the current FDA and EMA guidances, are provided in Tabulated Summaries 2.6.5.15-F and 2.6.5.15-G, respectively.

2.6.5.15-F. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION RISK ASSESSMENT, FDA

Test Article: PF-06895751

Report Number: PF-06895751_[redacted]_121128

Summary Results: Assessment of the Potential Contribution of PF-06895751 (M8) to In Vivo DDI Between Lorlatinib and Coadministered Substrates of Various Transporters, Based on the Draft FDA Guidance (2012).[a]

Transporter	$[I]_1$[b] (μM)	$[I]_{1,u}$[c] (μM)	IC_{50} (μM)	$[I]/IC_{50}$	$[I]/IC_{50}$ Threshold Cutoff For Potential DDI
P-gp	1.05	--	>268	<0.1	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
BCRP	1.05	--	>268	<0.1	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
OATP1B1	1.05	--	>268	<0.1	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
OATP1B3	1.05	--	>268	<0.1	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
OCT1[d]	1.05	--	>50	<0.1	$[I]_1/IC_{50} \geq 0.1$
OCT2	--	0.217	>100	<0.1	$[I]_{1,u}/IC_{50} \geq 0.1$
OAT1	--	0.217	>100	<0.1	$[I]_{1,u}/IC_{50} \geq 0.1$
OAT3	--	0.217	>100	<0.1	$[I]_{1,u}/IC_{50} \geq 0.1$
MATE1[e]	--	0.217	>50	<0.1	$[I]_{1,u}/IC_{50} \geq 0.1$
MATE2K[e]	--	0.217	>50	<0.1	$[I]_{1,u}/IC_{50} \geq 0.1$

Note: Molecular weight of PF-06895751= 184.2 g/mole.

-- = Data not applicable; BCRP = Breast cancer resistance protein; C_{max} = Maximum observed concentration; CSR = Clinical study report; DDI = Drug-drug interaction; FDA = Food and Drug Administration; f_u = Fraction unbound for PF-06895751 in human plasma; $[I]_1$ = Mean steady-state total C_{max} at the highest proposed clinical dose; $[I]_{1,u}$ = Mean steady-state unbound C_{max} at the highest propsed clinical dose; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; MATE = Multidrug and toxin extrusion; MDR1 = Multi-drug resistance gene that encodes for P-gp; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein (also known as MDR1); PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8), circulating metabolite in human plasma; QD = Once daily.

a. Draft Guidance for Industry: Drug Interaction Studies – Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. Issued by: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Feb 2012.

b. $[I]_1$ = 1.05 μM [193.7 ng/mL]: the PF-06895751 geometric mean determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001).

c. $[I]_{1,u}$ = 0.217 μM [40.1 ng/mL]): determined as $[I]_1 \times f_u$, where human f_u = 0.207.

d. OCT1 is a hepatic uptake transporter; therefore, the same criteria as OATP1B1 and OATP1B3 were used to assess DDI risk.

e. MATE1 amd MATE2K are renal transporters; therefore, the same criteria as OCT2, OAT1, and OAT3 were used to assess DDI risk.

2.6.5.15-G. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION RISK ASSESSMENT, EMA

Test Article: PF-06895751
Report Number: PF-06895751_[redacted]_121128

Summary Results: Assessment of the Potential Contribution of PF-06895751 (M8) to In Vivo DDI Between Lorlatinib and Coadministered Substrates of Various Transporters, Based on the EMA Guideline (2012).[a]

Transporter	Ki[b] (μM)	50 × $C_{max,u}$[c] (μM)	Threshold Cutoff For Potential DDI
P-gp	>268	10.9	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
BCRP	>268	10.9	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
OATP1B1	>134	10.9	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
OATP1B3	>134	10.9	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
OCT1	>50	10.9	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
OCT2	>100	10.9	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
OAT1	>50	10.9	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
OAT3	>100	10.9	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
MATE1	>50	10.9	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$
MATE2K	>50	10.9	$K_i \leq (50 \times C_{max,u})$

Note: Molecular weight of PF-06895751= 184.2 g/mole.
BCRP = Breast cancer resistance protein; C_{max} = Maximum observed steady-state concentration; $C_{max,u}$ = Unbound mean steady-state C_{max}; CSR = Clinical study report; DDI = Drug-drug interaction; EMA = European Medicines Agency; f_u = Fraction unbound in human plasma; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; K_i = Inhibition constant; K_m = Michaelis constant; MATE = Multidrug and toxin extrusion; MDR1 = Multi-drug resistance gene that encodes for P-gp; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein (also known as MDR1); PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8), circulating metabolite in human plasma; QD = Once daily.
a. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). Guideline on the investigation of drug interactions: CPMP/EWP/560/95/Rev. 1, Corr. 2. European Medicines Agency; 2012.
b. Assume $K_i = IC_{50}/2$ except for P-gp, BCRP, OCT1, OCT2, OAT3, MATE1, and MATE2K where $IC_{50} = K_i$, as the concentrations of digoxin (for P-gp), Pitavastatin (for BCRP), Estrone-3-sulfate (for OAT3), and metformin (for OCT1, OCT2, MATE1, and MATE2K) used in these studies were << K_m values reported in the literature.
c. $C_{max,u}$ = 0.217 μM [40.1 ng/mL]; calculated as $C_{max} \times f_u$, where C_{max} = 1.05 μM [193.7 ng/mL]: the PF-06895751 geometric mean determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001) and human f_u = 0.207.

2.6.5.15-H. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, CYP INHIBITION, FDA

Test Article: Lorlatinib
Report Number: [redacted]5018

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

Model	CYP	K_i[b] (μM)	[I] (μM)	1+ [I]/K_i	Threshold Cutoff For Potential DDI
		Systemic[c]			
Basic (R_1)	**CYP1A2**	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP2B6	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP2C8	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP2C9	22	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP2C19	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP2D6	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP3A4/5 Testosterone	11.5	1.42	>1.1[d]	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP3A4/5 Midazolam	5.0	1.42	>1.1[d]	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP3A4/5 Nifidipine	11.0	1.42	>1.1[d]	1+ [I]/K_i >1.1
		Intestinal[e]			
Basic (R_1)	**CYP3A4/5 Testosterone**	11.5	984	>11[d]	1+ [I]/K_i >11
	CYP3A4/5 Midazolam	5.0	984	>11[d]	1+ [I]/K_i >11
	CYP3A4/5 Nifidipine	11.0	984	>11[d]	1+ [I]/K_i >11

Note: Molecular weight of lorlatinib = 406.4 g/mole.
C_{max} = Maximum observed concentration; CSR = Clinical study report; CYP = Cytochrome P450 enzyme; DDI = Drug-drug interaction; FDA = Food and Drug Administration; [I] = Total mean steady-state C_{max}; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; K_i = Inhibition constant; Lorlatinib = PF-06463922; QD = Once daily; R_1 = Reversible inhibition.
a. Draft Guidance for Industry: Drug Interaction Studies – Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. Issued by: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Feb 2012.
b. Calculated K_i = IC_{50}/2, assuming reversible inhibition. IC_{50} values listed in Tabulated Summary 2.6.5.12-A.
c. [I] = 1.42 μM [576.5 ng/mL] for systemic DDI: the lorlatinib geometric mean C_{max} determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001).
d. Exceeded the threshold cutoff for potential DDI.
e. [I] = calculated as clinical dose of 100 mg on a molar basis in a volume of 250 mL for intestinal DDI.

2.6.5.15-I. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, CYP INHIBITION, EMA

Test Article: Lorlatinib
Report Number: [redacted]5018

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

Model	CYP	K_i[b] (μM)	[I] (μM)	$[I]_u$[c] (μM)	$[I]/K_i$ (Intestinal) or $[I]_u/K_i$	Threshold Cutoff For Potential DDI
			Systemic			
Basic	**CYP1A2**	>50	-	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP2B6	>50	-	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP2C8	>50	-	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP2C9	22	-	0.483	>0.02[d]	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP2C19	>50	-	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP2D6	>50	-	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP3A4/5 Testosterone	11.5	-	0.483	>0.02[d]	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP3A4/5 Midazolam	5.0	-	0.483	>0.02[d]	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP3A4/5 Nifidipine	11.0	-	0.483	>0.02[d]	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
			Intestinal[e]			
Basic	**CYP3A4/5 Testosterone**	11.5	984	-	>10[d]	$[I]/K_i \geq 10$
	CYP3A4/5 Midazolam	5.0	984	-	>10[d]	$[I]/K_i \geq 10$
	CYP3A4/5 Nifidipine	11.0	984	-	>10[d]	$[I]/K_i \geq 10$

Note: Molecular weight of lorlatinib = 406.4 g/mole.
C_{max} = Maximum observed concentration; CSR = Clinical study report; CYP = Cytochrome P450 enzyme; DDI = Drug-drug interaction; EMA = European medicines Agency; f_u = Fraction unbound; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; [I] = Total mean steady-state C_{max}; $[I]_u$ = Unbound mean steady-state C_{max}; K_i = Inhibition constant; Lorlatinib = PF-06463922; QD = Once daily.
a. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). Guideline on the investigation of drug interactions: CPMP/EWP/560/95/Rev. 1, Corr. 2. European Medicines Agency; 2012.
b. Calculated $K_i = IC_{50}/2$, assuming reversible inhibition. IC_{50} values listed in Tabulated Summary 2.6.5.12-A.
c. $[I]_u$ = 0.483 μM [196 ng/mL] for systemic DDI: the lorlatinib geometric mean C_{max} determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001), where the lorlatinib human plasma f_u = 0.34.
d. Exceeded the threshold cutoff for potential DDI.
e. [I] = calculated as clinical dose of 100 mg on a molar basis in a volume of 250 mL for intestinal DDI.

2.6.5.15-J. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, CYP INHIBITION, FDA

Test Article: PF-06895751
Report Number: [redacted]5083

Summary Results: Assessment of the Potential Contribution of PF-06895751 to In Vivo DDI Between Lorlatinib and Coadministered Substrates of CYP Enzymes Due to Reversible Inhibition, Based on the Draft FDA Guidance (2012).[a]

Model	CYP	K_i[b] (μM)	[I][c] (μM)	1+ [I]/K_i	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic (R_1)	**CYP1A2**	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP2B6	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP2C8	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP2C9	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP2C19	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP2D6	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP3A4/5 Testosterone	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP3A4/5 Midazolam	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	CYP3A4/5 Nifedipine	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1

Note: Molecular weight of PF-06895751= 184.2 g/mole.
C_{max} = Maximum observed concentration; CSR = Clinical study report; CYP = Cytochrome P450 enzyme; DDI = Drug-drug interaction; FDA = Food and Drug Administration; [I] = Total mean steady-state C_{max}; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; K_i = Inhibition constant; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); QD = Once daily; R_1 = Reversible inhibition.
a. Draft Guidance for Industry: Drug Interaction Studies – Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. Issued by: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Feb 2012.
b. Calculated $K_i = IC_{50}/2$, assuming reversible inhibition. IC_{50} values listed in Tabulated Summary 2.6.5.12-C.
c. [I] = 1.05 μM [193.7 ng/mL] for systemic DDI: the PF-06895751 geometric mean C_{max} determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001).

2.6.5.15-K. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, CYP INHIBITION, EMA

Test Article: PF-06895751
Report Number: [redacted]5083

Summary Results: Assessment of the Potential Contribution of PF-06895751 to In Vivo DDIs Between Lorlatinib and Coadministered Substrates of CYP Enzymes Due to Reversible Inhibition, Based on the EMA Guideline (2012).[a]

Model	CYP	K_i[b] (μM)	$[I]_u$[c] (μM)	$[I]_u/K_i$	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic	**CYP1A2**	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP2B6	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP2C8	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP2C9	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP2C19	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP2D6	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP3A4/5 Testosterone	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP3A4/5 Midazolam	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	CYP3A4/5 Nifedipine	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$

Note: Molecular weight of PF-06895751= 184.2 g/mole.
C_{max} = Maximum observed concentration; CSR = Clinical study report; CYP = Cytochrome P450 enzyme; DDI = Drug-drug interaction; EMA = European Medicines Agency; f_u = Fraction unbound; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; $[I]_u$ = Unbound mean steady-state C_{max}; K_i = Inhibition constant; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); QD = Once daily.
a. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). Guideline on the investigation of drug interactions: CPMP/EWP/560/95/Rev. 1, Corr. 2. European Medicines Agency; 2012.
b. Calculated $K_i = IC_{50}/2$, assuming reversible inhibition. IC_{50} values listed in Tabulated Summary 2.6.5.12-C.
c. $[I]_u$ = 0.217 μM [40.1 ng/mL] for systemic DDI: the PF-06895751 geometric mean C_{max} determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001), where the PF-06895751 human plasma f_u = 0.207.

2.6.5.15-L. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, UGT INHIBITION, FDA

Test Article: Lorlatinib

Report Number: PF-06463922_[redacted]_112051

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Lorlatinib and Coadministered Substrates of UGT enzymes, based on the draft FDA Guidance (2012).[a]

Model	UGT	K_i[b] (μM)	[I][c] (μM)	1+ [I]/K_i	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic (R_1) Without 2% BSA	**1A1**	23	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A4	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A6	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A9	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	2B7	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	2B15	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
Basic (R_1) With 2% BSA	**1A1**	18.5	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A4	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A6	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A9	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	2B7	32	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	2B15	>50	1.42	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1

Note: Molecular weight of lorlatinib = 406.4 g/mole.

BSA = Bovine serum albumin; C_{max} = Maximum observed concentration; CSR = Clinical Study report; DDI = Drug-drug interaction; FDA = Food and Drug Administration; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; [I] = Total mean steady-state C_{max}; K_i = Inhibition constant; Lorlatinib = PF-06463922; QD = Once daily; R_1 = Reversible inhibition; UGT = Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.

a. Draft Guidance for Industry: Drug Interaction Studies – Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. Issued by: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Feb 2012.

b. Calculated K_i = Unbound IC_{50}/2, assuming reversible inhibition. IC_{50} values listed in Tabulated Summary 2.6.5.12-H.

c. [I] = 1.42 μM [576.5 ng/mL] for systemic DDI: the lorlatinib geometric mean C_{max} determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001).

2.6.5.15-M. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, UGT INHIBITION, EMA

Test Article: Lorlatinib

Report Number: PF-06463922_[redacted]_112051

Summary Results: Assessment of Risk for In Vivo DDIs Between Lorlatinib and Coadministered Substrates of UGT enzymes, based on the EMA Guideline (2012).[a]

Model	UGT	K_i[b] (μM)	$[I]_u$[c] (μM)	$[I]_u/K_i$	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic Without 2% BSA	**1A1**	23	0.483	>0.02[d]	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A4	>50	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A6	>50	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A9	>50	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	2B7	>50	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	2B15	>50	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
Basic With 2% BSA	**1A1**	18.5	0.483	>0.02[d]	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A4	>50	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A6	>50	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A9	>50	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	2B7	32	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	2B15	>50	0.483	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$

Note: Molecular weight of lorlatinib = 406.4 g/mole.
BSA = Bovine serum albumin; C_{max} = Maximum observed concentration; CSR = Clinical study report; DDI = Drug-drug interaction; EMA = European Medicines Agency; f_u = Fraction unbound; HLM = Human liver microsome; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; $[I]_u$ = Unbound mean steady-state C_{max}; K_i = Inhibition constant; Lorlatinib = PF-06463922; QD = Once daily; UGT = Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.
a. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). Guideline on the investigation of drug interactions: CPMP/EWP/560/95/Rev. 1, Corr. 2. European Medicines Agency; 2012.
b. Calculated K_i = Unbound $IC_{50}/2$, assuming reversible inhibition. IC_{50} values listed in Tabulated Summary 2.6.5.12-H.
c. $[I]_u$ = 0.483 μM [196 ng/mL] for systemic DDI: the lorlatinib geometric mean C_{max} determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001), where the lorlatinib human plasma f_u = 0.34.
d. Exceeded the threshold cutoff for potential DDI.

2.6.5.15-N. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, UGT INHIBITION, FDA

Test Article: PF-06895751
Report Number: PF-06895751_[redacted]_095326

Summary Results: Assessment of the Potential Contribution of PF-06895751 Based on Reversible Inhibition to In Vivo DDI Between Lorlatinib and Coadministered Substrates of UGT Enzymes, Based on the Draft FDA Guidance (2012).[a]

Model	UGT	K_i[b] (μM)	[I][c] (μM)	1+ [I]/K_i	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic (R_1) Without 2% BSA	**1A1**	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A4	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A6	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A9	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	2B7	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	2B15	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
Basic (R_1) With 2% BSA	**1A1**	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A4	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A6	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	1A9	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	2B7	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1
	2B15	>50	1.05	<1.1	1+ [I]/K_i >1.1

Notes: Molecular weight of PF-06895751= 184.2 g/mole.
BSA = Bovine serum albumin; C_{max} = Maximum observed concentration; CSR = Clinical study report; DDI = Drug-drug interaction; FDA = Food and Drug Administration; HLM = Human liver microsome; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; [I] = Total mean steady-state C_{max}; K_i = Inhibition constant; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); R_1 = Reversible inhibition; UGT = Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.
a. Draft Guidance for Industry: Drug Interaction Studies – Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. Issued by: U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Feb 2012.
b. Calculated K_i = Unbound IC_{50}/2, assuming reversible inhibition. IC_{50} values listed in Tabulated Summary 2.6.5.12-I.
c. [I] = 1.05 μM [193.7 ng/mL] for systemic DDI: the PF-06895751 geometric mean C_{max} determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study B7461001).

2.6.5.15-O. PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, UGT INHIBITION, EMA

Test Article: PF-06895751

Report Number: PF-06895751_[redacted]_095326

Summary Results: Assessment of the Potential Contribution of PF-06895751 Based on Reversible Inhibition to In Vivo DDIs Between Lorlatinib and Coadministered Substrates of UGT Enzymes, Based on the EMA Guideline (2012).[a]

Model	UGT	K_i[b] (μM)	$[I]_u$[c] (μM)	$[I]_u/K_i$	Threshold Cutoff For Potential DDI
Basic Without 2% BSA					
	1A1	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A4	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A6	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A9	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	2B7	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	2B15	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
Basic With 2% BSA					
	1A1	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A4	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A6	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	1A9	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	2B7	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$
	2B15	>50	0.217	<0.02	$[I]_u/K_i \geq 0.02$

Notes: Molecular weight of PF-06895751= 184.2 g/mole.
BSA = Bovine serum albumin; C_{max} = Maximum observed concentration; CSR = Clinical study report; DDI = Drug-drug interaction; EMA = European Medicines Agency; f_u = Fraction unbound; HLM = Human liver microsome; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; $[I]_u$ = Unbound mean steady-state C_{max}; K_i = Inhibition constant; PF-06895751 = benzoic acid metabolite of lorlatinib (or M8); UGT = Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.
a. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). Guideline on the investigation of drug interactions: CPMP/EWP/560/95/Rev. 1, Corr. 2. European Medicines Agency; 2012.
b. Calculated K_i = Unbound $IC_{50}/2$, assuming reversible inhibition. IC_{50} values listed in Tabulated Summary 2.6.5.12-I.
c. $[I]_u$ = 0.217 μM [40.1 ng/mL] for systemic DDI: the PF-06895751 geometric mean C_{max} determined in patients treated with 100 mg QD lorlatinib (CSR; Study: B7461001), where the PF-06895751 human plasma f_u = 0.207.