TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 1
LIST OF FIGURES 2
本項で使用する用語・略語 3
1. まとめ 5
2. 分析法 6
3. 吸収 6
3.1. In vitro での吸収 6
3.2. 単回投与時の薬物動態 6
3.3. 反復投与時の薬物動態（トキシコキネティクス） 7
4. 分布 9
4.1. In vitro での血漿タンパク結合率 9
4.2. In vitro での血液／血漿中濃度比（Cb/Cp） 10
4.3. ラットを用いた組織分布試験 10
5. 代謝 10
6. 排泄 14
7. 薬物動態学的薬物相互作用 15
7.1. P450 に対する阻害能 16
7.2. P450 に対する誘導能 16
7.3. UGT に対する阻害能 17
7.4. トランスポーターの基質となる可能性 17
7.5. トランスポーターに対する阻害能 17
8. 考察及び結論 18
9. 図表 19
参考文献 19

LIST OF TABLES

Table 1. ニルマトレルビルの LC-MS/MS 法バリデーション 6
Table 2. ラットおよびサルにおけるニルマトレルビルの薬物動態パラメータ 7
Table 3. ニルマトレルビルを経口投与した一般毒性試験における TK データ（雌雄合算）の概要 8

Table 4. ニルマトレルビルを経口投与した胚・胎児発生に関する試験における TK データの概要 9
Table 5. ニルマトレルビルの血漿タンパク結合率 9
Table 6. ニルマトレルビルをインキュベートまたは経口投与したときに in vitro および in vivo で検出された代謝物 13
Table 7. 各種トランスポーターに対するニルマトレルビルの in vitro での特性 18

LIST OF FIGURES

Figure 1. ヒトにニルマトレルビル 300 mg をリトナビル 100 mg と併用経口投与した際のニルマトレルビルの血中代謝プロファイル 12
Figure 2. ヒトにニルマトレルビル 300 mg をリトナビル 100 mg と併用経口投与した際のニルマトレルビルの排泄物中代謝および消失プロファイル 15

本項で使用する用語・略語

略号，用語	省略していない表現または定義
A-B	apical-to-basolateral：頂端膜側から基底膜側
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{24}	area under the plasma concentration-time curve from zero to 24 hours：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{inf}	area under the plasma concentration-time curve from zero to infinity：投与後 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_{last}	area under the plasma concentration-time curve from zero to time of last measurement：投与後 0 時間から最終定量可能時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein
BID	twice daily：1 日 2 回（投与）
BSA	bovine serum albumin：ウシ血清アルブミン
Caco-2	human colonic adenocarcinoma cells：ヒト結腸癌由来細胞
C_{av}	average plasma concentration：平均血漿中濃度
Cb/Cp	concentration in blood/concentration in plasma：血液/血漿中濃度比
CL	total clearance：全身クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
C_{min}	minimum plasma concentration：最低血漿中濃度
CoV	coronavirus：コロナウイルス
CYP	cytochrome P450
dNHBE	differentiated normal human bronchial epithelial cells：分化正常ヒト気管支上皮細胞
EC_{90}	concentration corresponding to 90% of the maximum effect：最大効果の 90%の効果を示す濃度
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
FIH	first-in-human
f_m	fraction metabolized：当該酵素で代謝される割合
fu	fraction unbound：非結合型分率
HEK	human embryonic kidney：ヒト胎児由来腎臓
IC_{50}	50% inhibitory concentration：50%阻害濃度
IV	intravenous：静脈内
k_a	absorption rate constant：吸収速度定数
K_I	apparent inactivation constant at half-maximal rate of inactivation：最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害剤の濃度
K_i	inhibition constant：阻害定数
k_{inact}	maximal inactivation rate：最大不活性化速度定数
$k_{p,uu}$	unbound partition coefficient：組織/血漿間非結合型薬物濃度比
LC-MS/MS	liquid chromatography/tandem mass spectrometry：液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析
MATE	multidrug and toxin extrusion
MDCK	Madin-Darby canine kidney：Madin-Darby イヌ腎臓
mRNA	messenger ribonucleic acid：メッセンジャーRNA
MTBE	methyl tert-butyl ether
m/z	mass to charge ratio：質量電荷比
NA	not applicable：適用なし
NMR	nuclear magnetic resonance：核磁気共鳴

略号，用語	省略していない表現または定義
NR	not reported：報告なし
NTCP	Na taurocholate cotransporting polypeptide
OAT	organic anion transporter
OATP	organic anion transporting polypeptide
OCT	organic cation transporter
P450	cytochrome P450：シトクロム P450
P_{app}	apparent permeability coefficient：見かけの透過係数
PEPT	peptide transporter：ペプチドトランスポーター
P-gp	p-glycoprotein：P-糖タンパク質
PK	pharmacokinetics：薬物動態
PO	oral：経口
SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome coronavirus 2：重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2
$t_{½}$	terminal phase elimination half-life：終末相の消失半減期
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス
T_{max}	time to first occurrence of Cmax：最高濃度到達時間
UGT	uridine diphosphate-glucuronosyltransferase：UDP グルクロン酸転移酵素
Vero	monkey kidney cells：サル腎臓細胞
V_{ss}	volume of distribution at steady state：定常状態時の分布容積

1. まとめ

ニルマトレルビルの薬物動態プロファイルを種々の in vitro および in vivo 試験によって広範に評価した。

ニルマトレルビルの吸収は速く，中程度の CL，中程度から低い V_{ss} を示し，静脈内投与後の $t_{½}$ はラットで 5 時間，サルでは 1 時間未満であった。経口投与時のバイオアベイラビリティは，ラットでは中程度から高値（29～100%超）を示したが，サルでは 10%未満と低かった。ラットおよびサルを用いた反復投与毒性試験において，ニルマトレルビルの曝露量は用量の増加に伴って増加し，一貫した性差は認められなかった。

ニルマトレルビルの受動的膜透過性は低く，血漿タンパク結合率はラット，サルおよびヒト血漿で中程度であった。血漿タンパク結合はウサギでは濃度依存性が認められたが，ラット，サルおよびヒトでは濃度依存的なタンパク結合率の変化はみられなかった。ニルマトレルビルはラット，サルおよびヒト血液において赤血球と比較して血漿中に多く分布した。

ラットにおいて，[^{14}C]ニルマトレルビルは広範な組織に分布したが，肝臓，腸および腎臓を除く大多数の組織での AUC_t の組織：血漿比は 1 未満であった。高い組織内 C_{max} が認められた組織は肝臓，腎臓，膵臓，副腎およびハーダー腺であった。[^{14}C]ニルマトレルビル由来の放射能は血液脳関門を通過しなかった。

In vitro のトランスポーターアッセイでは，ニルマトレルビルはヒトの P-gp の基質となることが示されたが，ヒト BCRP，MATE1，MATE2K，NTCP，OAT1，OAT2，OAT3，OCT1，OCT2，PEPT1，OATP1B1，OATP1B3，OATP2B1，OATP4C1 に対して基質性を示さなかった。

In vitro および in vivo 試験結果から，CYP3A を介した酸化がニルマトレルビルの主要代謝経路であった。ヒト肝ミクロソームを用いた in vitro 試験で，ニルマトレルビルは主に CYP3A4 を介して代謝された。臨床においては，ニルマトレルビルの血漿中濃度を上昇させる目的で CYP3A4 阻害剤であるリトナビルが併用される。

健康被験者にリトナビルおよび非標識ニルマトレルビルを併用投与した際のニルマトレルビルおよびニルマトレルビルのアミド結合が加水分解して生成する代謝物 M5（PF-07320267）のマスバランス，排泄および代謝プロファイルをフッ素（^{19}F）NMR 分光法および LC-MS/MS 法を用いて定量的に評価した。いずれの方法においてもマスバランスでの回収率は同様の結果を示した。^{19}F NMR の定量データと LC-MS/MS を用いた ^{19}F NMR に反応しない非フッ素系加水分解代謝物 M8（PF-07331782）の定量分析結果を合計すると全体としてニルマトレルビルに関連する物質の 85%のマスバランスが得られた。ニルマトレルビルに由来する物質の大部分は未変化体として排泄された（尿中および糞中にそれぞれ 55%および 28%）。血漿中の主なニルマトレルビル関連物質は未変化体であった。

In vitro 試験の結果，ニルマトレルビル/リトナビル（300/100 mg BID）の臨床用量において，ニルマトレルビルは CYP2B6，2C8，2C9 および 3A4 を誘導し，CYP3A4 を可逆的かつ時間依存的に阻害し，また P-gp および OATP1B1 を阻害する可能性が示された。さらに静的モデルを用いた評価の結果，ニルマトレルビルによる CYP2B6，2C8，2C9 および 3A4 の誘導ならびに P-gp および OATP1B1 の阻害リスクは低いと考えられたが，CYP3A4 の可逆的および時間依存的な阻

害のリスクは依然として認められた。ミダゾラム（CYP3A4/5 基質）およびダビガトラン（P-gp 基質）を用いた臨床薬物相互作用試験の結果，ニルマトレルビル/リトナビルの併用は，リトナビル単独と比べて薬物相互作用をほとんど増強しないことが示された。

2. 分析法

ラットおよびサルを用いた GLP 適用一般毒性試験ならびにラットおよびウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験における血漿中ニルマトレルビル濃度を定量するために用いる LC-MS/MS 法（濃度範囲 10～50000 ng/mL）をバリデートした（Table 1，PF-07321332_[redacted]_014313 試験，PF-07321332_[redacted]_015142 試験，[redacted] 試験，[redacted] 試験，概要表 2.6.5.2）。

Table 1.　ニルマトレルビルの LC-MS/MS 法バリデーション

測定対象	定量範囲	試験番号
Wistar Han ラット血漿	10～50000 ng/mL	PF-07321332_[redacted]_014313
Wistar Han ラット血漿	10～50000 ng/mL	[redacted]
New Zealand White ウサギ血漿	10～50000 ng/mL	
カニクイザル血漿	10～50000 ng/mL	PF-07321332_[redacted]_015142
カニクイザル血漿	10～50000 ng/mL	[redacted]

3. 吸収

3.1. In vitro での吸収

低排出の MDCK 細胞を用いた予備的な評価で，ニルマトレルビルの頂端膜側から基底膜側への見かけの透過係数（A-B P_{app}）は 0.78×10^{-6} cm/sec であったことから，受動的膜透過性は低いことが示された[1]。

また，Caco-2 細胞における A-B P_{app} は評価した濃度範囲（0.03～81 µmol/L）において 0.66～1.2 $\times10^{-6}$ cm/sec であり，MDCK 低排出細胞株で認められた低い受動的膜透過性と一致する。排出トランスポーター阻害剤のカクテルで前処理した Caco-2 細胞では，ニルマトレルビル濃度が 0.32 µmol/L における A-B P_{app} は 4.05×10^{-6} cm/sec であり，能動輸送されることが示された（PF-07321332_[redacted]_095737 試験，概要表 2.6.5.12F）。また，ニルマトレルビルは P-gp の基質となることが示された（2.6.4.7.4 項）。

3.2. 単回投与時の薬物動態

ラット（PF-07321332_[redacted]_103131 試験，概要表 2.6.5.3A）およびサル（PF-07321332_[redacted]_111728 試験，概要表 2.6.5.3B）にニルマトレルビル（MTBE との溶媒和物）を単回静脈内または経口投与した。また，ラットにはニルマトレルビル遊離塩基の無水結晶型を被験物質として用い，経口投与した。両動物種ともに，静脈内投与後の血漿 CL は中程度，V_{ss} は中程度から低値であり，$t_{½}$はラットで 5 時間，サルで 1 時間未満であった（Table 2）。経口投与時のバイオアベイラビリティは，ラットでは中程度から高値（29%～100%超）であったが，サルでは低値（10%未満）を示した。

Table 2.　ラットおよびサルにおけるニルマトレルビルの薬物動態パラメータ

動物種	投与量[a] (mg/kg)	投与経路	N	CL (mL/min/kg)	V_{ss} (L/kg)	$t_{½}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{inf} (ng•h/mL)	AUC_{last} (ng•h/mL)	%F
ラット	1	IV	2	27.2	1.8	5.1	–	–	632	630	–
	10	PO	2	–	–	4.0	1.5	1290	3190	3170	50
	10[b]	PO	3	–	–	2.8	0.25	1450	2170	2160	34
	100	PO	2	–	–	14[c]	0.75	29100	58600[c]	68500	>100
	100[b]	PO	3	–	–	5.7	1.4	5300	18100	18000	29
	300	PO	2	–	–	NR[d]	0.38	48900	153000	153000	81
	1000	PO	2	–	–	8.7	1.0	88300	750000	749000	>100
サル	1	IV	2	17.1	0.33	0.8	–	–	977	976	–
	10	PO	2	–	–	NR[d]	0.25	1450	NR[e]	831	8.5

a. 特記しない限り，ニルマトレルビル（MTBE との溶媒和物）を被験物質として投与した。
b. ニルマトレルビル（無水結晶型）を被験物質として投与した。
c. N = 1
d. 識別可能な消失相が得られなかったため，パラメータは算出しなかった。
e. 最後の測定時点で濃度が上昇したため，パラメータは算出しなかった。

3.3. 反復投与時の薬物動態（トキシコキネティクス）

ラット 14 日間および 1 ヵ月間毒性試験，サル 15 日間および 1 ヵ月間毒性試験（Table 3）ならびにラットおよびウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（Table 4）においてニルマトレルビルの TK データを評価した。

ラットおよびサルにおいてニルマトレルビルの曝露量に一貫した性差は認められず，曝露量は用量の増加に伴って増加した。ラットに反復投与したとき，試験 14 および 25 日におけるニルマトレルビルの AUC_{24} はすべての用量で試験 1 日と比較して減少した。サルでは，ニルマトレルビルの AUC_{24} の減少は主に中用量の雌で試験 15 日にみられた。妊娠したラットおよびウサギにおける曝露量は投与量の増加に伴って増加した。

Table 3.　ニルマトレルビルを経口投与した一般毒性試験における TK データ（雌雄合算）の概要

動物種 試験番号	試験日	投与量 (mg/kg/日)	T_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)		AUC_{24} (µg•h/mL)	
				総濃度	非結合型濃度[a]	総濃度	非結合型濃度[a]
ラット[b] [redacted]GR276	1	60	0.50	12.9	6.18	27.3	13.1
		200	0.50	37.0	17.7	291	139
		1000	2.0	62.1	29.7	796	381
	14	60	0.50	13.3	6.37	17.2	8.24
		200	0.50	27.1	13.0	80.5	38.6
		1000	2.0	51.5	24.7	292	140
ラット[b] [redacted]GR122	1	60	0.50	16.2	7.76	34.8	16.7
		200	1.0	35.0	16.8	252	121
		1000	2.0	87.3	41.8	982	470
	25	60	0.50	12.8	6.13	19.2	9.20
		200	1.0	26.0	12.5	94.9	45.5
		1000	1.0	44.5	21.3	548	262
サル[c] [redacted]GR289	1	40 (20 BID)	NR[d]	1.79	0.779	10.4	4.52
		100 (50 BID)	NR[d]	11.3	4.92	84.2	36.6
		600 (300 BID)	NR[d]	59.6	25.9	723	315
	15	40 (20 BID)	NR[d]	2.42	1.05	9.61	4.18
		100 (50 BID)	NR[d]	11.8	5.13	52.6	22.9
		600 (300 BID)	NR[d]	106	46.1	1220	531
サル[e] [redacted]GR125	1	40 (20 BID)	NR[d]	1.25	0.544	4.11	1.79
		100 (50 BID)	NR[d]	5.32	2.31	29.6	12.9
		600 (300 BID)	NR[d]	76.6	33.3	885	385
	28	40 (20 BID)	NR[d]	1.38	0.600	5.62	2.44
		100 (50 BID)	NR[d]	7.80	3.39	45.9	20.0
		600 (300 BID)	NR[d]	87.5	38.1	991	431

a. f_u 値（試験した 4 濃度の平均値）として，ラットでは 0.479，サルでは 0.435 を用いて非結合型濃度を算出した。
b. 雌雄各 15 匹/群による非連続サンプリング（n = 5/測定時点）
c. 雌雄各 3 匹/群による連続サンプリング
d. 1 日 2 回投与のため，T_{max} は算出しなかった。個々の T_{max} 値はおおむね 1 日 2 回投与の 1 回目投与後 0.5～2 時間または 1 日 2 回投与の 2 回目投与後 1 時間だった。
e. 雌雄各 3 または 5 匹/群による連続サンプリング

Table 4.　ニルマトレルビルを経口投与した胚・胎児発生に関する試験における TK データの概要

動物種 試験番号	投与量 (mg/kg/日)[a]	妊娠日	T_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)		AUC_{24} (µg•h/mL)	
				総濃度	非結合型濃度	総濃度	非結合型濃度
ラット	100[b]	17	0.60	29.0	13.9[c]	75.5	36.2[c]
[redacted]GR132	300	17	1.0	43.2	20.7[c]	346	166[c]
	1000	17	1.1	65.4	31.3[c]	535	256[c]
ウサギ	100	19	0.60	17.0	12.0[d]	98.7	39.7[e]
[redacted]GR126	300	19	0.90	42.9	34.3[d]	195	119[e]
	1000	19	1.1	99.6	80.1[d]	689	532[e]

a. ラットでは妊娠 6 日～妊娠 17 日，ウサギでは妊娠 7 日～19 日に 1 日 1 回投与した。特に記載のない限り，各 5 匹/群による連続サンプリング
b. 4 匹（1 匹は生存胎児がいなかったため除外した）
c. f_u 値として 0.479（試験した 4 濃度の平均値）を用い，非結合型濃度を算出した。
d. ウサギ血漿のタンパク結合率には濃度依存性があるため線形内挿法を用いた。
e. AUC は個々の非結合型濃度を用いて算出した。

4. 分布

4.1. In vitro での血漿タンパク結合率

ラット，サルおよびヒトにおけるニルマトレルビルの血漿タンパク結合率は 0.3～10 µmol/L の濃度範囲で中程度で，評価したすべての動物種において同程度であり，この濃度範囲においてタンパク結合率に濃度依存性はみられなかった。一方，ウサギにおいてはタンパク結合率は濃度依存性を示した（Table 5，PF-07321332_[redacted]_010657 試験，[redacted]/067/394 試験，概要表 2.6.5.6）。予備的データから，ニルマトレルビルは主にα1-酸性糖タンパク質に結合することが示されている。

Table 5.　ニルマトレルビルの血漿タンパク結合率

	血漿 f_u				
動物種（系統）	0.3 µmol/L[a]	1 µmol/L[a]	3 µmol/L[a]	10 µmol/L[a]	平均値[b]
ラット（Wistar Han）	0.490	0.474	0.484	0.467	0.479
サル（カニクイザル）	0.386	0.404	0.449	0.499	0.435
ヒト	0.296	0.300	0.311	0.333	0.310

	血漿 f_u[a]					
	2 µmol/L	10 µmol/L	30 µmol/L	50 µmol/L	100 µmol/L	200 µmol/L
ウサギ（ニュージーランドホワイト）	0.0100	0.449	0.734	0.737	0.817	0.804

a. 幾何平均値（n = 12）
b. 試験した 4 濃度の平均値

4.2. In vitro での血液／血漿中濃度比（Cb/Cp）

1 µmol/L の濃度では，ニルマトレルビルは赤血球と比較して血漿中に多く分布し，Cb/Cp は 0.83（ラット），0.68（サル）および 0.60（ヒト）であった（PF-07321332_[redacted]_100444 試験，概要表 2.6.5.8）。

4.3. ラットを用いた組織分布試験

雄性有色（Long-Evans）ラットにおける[^{14}C]ニルマトレルビルの組織分布を定量的全身オートラジオグラフィ（QWBA）によって評価した（8476949 試験，概要表 2.6.5.5）。[^{14}C]ニルマトレルビル（1000 mg/kg, 160 µCi/kg）を単回経口投与後の放射能は 0.5 時間以内に広範に分布した。肝臓，腸および腎臓を除いた大部分の組織で AUC_t の組織：血漿比は 1 未満であった。消化管以外では肝臓，腎臓，膵臓，副腎およびハーダー腺で高い組織中 C_{max} が認められた（T_{max} は多くの組織で 4 時間）。

[^{14}C]ニルマトレルビル由来の放射能は血液脳関門を通過せず，これはニルマトレルビルが P-gp の基質であることと一致した。

多くの組織で[^{14}C]ニルマトレルビル由来の放射能は 24 時間以内に消失した。[^{14}C]ニルマトレルビルのメラニン含有組織への結合は認められなかった。

5. 代謝

ニルマトレルビルの代謝は，in vitro では肝ミクロソーム（マウス，ラット，ハムスター，ウサギ，サルおよびヒト）および肝細胞（ラット，サルおよびヒト）を用いて評価し，in vivo ではラットおよびサルに反復経口投与した後に評価した（概要表 2.6.5.9A，2.6.5.10A）。

予備的な代謝試験において（PF-07321332_[redacted]_084546 試験），計 5 種の酸化的代謝物が in vitro で検出された（Table 6）。主要代謝物は，ピロリジノン環の C-5 位のモノヒドロキシル化により生成された M4 であり，相互変換するジアステレオマーが認められた。また，他の部位の酸化により生成された微量の代謝物が検出された。遺伝子組換えヒト P450 分子種パネルを用いて検討したところ，すべての酸化代謝物は CYP3A4/5 により生成され，他の CYP 分子種の関与はわずかであった。In vivo では，未変化体がラットおよびサル血漿中ならびにラット尿中および胆汁中に最も多く認められた薬物関連物質であり，サル血漿中で最も多く認められた代謝物は M4 であった（Table 6）。

酸化的代謝による生体内変換のほかに，ニルマトレルビル内のアミド結合の加水分解により生成された代謝物 M5（PF-07320267）もラットおよびサルの血中に微量ながら検出され，尿および胆汁中でもわずかに検出された（Table 6）。M5 は，ニルマトレルビルとリトナビルを併用したヒトの血中（微量）および排泄物からも検出された。ニルマトレルビルをヒトの腸内細菌叢とインキュベートしたところ，M5（PF-07320267）と並んで脱トリフルオロアセチル代謝物 M8（PF-07331782）も検出された。腸内細菌叢と 24 時間インキュベートしたところ，ニルマトレルビルの約 3.1%および 1.4%が M5 および M8 に代謝された（PF 07321332_[redacted]_082057 試験）。ヒト全血，腸液ならびに肝臓，腎臓，腸および肺から得られた S9 を含むヒト由来試料を用いた in vitro 評価系において，加水分解は認められなかった。

ヒト肝ミクロソームを用いて選択的 P450 阻害薬の存在下で実施した代謝酵素の同定試験では，CYP3A4 が in vitro でのニルマトレルビルの酸化的代謝に寄与する主要な酵素であると予測され（f_m = 0.99），CYP3A5 のニルマトレルビル代謝への寄与は大きくないと予測された（PF-07321332_[redacted]_072016 試験，概要表 2.6.5.10B）。

ニルマトレルビルは主に CYP3A4 によって代謝されることから，その血漿中濃度を上昇させる目的で，臨床では CYP3A4 阻害薬であるリトナビルを併用している。

ヒトにおいては，リトナビルとの併用により，ニルマトレルビルのクリアランスにおける酸化的代謝の寄与はより小さくなった。健康被験者にリトナビル（100 mg）との併用でニルマトレルビル（300 mg）を単回投与した際（C4671001 試験，コホート 9）[a]，血漿中で主に検出された薬物関連物質はニルマトレルビルの未変化体で，M4，M5 および M8 は微量であった（PF-07321332_[redacted]_090141 試験，Figure 1）。血中にヒト特有の代謝物は認められなかった。

臨床薬物相互作用試験において，ニルマトレルビル/リトナビルに CYP3A4 阻害薬であるイトラコナゾール 200 mg を反復経口併用投与したところ，ニルマトレルビルの定常状態における AUC および C_{max} はそれぞれ 39%および 19%増加した（C4671015 試験，2.7.2.2.2.3.2 項）。イトラコナゾールによる AUC および C_{max} の増加が軽度であったことから，リトナビル併用時においてはニルマトレルビルのクリアランスに対する CYP3A4 の寄与は大きくないことが示された。

ヒト尿中で M5 のアシルグルクロナイド抱合体である M7（PF-07852082）がわずかに検出されたため（PF-07321332_[redacted]_021626 試験），ヒト肝ミクロソームを用いた in vitro 試験で M5（PF-07320267）のグルクロン酸抱合に関与する UGT 酵素を同定した。M5 の代謝に UGT2B4 および 2B7 がそれぞれ 69.8%および 16.7%寄与していた。残りの 13.5%については，どの UGT 代謝酵素によるものか判断できなかった（PF-07321332_[redacted]_021055 試験，概要表 2.6.5.10C）。

[a] C4671001 試験ではリトナビル 100 mg を 12 時間ごとに 4 回投与し，その 2 回目投与時にニルマトレルビル 300 mg を併用した。

Figure 1. ヒトにニルマトレルビル **300 mg** をリトナビル **100 mg** と併用経口投与した際のニルマトレルビルの血中代謝プロファイル

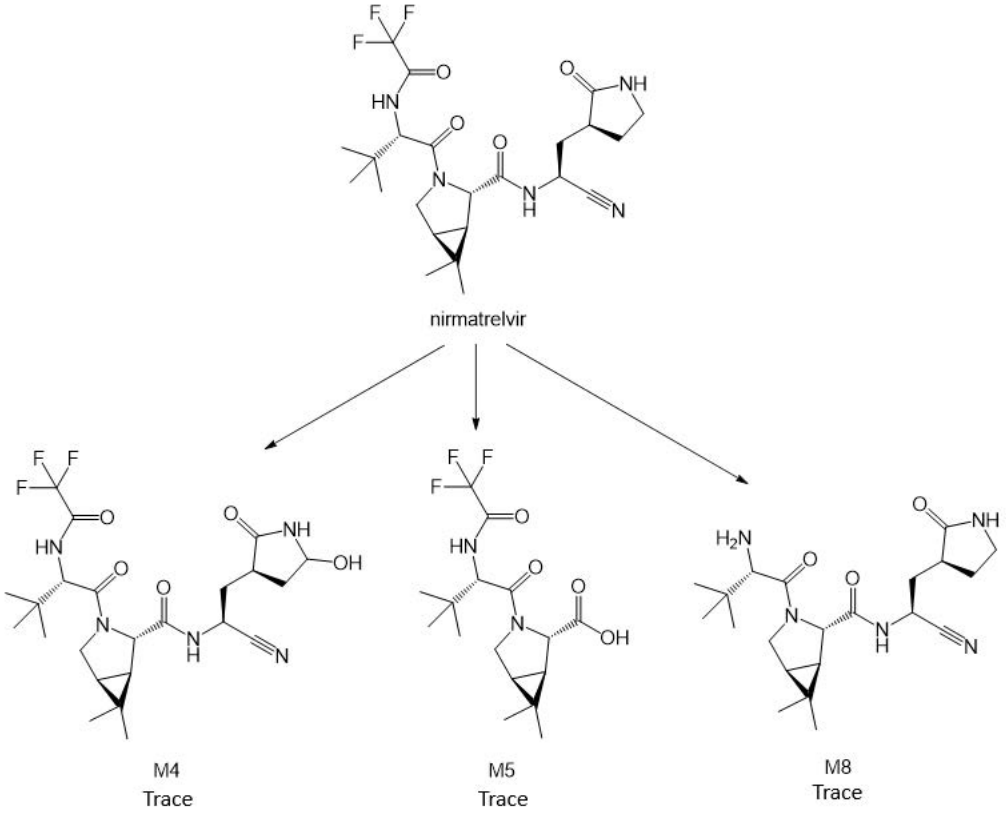


Table 6.　ニルマトレルビルをインキュベートまたは経口投与したときに in vitro および in vivo で検出された代謝物

	肝ミクロソーム						肝細胞			In vivo			
										ラット			サル
代謝物 ID	マウス [a]	ラット [a]	ハムスター	ウサギ	サル	ヒト	ラット	サル	ヒト	血漿 [b]	尿	胆汁	血漿 [b]
ニルマトレルビル	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+++	+++	+++	+++
M1 (PF-07329265)	+	+	+	++	t	+	+	t	t	t	t	t	t
M2 (PF-07329266)	+	+	+	+	t	+	t	t	t	t	-	-	t
M3 (PF-07329267)	+	t	-	t	t	+	-	t	t	+	-	-	+
M4 (PF-07329268)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	t	t	++
M5 (PF-07320267)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	+	t	t	+
m/z 498	+	t	+	+	t	+	-	-	-	+	-	-	+

-：検出できず，+：質量分析法による軽微な UV ピークの検出，++：質量分析法による中程度の UV ピークの検出，
+++：質量分析法による主な UV ピークの検出，NA：適用なし，t：トレース，質量分析法のみで検出
a. 雌雄の試料で結果は類似していた。
b. 雌雄の試料で相対存在量は同じであった。

6. 排泄

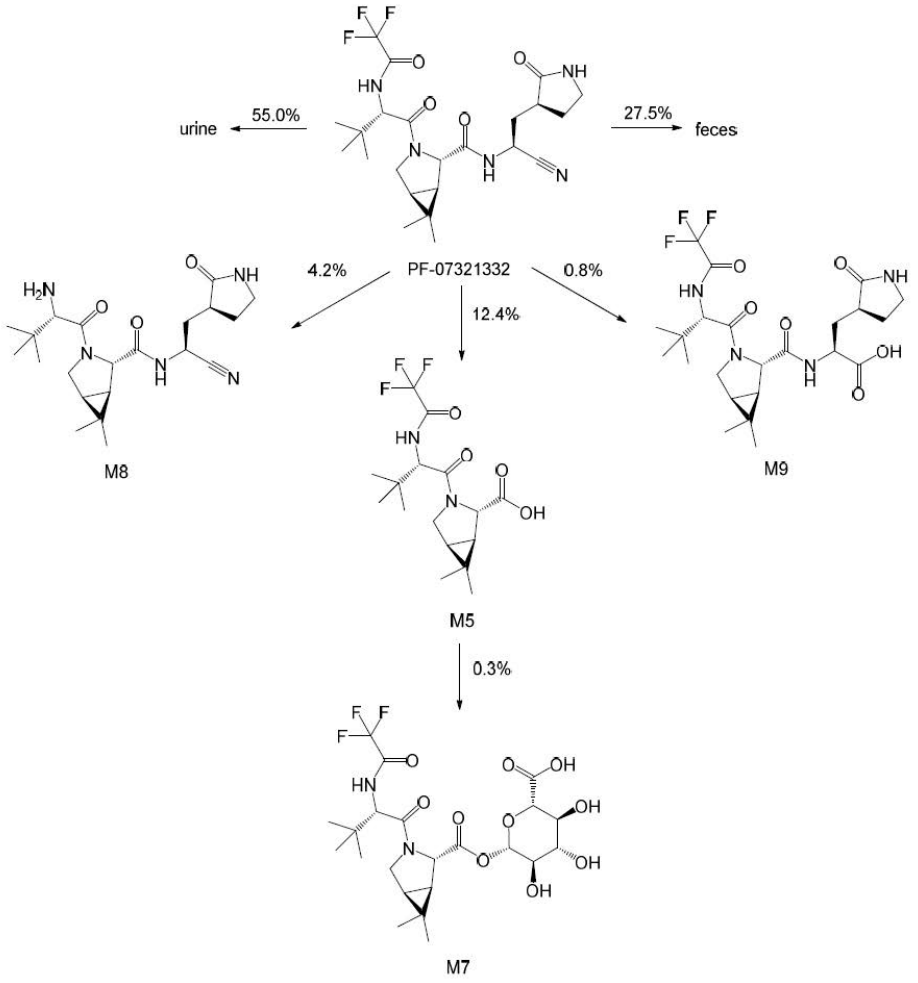
単回投与薬物動態試験で，ラット（PF-07321332_[redacted]_103131 試験）およびサル（PF-07321332_[redacted]_111728 試験）に静脈内または経口投与したときのニルマトレルビルの尿，胆汁および糞中への排泄を評価した。ニルマトレルビル投与量に対する未変化体の排泄率は，ラットでは尿中で 17%，胆汁中で 9%，糞中で最大 11%（10 mg/kg 投与時）であり，サルでは尿中で 7%，糞中で 4%であった。

健康被験者 6 人（C4671001 試験，コホート 9）にリトナビル（100 mg）との併用でニルマトレルビル（300 mg）を単回投与し，非標識ニルマトレルビルのマスバランス，排泄経路および代謝プロファイルを評価した（PF-07321332_[redacted]_014401 試験，PF-07321332_[redacted]_021626 試験，概要表 2.6.5.13，2.6.5.9B）。尿中および糞中の回収率測定には以下の 2 種の測定法を用いた。すなわち，LC-MS/MS 法でニルマトレルビルおよび加水分解代謝物 M5（PF-07320267）を定量し，フッ素（^{19}F）NMR 法でフッ素を含有するすべてのニルマトレルビル関連物質を定量した。

マスバランスを評価した結果，LC-MS/MS 法で 75.6%，^{19}F NMR 法で 80.7%が回収された。2 種の測定法を用いた尿中および糞中排泄率はそれぞれ 41～47%および 34～35%と同様であったことから，排泄物中に含まれるニルマトレルビル関連化合物の大部分がニルマトレルビルおよび代謝物 M5（PF-07320267）であることが示唆された。さらに，投与量の 4.2%がフッ素非含有化合物で ^{19}F NMR に反応しない代謝物 M8（PF-07331782）として排泄され，この代謝物については LC-MS/MS 法により尿中および糞中濃度を定量した。その結果，^{19}F NMR データおよび M8 を合計すると，投与量の 85%が回収された。

排泄物中の代謝物プロファイルの結果から，ニルマトレルビルが投与量の 82.5%を占めており，尿中および糞中にそれぞれ 55%および 28%が排泄された（PF-07321332_[redacted]_021626 試験，Figure 2）。加水分解物 M5（PF-07320267）の生成量は投与量の 12.1%で，主に糞中に排泄された。代謝物 M8（PF-07331782）は尿中および糞中に合わせて 4.2%が排泄され，その他のフッ素含有代謝物は微量（投与量の 1%未満）であった。本試験の結果から，リトナビルとの併用で経口投与されたニルマトレルビルの主な排泄ルートは未変化体の尿中排泄および M5 への加水分解を含む代謝によるものであることが示された。

Figure 2. ヒトにニルマトレルビル 300 mg をリトナビル 100 mg と併用経口投与した際のニルマトレルビルの排泄物中代謝および消失プロファイル



7. 薬物動態学的薬物相互作用

ニルマトレルビルによる in vitro での主要な P450 分子種および UGT 分子種の阻害，主要な P450 分子種の誘導ならびに種々の排出，肝取込みおよび腎排泄トランスポーターの阻害を検討した。ニルマトレルビルが相互作用薬として薬物相互作用を引き起こすリスクは，薬物相互作用に関する厚生労働省ガイドライン[2]，米国食品医薬品局ガイダンス[3]および欧州医薬品庁ガイドライン[4]に従い，ニルマトレルビル/リトナビルの臨床用量（300/100 mg BID）および非結合型 C_{max} 1.96 µmol/L（0.98 µg/mL）[a]に基づいて評価した。

[a] 成人 COVID-19 患者にニルマトレルビル/リトナビルを 300/100 mg BID で 5 日間投与したときのシミュレーションに基づく投与 5 日における C_{max} 3.16 µg/mL（2.7.2.4.3.2 項）およびヒトでの f_u = 0.31（2.6.4.4.1 項）より算出

静的ベーシックモデルに基づく評価により，ニルマトレルビルは CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9 および CYP3A4 を誘導，CYP3A4 を可逆的および時間依存的に阻害ならびに P-gp および OATP1B1 を阻害する可能性があることが示された。

さらに，静的モデルを用いて，推定 C_{max} に基づいた可逆的阻害ならびに血漿，腸管腔，腸細胞，肝臓および門脈流入部の C_{av}（$k_{p,uu}$ および k_a を含む）に基づいた時間依存的阻害を評価し，ニルマトレルビルが薬物相互作用を引き起こす可能性をより詳細に検討した。このモデルに基づくと，ニルマトレルビルが CYP3A4 以外のヒト主要 P450 分子種，UGT 分子種およびトランスポータータンパク質を阻害するリスクは低いと考えられたものの，ヒトに治療用量を投与したときに CYP3A4 の可逆的および時間依存的な阻害が生じる可能性が残った。しかしながら，ニルマトレルビル/リトナビルにミダゾラム（CYP3A4 基質）またはダビガトラン（P-gp 基質）を併用する臨床薬物相互作用試験を実施した結果，リトナビル単独によるものを超える薬物相互作用は認められなかった。

7.1. P450 に対する阻害能

ヒト肝ミクロソームを用いた試験で，ニルマトレルビルは CYP3A4/5 を可逆的に阻害することが示され，IC_{50} 値はそれぞれ 58.3 µmol/L（ミダゾラム），106 µmol/L（テストステロン）および 45.1 µmol/L（ニフェジピン）であった（PF-07321332_[redacted]_113907 試験，概要表 2.6.5.12A）。ニルマトレルビルは CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19 および CYP2D6 を可逆的に阻害しなかった（IC_{50} 値は 300 µmol/L 超）。

加えて，ニルマトレルビルは，ミダゾラムをプローブ基質として用いたときには 3.16 µmol/L 以上の濃度で，テストステロンをプローブ基質として用いたときには 0.562 µmol/L 以上の濃度で，CYP3A4/5 を時間依存的に阻害することが示された（PF-07321332_[redacted]_122202 試験，概要表 2.6.5.12B）。このときのニルマトレルビルの K_I 値および k_{inact} 値は，テストステロン 6β-水酸化に対してそれぞれ 13.9 µmol/L および 0.0165 min^{-1}，ミダゾラム 1'-水酸化に対しては 15.5 µmol/L および 0.0142 min^{-1} であった。

C4671013 臨床試験でニルマトレルビル/リトナビルにミダゾラム（CYP3A4 基質）を併用したところ，ミダゾラムの AUC_{inf} および C_{max} はそれぞれ 14 倍および 3.7 倍上昇した。一方，リトナビルのみを併用したときのミダゾラムの AUC_{inf} および C_{max} 上昇はそれぞれ 16 倍および 3.9 倍であったことから，ニルマトレルビル/リトナビルはリトナビル単独によるものを超える薬物相互作用はもたらさないことが示された（2.7.2.2.2.4.2 項）。

7.2. P450 に対する誘導能

ヒト肝細胞をニルマトレルビル（0.01～200 µmol/L）で処理したとき，評価したいずれの肝細胞ロットにおいても CYP1A2 の mRNA 発現または酵素活性の誘導は認められず，CYP2C19 についても誘導が起こらないことが確認された（PF-07321332_[redacted]_102559 試験，概要表 2.6.5.12C，2.6.5.12D）。ニルマトレルビルは，CYP3A4（最大 41 倍）および CYP2B6（最大 5.45 倍）の mRNA 発現を誘導した。また酵素活性についても誘導が認められた。CYP2C8 および CYP2C9 に対しては mRNA 発現を誘導した（最大 4.4 倍）。しかし，治療用量では，P450 分子種の誘導に起因する薬物動態学的な相互作用のリスクは最小限であると考えられた。

7.3. UGT に対する阻害能

プールしたヒト肝ミクロソームを用いた試験では，ニルマトレルビルは 2% BSA の存在下または非存在下において，UGT1A1，UGT1A4，UGT1A6，UGT1A9，UGT2B7 および UGT2B15 の酵素活性に対して可逆的阻害をほとんどまたは全く示さなかった（IC_{50} 値は 100 µmol/L 超，PF-07321332_[redacted]_103243 試験，概要表 2.6.5.12E）。したがって，治療用量で，これらの UGT 分子種が阻害されるリスクはほとんどまたは全くないと考えられた。

7.4. トランスポーターの基質となる可能性

NTCP，OATP1B1，OATP1B3 および OATP2B1 を安定的に発現している HEK293 細胞を用いて最高 7.7 µmol/L までの濃度で評価した際，ニルマトレルビルはこれらの取込みトランスポーターの基質とならなかった（PF-07321332_[redacted]_114514 試験，概要表 2.6.5.12F）。さらに，プレートに播種したヒト肝細胞およびサンドイッチ培養ヒト肝細胞を用いてニルマトレルビルの肝取込みおよび胆汁中排泄を評価した際，ニルマトレルビルは OAT2，NTCP および OATP に対する既知の阻害薬によって有意に阻害されなかったことから，これらのトランスポーターの取込みによる輸送を受けないことが示された[5]（PF-07321332_[redacted]_110227 試験，概要表 2.6.5.12F）。この試験で，ニルマトレルビルの顕著な胆汁排泄クリアランスがみられ，10 分時点における胆汁中排泄指数は 43%と推定された。別の試験では，ニルマトレルビルはヒト P-gp の基質となるが，ヒト BCRP，MATE1，MATE2K，OAT1，OAT3，OCT1，OCT2，PEPT1 および OATP4C1 の基質とはならないことが示された（PF-07321332_[redacted]_124535 試験，PF-07321332_[redacted]_013448 試験，PF-07321332_[redacted]_124557 試験，概要表 2.6.5.12G）。

7.5. トランスポーターに対する阻害能

安定的にトランスフェクトされた HEK293 細胞または小胞系を用いて検討した結果，種々の排出トランスポーターおよび取込みトランスポーターの大部分に対し，ニルマトレルビルが阻害する可能性は低いことが示された（PF-07321332_[redacted]_020944 試験，概要表 2.6.5.12H）が，治療用量において，ニルマトレルビルによる P-gp および OATP1B1 の阻害による薬物動態学的相互作用の可能性が示された（概要表 2.6.5.15C，Table 7）。しかし，静的モデルを用いてさらに評価したところ，ニルマトレルビルがトランスポーターを阻害するリスクは低いと考えられた。また，約 40 種の阻害薬を対象にした最近の解析[6]によると，$I_{inlet,max,u}/IC_{50}$ の値[a]が 0.5 を下回る薬物は OATP1B を介した薬物相互作用のリスクは低いことが報告されている。ニルマトレルビルの $I_{inlet,max,u}/IC_{50}$ 値は 0.09 であることから，ニルマトレルビルが in vivo で OATP1B1 を阻害する可能性は低いと考えられる。

C4671012 臨床試験でニルマトレルビル/リトナビルにダビガトラン（P-gp 基質）を併用したところ，ダビガトランの AUC_{inf} および C_{max} はそれぞれ 1.9 倍および 2.3 倍上昇した。一方，リトナビルのみを併用したときのダビガトランの AUC_{inf} および C_{max} 上昇はいずれも 1.7 倍であったことから，ニルマトレルビル/リトナビルはリトナビル単独によるものを超える薬物相互作用はもたらさないことが示された（2.7.2.3.1.1 項）。

[a] $I_{inlet,max,u}$：肝臓入り口の血液中での推定最大阻害薬濃度（非結合型）。

Table 7.　各種トランスポーターに対するニルマトレルビルの in vitro での特性

トランスポーター	試験系	プローブ基質	ニルマトレルビル IC_{50}[a] (µmol/L)
BCRP	HEK293 小胞	0.2 µmol/L ロスバスタチン	>1000
MATE1	HEK293 細胞	15 µmol/L [^{14}C]メトホルミン	112
MATE2K	HEK293 細胞	15 µmol/L [^{14}C]メトホルミン	872
P-gp	HEK293 小胞	0.2 µmol/L N-メチルキニジン	70.6
OAT1	HEK293 細胞	0.5 µmol/L [^{3}H]パラアミノ馬尿酸	>1000
OAT3	HEK293 細胞	0.1 µmol/L [^{3}H]エストロン-3-硫酸	521
OATP1B1	HEK293 細胞	0.3 µmol/L ロスバスタチン	44.4
OATP1B3	HEK293 細胞	0.3 µmol/L ロスバスタチン	283
OCT1	HEK293 細胞	10 µmol/L [^{14}C]メトホルミン	138
OCT2	HEK293 細胞	15 µmol/L [^{14}C]メトホルミン	955

a. すべてのトランスポーター阻害アッセイで推定 K_i 値は IC_{50} 値と等しいと仮定した。ただし，P-gp については換算係数 1.28 を用いた（$K_i = IC_{50}/1.28$）。

8. 考察及び結論

ニルマトレルビルの薬物動態プロファイルを種々の in vitro および in vivo 試験によって広範に評価した。

ラットおよびサルを用いた重要な反復投与毒性試験では，ニルマトレルビルの曝露量は用量の増加に伴って増加し，一貫した性差は認められなかった。

ニルマトレルビルの受動的膜透過性は低く，ラット，サルおよびヒトの血漿タンパクとの結合率は中程度であった。ニルマトレルビルは，評価に用いたすべての動物種において，赤血球と比較して血漿中に多く分布した。ウサギ血漿では濃度依存的なタンパク結合率の変化がみられたが，ラット，サルおよびヒト血漿では濃度依存的なタンパク結合率の変化はみられなかった。[^{14}C]ニルマトレルビル由来の放射能は血液脳関門を通過せず，ニルマトレルビルが P-gp の基質であることと一致した。

ニルマトレルビルの酸化的代謝に寄与する主要な酵素は CYP3A4 であった（$f_m = 0.99$）。臨床においては，CYP3A4 を阻害してニルマトレルビルの血漿中濃度を上昇させる目的でリトナビルが併用される。In vivo では，ニルマトレルビル未変化体がラット，サルおよびヒトの血漿中で最も多く検出された薬物関連物質であり，M4（PF-07329268）がサル血漿中で最も多く検出された代謝物であった。ニルマトレルビルとリトナビルを併用したヒトのマスバランス試験では，ニルマトレルビル関連物質の大部分は未変化体として排泄された（尿中および糞中にそれぞれ 55%および 28%）。

ニルマトレルビル/リトナビルは臨床において CYP3A4 および P-gp の基質と薬物相互作用を起こす可能性が示されたが，リトナビル単独によるものを超える薬物相互作用はほとんど示さないと考えられた。他のトランスポーターを介した臨床的意義のある薬物相互作用を起こす可能性は低いと考えられた。

9. 図表

表は，本文中および 2.6.5 項（薬物動態試験概要表）に適宜記載した。

参考文献

[1] Di L, Whitney-Pickett C, Umland JP, et al. Development of a new permeability assay using low-efflux MDCKII cells. J Pharm Sci 2011;100:4974-85.

[2] 厚生労働省「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」平成 30 年 7 月 23 日付け薬生薬審発 0723 第 4 号

[3] In Vitro Drug Interaction Studies. Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-mediated Drug Interactions. In: Guidance for Industry. Silver Spring, MD: Food and Drug Administration; 2020

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

[5] Bi YA, Costales C, Mathialagan S, et al. Quantitative contribution of six major transporters to the hepatic uptake of drugs: "SLC-phenotyping" using primary human hepatocytes. J Pharmacol Exp Ther 2019;370:72-83.

[6] Kimoto E, Costales C, West MA, et al. Biomarker-informed model-based risk assessment of organic anion transporting polypeptide 1B mediated drug-drug interactions. Clin PharmTher 2022;111:404-15.

TABLE OF CONTENTS

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW 3
2.6.5.2A OVERALL SUMMARY OF ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS 6
2.6.5.2B ANALYTICAL METHOD VALIDATION OR QUALIFICATION REPORTS: SUMMARY OF VALIDATION PARAMETERS 7
2.6.5.2C ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS: SUMMARY OF PHARMACOKINETIC AND TOXICOKINETIC STUDIES AND ASSOCIATED ANALYTICAL METHODS 8
2.6.5.3A PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE IN RATS 9
2.6.5.3B PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE IN MONKEYS 11
2.6.5.4 PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES 12
2.6.5.5 PHARMACOKINETICS: ORGAN DISTRIBUTION 13
2.6.5.6 PHARMACOKINETICS: PROTEIN BINDING 16
2.6.5.7 PHARMACOKINETICS: STUDY IN PREGNANT OR NURSING ANIMALS 17
2.6.5.8 PHARMACOKINETICS: OTHER DISTRIBUTION STUDIES, IN VITRO BLOOD TO PLASMA RATIO 18
2.6.5.9A PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VIVO 19
2.6.5.9B PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VIVO, HUMAN 20
2.6.5.10A PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO 21
2.6.5.10B PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO, CYP ENZYME PHENOTYPING 22
2.6.5.10C PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO, UGT ENZYME PHENOTYPING 23
2.6.5.11A PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAY, CIRCULATING METABOLITES IN HUMANS AFTER COADMINISTERED NIRMATRELVIR AND RITONAVIR 24
2.6.5.11B PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAY, CIRCULATING AND EXCRETORY METABOLITES IN HUMANS AFTER COADMINISTERED NIRMATRELVIR AND RITONAVIR 25
2.6.5.12A PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF CYP ENZYMES 26
2.6.5.12B PHARMACOKINETICS: TIME – DEPENDENT INHIBITION OF CYP ENZYMES 27
2.6.5.12C PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES 28
2.6.5.12D PHARMACOKINETICS: INDUCTION KINETICS OF CYP ENZYMES 30
2.6.5.12E PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF UGT ENZYMES 31
2.6.5.12F PHARMACOKINETICS: TRANSPORTER SUBSTRATE ASSESSMENT OF NIRMATRELVIR 32
2.6.5.12F PHARMACOKINETICS: TRANSPORTER SUBSTRATE ASSESSMENT OF NIRMATRELVIR (CONTINUED) 33
2.6.5.12G PHARMACOKINETICS: TRANSPORTER SUBSTRATE ASSESSMENT OF NIRMATRELVIR 34

2.6.5.12H PHARMACOKINETICS: TRANSPORTER INHIBITION 36
2.6.5.13 PHARMACOKINETICS: EXCRETION MASS BALANCE IN HUMANS 37
2.6.5.14 PHARMACOKINETICS: EXCRETION INTO BILE 38
2.6.5.15A PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, CYP INHIBITION 39
2.6.5.15B PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION (FDA) 40
2.6.5.15C PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION (EMA) 41

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: Nirmatrelvir

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	Module Location
Analytical Method and Validation					
Method Validation	Rat (Wistar Han) Plasma	NA	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_014313	4.2.2.1
Method Validation	Rat (Wistar Han) Plasma	NA	[redacted][a]	[redacted]	4.2.2.1
Method Validation	Rabbit (New Zealand White) Plasma	NA	[redacted][a]	[redacted]	4.2.2.1
Method Validation	Monkey (Cynomolgus) Plasma	NA	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_015142	4.2.2.1
Method Validation	Monkey (Cynomolgus) Plasma	NA	[redacted][a]	[redacted]	4.2.2.1
Absorption and Pharmacokinetics					
Single Dose Pharmacokinetics	Rat (Wistar Han)	Oral and IV	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_103131	4.2.2.2
Single Dose Pharmacokinetics	Monkey (Cynomolgus)	Oral and IV	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_111728	4.2.2.2
Repeat Dose Pharmacokinetics					
2-Week Toxicity	Rat (Wistar Han)	Oral	Pfizer Inc.	[redacted]GR276	4.2.3.2
15-Day Toxicity	Monkey (Cynomolgus)	Oral	Pfizer Inc.	[redacted]GR289	4.2.3.2
1-Month Toxicity	Rat (Wistar Han)	Oral	Pfizer Inc.	[redacted]GR122	4.2.3.2
1-Month Toxicity	Monkey (Cynomolgus)	Oral	Pfizer Inc.	[redacted]GR125	4.2.3.2
Embryo-Fetal Development	Rat (Wistar Han)	Oral	Pfizer Inc.	[redacted]GR132	4.2.3.5.2
Embryo-Fetal Development	Rabbit (New Zealand White)	Oral	Pfizer Inc.	[redacted]GR126	4.2.3.5.2
Distribution					
Tissue Distribution of [^{14}C]Nirmatrelvir by Quantitative Whole Body Autoradiography	Male Rats (Long Evans)	Oral	[redacted][b]	8476949	4.2.2.3
Plasma Protein Binding	Rat, Monkey, Human Plasma	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_010657	4.2.2.3
Plasma Protein Binding	Rabbit Plasma	In Vitro	[redacted][c]	[redacted]/067/394	4.2.2.3
Blood to Plasma Partitioning	Rat, Monkey, Human Whole Blood	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_100444	4.2.2.3

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: Nirmatrelvir

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	Module Location
Metabolism					
Preliminary Biotransformation	Microsomes, Hepatocytes, Plasma, Urine, and Bile	In Vitro and In Vivo	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_084546	4.2.2.4
Biotransformation in Human Gut Microbiota	Human Gut Microbiota Culture	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_082057	4.2.2.4
CYP Reaction Phenotyping	Human Liver Microsomes	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_072016	4.2.2.4
UGT Reaction Phenotyping of M5 (PF-07320267)	Human Liver Microsomes	In Vitro	Pfizer Inc	PF-07321332_[redacted]_021055	4.2.2.4
Circulating Metabolite Profile (non-radiolabeled)	Human Plasma	Oral	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_090141	4.2.2.4
Metabolite Profile in Excreta (non-radiolabeled)	Human Urine and Feces	Oral	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_021626	4.2.2.4
Excretion					
Mass Balance Excretion (non-radiolabeled)	Human Urine and Feces	Oral	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_014401	4.2.2.5
Pharmacokinetic Drug Interactions					
Enzyme-Mediated Interactions In Vitro					
Reversible and Time dependent CYP Enzyme Inhibition	Human Liver Microsomes	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_113907	4.2.2.6
Time-dependent CYP 3A4/5 Enzyme Inhibition	Human Liver Microsomes	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_122202	4.2.2.6
UGT Enzyme Inhibition	Human Liver Microsomes	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_103243	4.2.2.6
CYP Induction	Human Cryopreserved Hepatocytes	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_102559	4.2.2.6

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: Nirmatrelvir

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	Module Location
Transporter-Mediated Interactions In Vitro					
Transporter Substrate Potential					
Efflux Transporter Substrate Potential	Caco-2 cells	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_095737	4.2.2.6
Hepatic Uptake and biliary excretion	Plateable Human Hepatocyte Sandwich Cultured Human Hepatocytes	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_110227	4.2.2.6
Hepatic Uptake Transporter Substrate Potential	Transfected HEK293 cells	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_114514	4.2.2.6
BCRP and MDR1 Substrate Potential	Transfected cells	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_124535	4.2.2.6
MATE1, MATE2K, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, PEPT1 Substrate Potential	Transfected HEK293 or MDCKII cells	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_013448	4.2.2.6
OATP4C1 Substrate Potential	Human renal proximal tubule epithelial cells	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_124557	4.2.2.6
Transporter Inhibition					
Transporter Inhibition (BCRP, MATE1, MATE2K, MDR1/P-gp, OAT1, OAT3, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2)	HEK293 cells and vesicles	In Vitro	Pfizer Inc.	PF-07321332_[redacted]_020944	4.2.2.6

BCRP = Breast cancer resistance protein; BID = Twice daily; Caco = Colorectal adenocarcinoma; CYP = Cytochrome P450; HEK = Human embryonic kidney; IV = Intravenous; MATE = Multidrug and toxin extrusion protein; MDCK = Madin-Darby canine kidney; MDR1= Multi-drug resistance protein; NA = Not applicable; NTCP = Sodium taurocholate cotransporting polypeptide; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; PEPT = Peptide transporter; P-gp = P-glycoprotein; UGT = Uridine diphosphate-glucuronosyltransferase.

a. [redacted], NY
b. [redacted], WI
c. [redacted], [redacted], [redacted], UK

2.6.5.2A OVERALL SUMMARY OF ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS

Test Article: Nirmatrelvir

Species (Strain)	Method Validation Report Number	Type of Analytical Method	Matrix/ Anticoagulant	Range (ng/mL)	Comments
Rat (Wistar Han)	PF-07321332_[redacted]_014313	LC-MS/MS	Plasma/K_2EDTA	10.0 - 50000	Quantitation of Nirmatrelvir
Rat (Wistar Han)	[redacted]	LC-MS/MS	Plasma/K_2EDTA	10.0 - 50000	Quantitation of Nirmatrelvir
Rabbit (New Zealand White)	[redacted]	LC-MS/MS	Plasma/K_2EDTA	10.0 - 50000	Quantitation of Nirmatrelvir
Monkey (Cynomolgus)	PF-07321332_[redacted]_015142	LC-MS/MS	Plasma/K_2EDTA	10.0 - 50000	Quantitation of Nirmatrelvir
Monkey (Cynomolgus)	[redacted]	LC-MS/MS	Plasma/K_2EDTA	10.0 - 50000	Quantitation of Nirmatrelvir

K_2EDTA = Dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

2.6.5.2B ANALYTICAL METHOD VALIDATION OR QUALIFICATION REPORTS: SUMMARY OF VALIDATION PARAMETERS

Test Article: Nirmatrelvir

Report Number:	PF-07321332_[redacted]_014313	[redacted]	[redacted]	PF-07321332_[redacted]_015142	[redacted]
Species (Strain):	Rat (Wistar Han)	Rat (Wistar Han)	Rabbit (New Zealand White)	Monkey (Cynomolgus)	Monkey (Cynomolgus)
Analyte:	Nirmatrelvir	Nirmatrelvir	Nirmatrelvir	Nirmatrelvir	Nirmatrelvir
Matrix:	Plasma/K_2EDTA	Plasma/K_2EDTA	Plasma/K_2EDTA	Plasma/K_2EDTA	Plasma/K_2EDTA
Method:	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS
Range of Quantitation (ng/mL):	10.0-50000	10.0-50000	10.0-50000	10.0-50000	10.0-50000
QC Nominal Concentrations (ng/mL):	10.0, 30.0, 1000, 37500	10.0, 30.0, 15000, 37500	10.0, 30.0, 15000, 37500	10.0, 30.0, 1000, 37500	10.0, 30.0, 15000, 37500
Inter-Day Precision Range (%CV):	≤12.1%	≤8.8%	≤8.7%	≤5.4%	≤8.1%
Inter-day Accuracy Range (%Bias):	-1.6% to 6.0%	-3.4 to 1.3%	1.6 to 6.0%	-0.3% to 4.0%	-4.0% to -2.1%
Benchtop Stability	216 hours ambient in plasma	24 hours	24 hours	46 hours	24 hours
Freeze/Thaw (-20 and -70°C)	5 cycles in plasma at -20°C 4 cycles in plasma at -70°C	5 cycles in plasma at -20°C and -70°C	5 cycles in plasma at -20°C and -70°C	4 cycles in plasma at -20°C and -70°C	5 cycles in plasma at -20°C and -70°C
LTS (at -20°C and -70°C):	36 days in plasma	93 days in plasma	16 days in plasma	39 days in plasma	59 days in plasma

CV = Coefficient of variation; K_2EDTA = Dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LTS = Long-term storage; QC = Quality control sample.

2.6.5.2C ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS: SUMMARY OF PHARMACOKINETIC AND TOXICOKINETIC STUDIES AND ASSOCIATED ANALYTICAL METHODS

Test Articles: Nirmatrelvir

Study Description Report Number	Analyte	Type of Analytical Method	Matrix	Method Report Number	Regulatory Status
Rat					
Single Dose Pharmacokinetics PF-07321332_[redacted]_103131	Nirmatrelvir	LC-MS/MS	Plasma	NA	Qualified method
2-Week Toxicity [redacted]GR276	Nirmatrelvir	LC-MS/MS	Plasma	PF-07321332_[redacted]_014313	Validated method
1-Month Toxicity [redacted]GR122	Nirmatrelvir	LC-MS/MS	Plasma	[redacted]	Validated method
Embryo-Fetal Development [redacted]GR132	Nirmatrelvir	LC-MS/MS	Plasma	[redacted]	Validated method
Fertility [redacted]GR146	Nirmatrelvir	LC-MS/MS	Plasma	[redacted]	Validated method
Rabbit					
Embryo-Fetal Development [redacted]GR126	Nirmatrelvir	LC-MS/MS	Plasma	[redacted]	Validated method
Monkey					
Single Dose Pharmacokinetics PF-07321332_[redacted]_111728	Nirmatrelvir	LC-MS/MS	Plasma	NA	Qualified method
15-Day Toxicity [redacted]GR289	Nirmatrelvir	LC-MS/MS	Plasma	PF-07321332_[redacted]_015142	Validated method
1- Month Toxicity [redacted]GR125	Nirmatrelvir	LC-MS/MS	Plasma	[redacted]	Validated method

LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NA = Not applicable.

2.6.5.3A PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE IN RATS

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number:
PF-07321332_[redacted]_103131

Species (Strain):	Rat (Wistar-Han)	Rat (Wistar-Han)	Rat (Wistar-Han)		
Study ID (Watson)	PPK-061-BD-IN	PPK-061-BD-IN	COVID19-021-PK		
Sex/Number of Animals:	Male/2	Male/2	Male/2		
Feeding Condition (Fed/Fasted):	Fed	Fed	Fed		
Vehicle/Formulation:	10% Ethanol/ 10% Capmul MCM/ 35% PEG400/ 45% Tween80[a] + Nirmatrelvir as MTBE solvate	10% DMSO / 30% PEG400 / 60%Water + Nirmatrelvir as MTBE solvate	2% Tween80: 98% (0.5% methylcellulose) + Nirmatrelvir as MTBE solvate		
Method of Administration:	Oral	Intravenous	Oral		
Sample Matrix:	Plasma	Plasma	Plasma		
Sampling Time Points (h post dose):	Predose, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 7 and 24 hours postdose	Predose, 0.033, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 7 and 24 hours postdose	Predose, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 7, 24, 30 and 48 hours postdose		
Dose (mg/kg):	10	1	100	300	1000
Mean PK Parameters:					
C_0 (ng/mL)	-	1780	-	-	-
C_{max} (ng/mL)	1290	-	29100	48900	88300
T_{max} (h)	1.5	-	0.75	0.38	1.0
AUC_{inf} (ng•h/mL)	3190	632	58600	153000	750000
AUC_{last} (ng•h/mL)	3170	630	68500	153000	749000
AUC_{24} (ng•h/mL)	-	-	68300	151000	746000
CL (mL/min/kg)	-	27.2	-	-	-
V_{ss} (L/kg)	-	1.77	-	-	-
$t_{½}$ (h)	4.02	5.14	13.6	NR[b]	8.73
F (%)	50.4	-	108[c,d]	80.7[d]	119[d]
CL_r	-	4.52	-	-	-
% Dose Excreted in Urine (0-24 hours)	-	16.9	-	-	-
% Dose Excreted in Feces (0-48 hours)	10.9	-	8.6	8.5	21.8
% Dose Excreted in Bile	-	8.9 ± 4.7[e]	-	-	-

2.6.5.3A PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE IN RATS (CONTINUED)

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF- 07321332_[redacted]_103131

Species (Strain):	Rat (Wistar-Han)	Rat (Wistar-Han)
Study ID (Watson)	PPK-073-BD-IN	PPK-074-BD-IN
Sex/Number of Animals:	Male/3	Male/3
Feeding Condition:	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:	2% Tween80: 98% (0.5% methylcellulose) + Nirmatrelvir as crystalline anhydrous form	2% Tween80: 98% (0.5% methylcellulose) + Nirmatrelvir as crystalline anhydrous form
Method of Administration:	Oral	Oral
Sample Matrix:	Plasma	Plasma
Dose (mg/kg):	10	100
Sampling Time Points (h post dose):	Predose, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 7 and 24 hours postdose	Predose, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 7, 24, 32 and 48 hours postdose
Mean ± SD PK Parameters:		
C_{max} (ng/mL)	1450 ±373	5300 ± 1380
T_{max} (h)	0.25 ± 0.0	1.4 ± 1.0
AUC_{inf} (ng•h/mL)	2170 ± 1180	18100 ± 8890
AUC_{last} (ng•h/mL)	2160 ± 1180	18000 ± 8880
AUC_{24} (ng•h/mL)	-	17900 ± 8950
$t_{½}$ (h)	2.77 ± 1.39	5.74 ± NC
F (%)[d]	34.3 ± 18.7	28.6 ± 14.1
% Dose Excreted in Feces (0-48 h)	5.32 ± 0.74	3.77 ± 0.75

- = Data not available or not applicable; AUC_{inf} = Area under concentration-time curve from time 0 to infinity; AUC_{last} = Area under the concentration time curve from time 0 to the last measurable concentration; CL= Systemic clearance; CL_r = Renal clearance; C_0 = Concentration at time 0 extrapolated by linear regression from the apparent distribution phase after IV administration; C_{max} = Maximum observed plasma concentration; DMSO = Dimethyl sulfoxide; F = Bioavailability; h = Hour; min = Minute; MTBE = Methyl tert-butyl ether; NC = Not calculated (n<3); PEG 400 = Polyethylene glycol 400; PK = Pharmacokinetics; SD = Standard deviation; $t_{½}$ = Apparent terminal half-life; T_{max} = Time of first C_{max} occurrence; V_{ss} =Apparent volume of distribution at steady state.

a. Animals orally administered nirmatrelvir received 8 mL/kg oral of 1% Hydroxy propyl cellulose in de-ionized water immediately prior to dose.

b. Not reported due to lack of discernible elimination phase.

c. Calculated using AUC_{last} $[(Dose_{,iv}/Dose_{,po}) \times (AUC_{last,po}/AUC_{last,iv}) \times 100]$; AUC_{last} from IV in study PPK 061 BD-IN.

d. Calculated using mean AUC_{inf} from IV in study PPK 061 BD-IN.

e. Mean ± SD; measured in a separate group of bile duct cannulated animals, n=4 (Table 6.7 of the study report).

2.6.5.3B PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE IN MONKEYS

Test Article: Nirmatrelvir
Report Numbers: PF-07321332_[redacted]_111728

Species (Strain):	Monkey (cynomolgus)	Monkey (cynomolgus)
Sex/Number of Animals:	Male / 2	Male / 2
Feeding Condition:	Fed	Fed
Formulation:	2% Tween80 / 98%, 0.5% Methylcellulose + Nirmatrelvir as MTBE solvate	5% PEG400 / 95% in 23% HPBCD + Nirmatrelvir as MTBE solvate
Method of Administration:	Oral	Intravenous
Dose (mg/kg):	10	1
Sample Matrix:	Plasma	Plasma
Sampling time points (h post dose):	Pre, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 7, and 24	Pre, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 7, and 24
Mean Pharmacokinetic Parameters:		
C_0 (ng/mL)	-	24300[a]
C_{max} (ng/mL)	1450	-
T_{max} (h)	0.25	-
AUC_{inf} (ng•h/mL)	NR[b]	977
AUC_{last} (ng•h/mL)	831	976
CL (mL/min/kg)	-	17.1
V_{ss} (L/kg)	-	0.328
$t_{½}$ (h)	NR[c]	0.787
F (%)[d]	8.51	-
CL_r (mL/min/kg)	-	1.28
Dose in Urine (%)	-	7.43
Dose in Feces (%)	3.75	-

- = Data not available or not applicable; AUC_{inf} = Area under concentration-time curve from time zero to infinity; AUC_{last} = Area under concentration-time curve from time zero to the last measurable concentration; BPR = Blood to plasma ratio; CL = Systemic plasma clearance; CL_r = Renal clearance; C_{max} = Peak plasma concentration; C_0 = Concentration at time zero extrapolated by linear regression from the apparent distribution phase following intravenous administration;
F = Bioavailability; HPBCD= 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin; IV = Intravenous; MTBE = Methyl tert-butyl ether; NR = Not reportable;
PEG = Polyethylene glycol; $t_{½}$ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}; V_b = Volume of blood; V_{ss} = Apparent volume of distribution at steady state.
a. $C_0 = Dose_{IV}/V_b/BPR$.
b. Parameter was not reported due to increase in concentration at the last timepoint (24 hours postdose) compared to the second to last timepoint (7 hours postdose).
c. Parameter could not be reported due to a lack of discernible elimination phase.
d. F (%) = ([AUC_{last} (Oral) × Dose (IV)] / [AUC_{last} (IV) × Dose (Oral)]) × 100

2.6.5.4 PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES

Test Article: Nirmatrelvir

Absorption studies after repeated doses of nirmatrelvir have not been assessed.

2.6.5.5 PHARMACOKINETICS: ORGAN DISTRIBUTION

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: 8476949

Species (Strain):	Rat (Long Evans)
Sex/Number of Animals:	Male/9
Feeding Condition:	Fed
Vehicle/Formulation:	2% Tween 80 (v/v) of 0.5% methylcellulose (w/v) in deionized water
Method of Administration:	Oral
Dose:	1000 mg/kg (161 µCi/kg)
Number of Doses:	1
Radionuclide:	[^{14}C]Nirmatrelvir
Specific Activity:	79.9 µCi/mmol
Sampling Time:	0.5, 4, 8, 24, 48, 72, 168, 336, and 672 hours postdose

Tissues/Organs	C_{max} (µg eq/g)	T_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AUC_t (µg eq•h/g)	Tissue: Plasma[a]
Adrenal gland(s)	92.6	0.5	NC	658	<1
Arterial wall	65.4	4.0	7.64	434	<1
Blood (LSC)	52.1	4.0	60.9	1248	<1
Blood (QWBA)	51.0	4.0	NC	755	<1
Bone	NC	NC	NC	NC	NC
Bone marrow	46.8	4.0	7.67	315	<1
Brain	NC	NC	NC	NC	NC
Brain cerebellum	NC	NC	NC	NC	NC
Brain cerebrum	NC	NC	NC	NC	NC
Brain choroid plexus	27.5	4.0	6.72	190	<1
Brain medulla	NC	NC	NC	NC	NC
Brain olfactory lobe	NC	NC	NC	NC	NC
Brain thalamus	NC	NC	NC	NC	NC
Bulbo urethral gland	69.7	4.0	10.1	499	<1
Cecum	719	24.0	6.49	19624	14
Diaphragm	76.8	4.0	8.78	526	<1
Epididymis	46.7	4.0	13.0	292	<1
Esophagus	62.3	0.5	12.0	423	<1
Exorbital lacrimal gland	64.0	4.0	17.7	451	<1
Eye lens	6.46	8.0	NC	12.9	<1
Eye uveal tract	41.6	4.0	5.85	250	<1
Eye vitreous humor	12.0	4.0	28.8	79.7	<1

2.6.5.5 PHARMACOKINETICS: ORGAN DISTRIBUTION

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: 8476949

Tissues/Organs	C_{max} (µg eq/g)	T_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AUC_t (µg eq•h/g)	Tissue: Plasma
Eye(s)	15.1	4.0	14.7	96.1	<1
Fat (abdominal)	NC	NC	NC	NC	NC
Fat (brown)	44.0	4.0	10.3	313	<1
Harderian gland	91.4	4.0	8.97	595	<1
Intervertebral ligament(s)	82.1	4.0	5.66	533	<1
Intra-orbital lacrimal gland	64.5	4.0	19.4	480	<1
Kidney cortex	136	4.0	4.65	1771	1.2
Kidney medulla	139	4.0	4.44	1740	1.2
Kidney(s)	136	4.0	4.53	1749	1.2
Large intestine	230	4.0	16.2	2870	2.0
Liver	219	0.5	36.6	4716	3.3
Lung(s)	59.1	4.0	9.18	404	<1
Lymph node(s)	51.1	4.0	5.77	328	<1
Muscle	45.7	4.0	7.08	299	<1
Myocardium	90.1	4.0	6.42	600	<1
Nasal turbinates	35.6	4.0	8.12	229	<1
Pancreas	108	4.0	48.5	761	<1
Pineal body	68.5	4.0	8.92	448	<1
Pituitary gland	51.7	4.0	14.0	375	<1
Plasma (LSC)	67.7	4.0	54.5	1420	1.0
Preputial gland	39.5	4.0	33.9	231	<1
Prostate gland	57.2	4.0	5.61	358	<1
Salivary gland(s)	73.0	4.0	6.75	497	<1
Salivary gland(s), parotid	71.7	4.0	6.16	484	<1
Seminal vesicle(s)	46.8	4.0	7.18	263	<1
Skin (nonpigmented)	33.1	4.0	7.99	204	<1
Skin (pigmented)	34.1	4.0	19.1	225	<1
Small intestine	338	8.0	7.58	6113	4.3
Spinal cord	NC	NC	NC	NC	NC
Spleen	62.2	4.0	18.6	461	<1
Stomach	118	0.5	24.0	779	<1

2.6.5.5 PHARMACOKINETICS: ORGAN DISTRIBUTION

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: 8476949

Tissues/Organs	C_{max} (µg eq/g)	T_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AUC_t (µg eq•h/g)	Tissue:Plasma
Testis(es)	38.4	4.0	11.1	223	<1
Thymus	51.4	4.0	11.4	361	<1
Thyroid	63.1	4.0	15.2	436	<1
Urinary bladder	70.0	4.0	63.3	477	<1

AUC_t = Area under the concentration time curve from time 0 to the last measurable timepoint; C_{max} = Maximum observed plasma concentration; LSC = Liquid scintillation counting; QWBA = Quantitative whole-body autoradiography; NC = Not calculated; t½ = Elimination half-life; T_{max} = Time of first C_{max} occurrence.
a. Tissue:Plasma = Tissue AUC_t / Plasma AUC_t.

2.6.5.6 PHARMACOKINETICS: PROTEIN BINDING

Test Article: Nirmatrelvir
Report Numbers: PF-07321332_[redacted]_010657; [redacted]/067/394

Test System:	In Vitro, Plasma
Method:	Equilibrium dialysis
Analytical Method	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry
Number of Replicates	12
Duration of Incubation	6 hours

Species (Strain/Sex)	Concentration (µM)	Fraction Unbound		
		Geometric Mean	95% Confidence Interval	
			Lower	Upper
Rat (Wistar Han/ Male)	0.3	0.490	0.467	0.514
	1	0.474	0.445	0.504
	3	0.484	0.466	0.503
	10	0.467	0.454	0.480
Rabbit (New Zealand White)	2	0.0100	0.00792	0.0127
	10	0.449	0.282	0.714
	30	0.734	0.554	0.971
	50	0.737	0.565	0.961
	100	0.817	0.712	0.939
	200	0.804	0.683	0.946
Monkey (Cynomolgus/ Male)	0.3	0.386	0.371	0.401
	1	0.404	0.394	0.414
	3	0.449	0.437	0.461
	10	0.499	0.487	0.511
Human (Male and Female)	0.3	0.296	0.285	0.307
	1	0.300	0.291	0.309
	3	0.311	0.304	0.319
	10	0.333	0.318	0.349

2.6.5.7 PHARMACOKINETICS: STUDY IN PREGNANT OR NURSING ANIMALS

Test Article: Nirmatrelvir

Pharmacokinetic studies with nirmatrelvir in pregnant or nursing animals have not been assessed.

2.6.5.8 PHARMACOKINETICS: OTHER DISTRIBUTION STUDIES, IN VITRO BLOOD TO PLASMA RATIO

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF-07321332_[redacted]_100444

Test System:	Whole blood and plasma
Analytical Method:	LC-MS/MS
Concentration:	1 µM (0.500 µg/mL)
Number of Animals[a]	3

Species (Strain)	Incubation Duration (hour)			
	1		3	
	Blood to Plasma Ratio (Cb/Cp) (Mean ± SD)[b]	RBC/Plasma Ratio or Kp (Mean ± SD)[b]	Blood to Plasma Ratio (Cb/Cp) (Mean ± SD)[b]	RBC/Plasma Ratio or Kp (Mean ± SD)[b]
Rat (Wistar Han)	0.83 ± 0.049	0.58 ± 0.12	0.81± 0.0061	0.53±0.025
Monkey (Cynomolgus)	0.68 ± 0.024	0.37 ± 0.041	0.73±0.033	0.48±0.063
Human	0.60 ± 0.024	-0.0053 ± 0.070[c]	0.68±0.041	0.17±0.11

Cb = Concentration in blood; Cp = Concentration in plasma; Kp = Partition coefficient; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; RBC = Red blood cell; SD = Standard deviation.
a. Number of animals pooled for blood;
b. Number of replicates = 3;
c. A negative Kp indicates no or very low blood partitioning.

2.6.5.9A PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VIVO

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF-07321332_[redacted]_084546

Type of Study: In vivo qualitative evaluation of the biotransformation of nirmatrelvir
Analysis Method: Ultrahigh performance liquid chromatography-ultraviolet-high resolution mass spectrometry

Metabolite Label	Metabolites Detected					
	Plasma				Urine	Bile
	Female Rat	Male Rat	Female Monkey	Male Monkey	Male Rat	Male Rat
Nirmatrelvir	+++	+++	+++	+++	+++	+++
M1 (PF-07329265)	t	t	t	t	t	t
M2 (PF-07329266)	t	t	t	t	-	-
M3 (PF-07329267)	+	+	+	+	-	-
M4 (PF-07329268)	+	+	++	++	t	t
M5 (PF-07320267)	+	+	+	+	t	t
m/z 498	+	+	+	+	-	-

- = Not detected; M = Metabolite; m/z = Mass to charge ratio; t = Trace metabolite (absent in UV trace but present in mass spectrometry); UV = Ultraviolet detection; + = Minor metabolite as assessed by UV trace; ++ = Moderate metabolite as assessed by UV trace; +++ = Major metabolite as assessed by UV trace.

2.6.5.9B PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VIVO, HUMAN

Test Article: Nirmatrelvir
Report Numbers:
PF-07321332_[redacted]_090141[a]
PF-07321332_[redacted]_021626

Species:	Healthy Human Volunteers
Sex/Number of Subjects:	Male/6 Subjects
Vehicle/Formulation:	Tablet
Method of Administration:	Oral
Dose (mg):	300 mg Nirmatrelvir (100 mg Ritonavir)
Analytical Method	Quantitative fluorine NMR spectroscopy to selectively capture all drug-related entities possessing a fluorine substituent and high-resolution mass spectrometry

Metabolite	t_R (min)	*m/z*	% in Sample by ^{19}F-NMR		% of Dose by ^{19}F-NMR		% of Normalized Dose[b]		
			Pooled Urine[c]	Pooled Feces[d]	Pooled Urine[c]	Pooled Feces[d]	Pooled Urine[c]	Pooled Feces[d]	Total
Nirmatrelvir	42	500	98.5	68.8	46.3	22.5	55.0	27.5	82.5
M5 (PF-07320267)	48.5	365	0.7	29.2	0.3	9.8	0.4	11.7	12.1
M7 (acyl glucuronide of M5)	37	641	0.6	ND	0.3	ND	0.3	ND	0.3
m/z 519	32	519	ND	2.1	ND	0.7	ND	0.8	0.8
M8 (PF-07331782)[e]	NA	404	NA	NA	NA	NA	2.6	1.6	4.2
Total Fluorine							55.8[f]	40.0	95.8[f]
Total							58.4	41.6	100

F-NMR = Fluorine nuclear magnetic resonance; HPLC = High performance liquid chromatography; M = Metabolite; m/z = Mass to charge ratio; NA = not applicable; ND = not detected; NMR = Nuclear magnetic resonance; t_R = Retention time.
a. In plasma the only drug-related entity was unmetabolized nirmatrelvir by ^{19}F-NMR analysis, while high-resolution mass spectral data also showed nirmatrelvir as the predominant drug-related entity with only trace quantities of metabolites M4, M5, and M8.
b. Calculated based on dose normalization to 95.8% mass balance (ie 100% minus the 4.2% of dose comprised by non-fluorinated metabolite M8)
c. Urine samples collected on Days 1 through 4 were pooled.
d. Fecal samples collected on Days 1 through 5 were pooled.
e. M8 in excreta was analyzed in Study PF-07321332_[redacted]_014401.
f. Sums do not exactly match due to rounding.

2.6.5.10A PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO

Test Article: Nirmatrelvir

Report Numbers: PF-07321332 [redacted] 084546
PF-07321332 [redacted] 082057

Type of Study:	Identification of Nirmatrelvir Metabolites In Vitro			
Study System:	Liver Microsomes	Hepatocytes	Recombinant Human CYPs	Human Gut Microbiota
Nirmatrelvir Concentration:	10 µM	10 µM	10 µM	10 and 100 µM
Analysis Method:	Ultrahigh performance liquid chromatography-ultraviolet-high resolution mass spectrometry			

Metabolite Label	Metabolites Detected									
	Liver Microsomes						Hepatocytes			Human Gut Microbiota
	Mouse[a]	Rat[a]	Hamster	Rabbit	Monkey	Human	Rat	Monkey	Human	
M1 (PF-07329265)	+	+	+	++	t	+	+	t	t	NR
M2 (PF-07329266)	+	+	+	+	t	+	t	t	t	NR
M3 (PF-07329267)	+	t	-	t	t	+	-	t	t	NR
M4 (PF-07329268)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	NR
m/z 498	+	t	+	+	t	+	-	-	-	NR
M5 (PF-07320267)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	3.1[b]
M8 (PF-07331782)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1.4[b]

Metabolite Label	Metabolites Detected						
	Cytochrome P450[c]						
	CYP2C8	CYP2C18	CYP2D6	CYP2J2	CYP3A4	CYP3A5	CYP3A7
M1 (PF-07329265)	t	-	-	-	+	+	t
M2 (PF-07329266)	-	-	-	-	+	t	-
M3 (PF-07329267)	-	-	-	-	+	t	-
M4 (PF-07329268)	t	t	t	t	+	+	+
m/z 498	-	-	-	-	+	+	t

Notes: Liver microsomes and rCYPs were incubated in the presence of NADPH.
- = Not detected; CYP = Cytochrome P450; m/z = Mass-to-charge ratio; M = Metabolite; MS = mass spectrometry; NADPH = Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NR = Not reported; rCYP = Recombinant human CYP; t = Trace metabolite (absent in UV trace but present in MS); UV = Ultraviolet detection; + = Minor metabolite as assessed by UV trace; ++ = Moderate metabolite as assessed by UV trace; +++ = Major metabolite as assessed by UV trace.
a. Male and female mouse and rat samples were analyzed separately, result represents the greatest observation of metabolite.
b. % of substrate converted from 100 µM incubation.
c. CYP1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2E1, 4F2 were also evaluated but did not generate any metabolites.

2.6.5.10B PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO, CYP ENZYME PHENOTYPING

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF-07321332_[redacted]_072016

Type of Study:	In vitro metabolism of nirmatrelvir by CYP 3A4/5.
Study System:	Enzyme Kinetics: HLM; Phenotyping: HLM with CYP3A-selective (Ketoconazole) and CY3A4-selective (CYP3cide) inhibitors
Nirmatrelvir Concentration:	0.02 to 200 µM (enzyme kinetics) and 2.5 µM (selective inhibition)
Method of Analysis:	Liquid chromatography- tandem mass spectrometry

Enzyme Kinetics and fm		**Total**	**Metabolites**							
			PF-07329265 (M1)		**PF-07329266 (M2)**		**PF-07329267 (M3)**		**PF-07329268 (M4)**	
Model		--	MM		2-enzyme MM[a]		AS		MM	
K_m (µM)		--	28.0		24.0		31.0		25.5	
V_{max} (pmol/min/mg)		--	17.2		9.79		15.2		381	
$CL_{int,app}$ (µL/min/mg)		16.5	0.614		0.408		0.490		14.9	
$CL_{int,app,u}$[b] (µL/min/mg)		17.5	0.654		0.434		0.522		15.9	
f_{CL}		1.00	0.037		0.025		0.030		0.91	
% Inhibition 3A		--	95		96		98		99	
f_m CYP 3A4/5		0.99	0.036		0.024		0.029		0.90	
f_m CYP Other		0.01	0.0018		0.0011		0.00058		0.0077	
Selective Inhibition of 3A4 and 3A5	**Inhibitor**	**CYP**	**V**	**% Inhibition**	**V**	**% Inhibition**	**V**	**% Inhibition**	**V**	**% Inhibition**
Genotyped Pooled HLM Lot 3A5∗1/∗1 (expressing high 3A5)	Control	--	1.75	--	0.969	--	1.50	-	57.0	-
	1 µM Keto	CYP3A4/5	0.0424	98	<0.0556	ND	0.0328	98	1.89	97
	1 µM CYP3cide	CYP3A4	0.107	94	<0.0556	ND	0.0782	95	8.59	85
	% Contribution CYP3A5		NS (3.7)		ND		NS (3.0)		NS (12)[c]	
Genotyped Pooled HLM Lot 3A5∗3/∗3 (expressing low 3A5)	Control	--	1.08	--	0.651	--	0.899	--	33.2	-
	1 µM Keto	CYP3A4/5	<0.0556	ND	<0.0556	ND	<0.0556	ND	0.455	99
	1 µM CYP3cide	CYP3A4	<0.0556	ND	<0.0556	ND	<0.0556	ND	0.533	98
	% Contribution CYP3A5		ND		ND		ND		NS (0.23)	

- = Not applicable; AS= Allosteric sigmoidal; CYP = Cytochrome P450; $CL_{int,app}$= Apparent intrinsic clearance; $CL_{int,app,u}$= Apparent intrinsic clearance unbound; f_{CL}=Fractional clearance; f_m = Fraction metabolized; HLM = Human liver microsomes; K_m= Substrate concentration at half maximal velocity; M = Metabolite; MM=Michaelis-Menten; ND =Not determined; NS= Not significant; V = velocity (pmol/min/mg); V_{max}= Maximum velocity.

a. Highest affinity parameters reported; parameters from Low affinity linear approximation can be found in the report.

b. Protein adjusted microsomal free fraction = 0.940 for 0.3 mg/mL incubation protein concentration.

c. P-value was 0.0294.

2.6.5.10C PHARMACOKINETICS: METABOLISM IN VITRO, UGT ENZYME PHENOTYPING

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF-07321332_[redacted]_021055

Type of Study:	In vitro metabolism of PF-07320267 (M5) by UGT
Study System:	Enzyme Kinetics: HLM; Phenotyping: HLM with selective chemical inhibitors
PF-07320267 (M5) Concentration:	25 µM for selective inhibition
Method of Analysis:	Liquid chromatography- tandem mass spectrometry

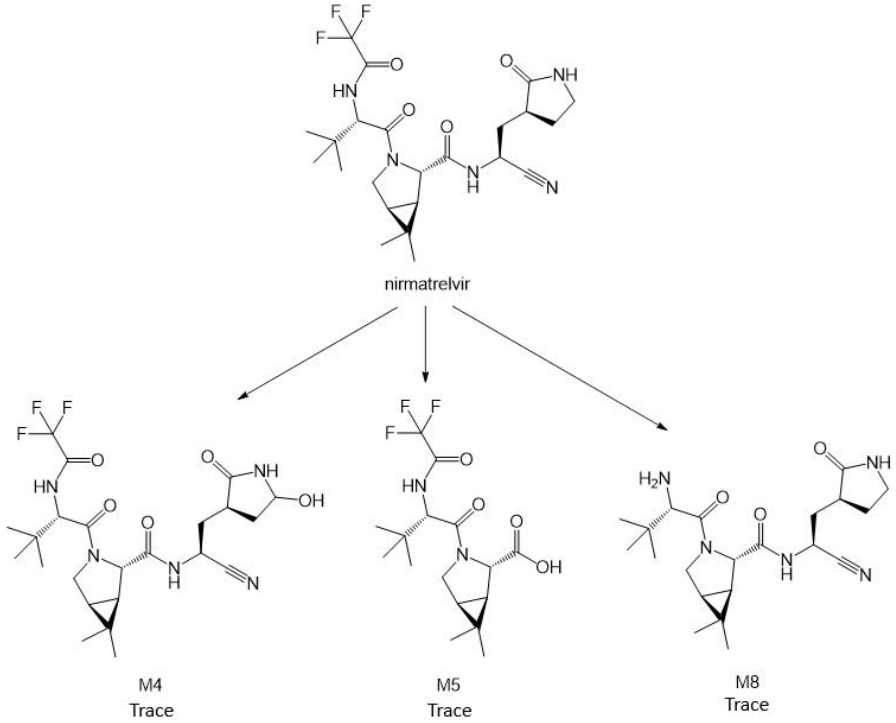
Metabolite Formation Kinetics	Kinetic Fit	K_M (µM)	Vmax (pmol/min/mg)
PF-07852082 (M7)	Michaelis Menten	267	1308

UGT Enzyme (Inhibitor)	Monitored Metabolite	Inhibition Model	IC_{50} (µM)	f_{INH} (%)
2B17 (Imatinib)	M7	Log [Inhibitor] vs response – variable slope (3-parameter)	No significant inhibition	No significant inhibition
	PC: Testosterone-*O*-glucuronide	Log [Inhibitor] vs response – variable slope (3-parameter)	0.255	86.4
2B4 (Clotrimazole)	M7	Double inhibition	0.0239	69.8[a]
	PC: Canagliflozin-*O*-glucuronide, M5	Inhibitor vs response – variable slope (3-parameter)	0.0184	92.4
2B4/2B7 (16β-Phenyllongifolol)	M7	[Inhibitor] vs response – variable slope (3-parameter)	0.0317	86.5[b]
	PC: Zidovudine-5′-glucuronide	[Inhibitor] vs response (3-parameter)	0.0795	98.2
Unassigned Contribution				13.5[c]

f_{INH} = Fraction of metabolite inhibited; HLM = human liver microsomes; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; K_M = Substrate concentration at half-maximal velocity; M = Metabolite; PC = Positive control; UGT = Uridine diphosphate-glucuronosyltransferase; Vmax = Maximal velocity.
a. UGT2B4 contribution equals 69.8%.
b. UGT2B7 contribution is 16.7 % (calculated by 86.5% − 69.8%).
c. Remaining unassigned contribution is 13.5% (calculated by 100% − 86.5).

2.6.5.11A PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAY, CIRCULATING METABOLITES IN HUMANS AFTER COADMINISTERED NIRMATRELVIR AND RITONAVIR

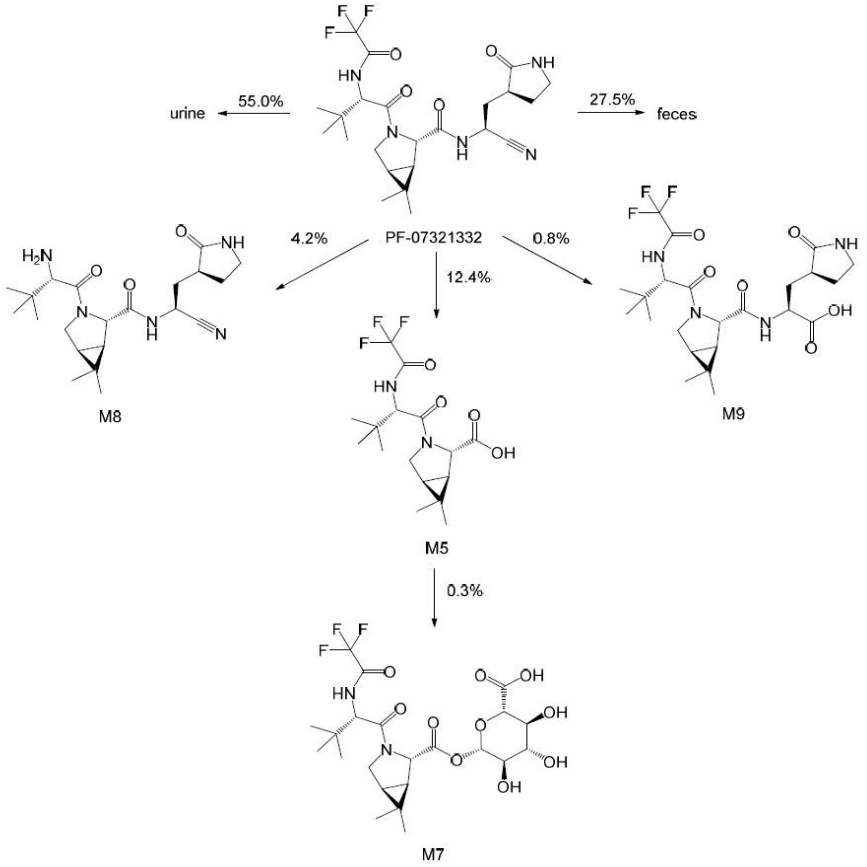
Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF-07321332_[redacted]_090141



M = Metabolite; Trace = Observation of the presence of the metabolite only by mass spectrometry and not by [^{19}F]NMR.
Following a single oral dose of 300 mg nirmatrelvir with 100 mg ritonavir, nirmatrelvir was the most predominant drug-related entity, with trace levels of metabolites M4, M5, and M8 detected in plasma (Study C4671001, Cohort 9).

2.6.5.11B PHARMACOKINETICS: PROPOSED METABOLIC PATHWAY, CIRCULATING AND EXCRETORY METABOLITES IN HUMANS AFTER COADMINISTERED NIRMATRELVIR AND RITONAVIR

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF-07321332_[redacted]_021626



M = Metabolite.
The metabolite profile of nirmatrelvir in urine and feces following oral administration of 300 mg nirmatrelvir with 100 mg ritonavir (Study C4671001, Cohort 9).

2.6.5.12A PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF CYP ENZYMES

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF-07321332_[redacted]_113907

Method: In vitro incubation with human liver microsomes and individual substrates of CYP enzymes in the presence of NADPH
Analytical Method: LC-MS/MS
Concentration of Nirmatrelvir: 0.01 to 300 µM

CYP	Enzyme Reaction	Zero-Minute Preincubation (T_0)			30-Minute Preincubation (T_{30})			Fold IC_{50} Shift	Potential for TDI[a] (Time-& NADPH-Dependent)
		IC_{50} (µM)	95% CI	Inhibition at 300 µM (%)[b]	IC_{50} (µM)	95% CI	Inhibition at 300 µM (%)[b]		
1A2	Phenacetin *O*-dealkylation	>300	NC	4.0	>300	NC	0	NC	No
2B6	Bupropion hydroxylation	>300	NC	27.0	>300	NC	26.8	NC	No
2C8	Amodiaquine *N*-dealkylation	>300	NC	25.1	>300	NC	22.0	NC	No
2C9	Diclofenac 4′-hydroxylation	>300	NC	13.2	>300	NC	14.2	NC	No
2C19	*S*-Mephenytoin 4′-hydroxylation	>300	NC	11.7	>300	NC	13.2	NC	No
2D6	Dextromethorphan *O*-demethylation	>300	NC	21.2	>300	NC	7.8	NC	No
3A4/5	Midazolam 1′-hydroxylation	58.3	46.0-74.5	78.9	27.4	22.8-33.0	88.4	2.13	Yes
3A4/5	Testosterone 6β-hydroxylation	106	75.6-160	69.8	61.1	53.5-69.9	78.6	1.73	Yes
3A4/5	Nifedipine oxidation	45.1	35.4-58.0	75.0	36.6	29.4-45.8	75.0	1.23	No

CI= Confidence interval; CYP = Cytochrome P450; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NADPH = Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NC = Not calculated; TDI = Time-dependent inhibition; T_0 = Time zero; T_{30} = Time 30 minutes.
a. Potential for time dependent inhibition when IC_{50} shift is >1.5 fold.
b. Inhibition observed (%) is calculated with the following formula: Inhibition observed (%) = 100% − Activity remaining.

2.6.5.12B PHARMACOKINETICS: TIME – DEPENDENT INHIBITION OF CYP ENZYMES

Test Article: Nirmatrelvir
Report Numbers: PF-07321332_[redacted]_122202

Type of Study:	Evaluation of TDI of CYP 3A4/5 by Nirmatrelvir
Method:	In vitro incubation with HLM and substrates of CYP 3A4/5 in the presence and absence of NADPH
Analytical Method:	HPLC-MS/MS
Concentrations of Nirmatrelvir:	0.1 to 100 µM.

CYP	Probe Substrate (Concentration)	k_{inact} ± SE (min^{-1})	K_I ± SE (µM)	k_{inact} / K_I (mL/µmol/min)
3A4/5	Midazolam (20.9 µM)	0.0142 ± 0.0013	15.5 ± 4.9	0.916 ± 0.302
3A4/5	Testosterone (386 µM)	0.0165 ± 0.0010	13.9 ± 3.0	1.23 ± 0.29

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

2.6.5.12C PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES

Test Article: Nirmatrelvir

Report Number: PF-07321332_[redacted]_102559

Type of Study: Evaluation of CYP (3A4, 2B6, 1A2, 2C8, 2C9, and 2C19) induction by nirmatrelvir.
Method: In vitro incubation with cryopreserved human hepatocytes and quantitated by LC-MS/MS and quantitative RT-PCR
Concentrations of CYP Substrates: 30 µM Midazolam (CYP3A4), 200 µM Bupropion (CYP2B6), 100 µM Phenacetin (CYP1A2)

Hepatocyte Lot	Nirmatrelvir Concentration (µM)	mRNA Fold Induction						Enzyme Activity Fold Induction		
		3A4	2B6	1A2	2C8	2C9	2C19	3A4	2B6	1A2
BXM	0.01	0.945	1.04	1.14	1.02	0.96	0.89	0.985	0.975	1.11
	0.03	1.07	1.17	1.30	1.05	1.09	1.02	0.982	0.934	1.10
	0.1	1.18	1.10	1.15	1.02	1.00	0.99	0.879	0.764	1.10
	0.3	1.24	1.08	1.24	1.14	1.04	0.93	0.927	0.860	1.12
	1	1.66	1.28	1.17	1.22	1.22	1.09	0.907	0.998	1.05
	3	3.53	1.48	1.17	1.54	1.51	1.08	1.01	1.15	1.06
	10	5.24	1.60	0.765	1.35	1.25	0.56	1.40	1.60	1.13
	30	17.1	2.49	0.880	3.22	2.04	1.01	1.86	2.15	1.34
	50	25.1	3.36	1.05	3.78	2.65	1.33	2.08	2.40	1.40
	100	26.7	3.23	0.857	3.89	2.74	1.06	2.08	2.88	1.46
	200	30.0	3.85	1.10	4.38	2.99	1.43	2.03	3.16	1.64
BNA	0.01	1.10	0.988	1.06	1.01	1.07	1.01	1.01	0.995	1.02
	0.03	1.27	1.14	1.29	1.10	1.17	1.19	1.03	0.994	1.03
	0.1	1.13	1.07	1.18	1.07	1.02	1.04	1.06	0.997	0.968
	0.3	1.25	1.28	1.25	1.21	1.18	1.17	1.09	1.02	0.963
	1	1.98	1.37	1.25	1.27	1.19	1.27	1.13	1.05	0.970
	3	3.91	1.57	1.19	1.59	1.37	1.40	1.48	1.39	1.08
	10	9.94	1.90	1.10	2.07	1.38	1.44	2.08	2.09	1.23
	30	23.3	3.00	0.992	2.78	1.48	1.46	2.58	3.59	1.37
	50	29.4	4.11	1.12	3.57	1.80	1.78	2.78	4.48	1.49
	100	33.1	4.81	1.23	3.72	1.87	2.01	2.63	5.17	1.65
	200	31.7	5.45	1.34	3.60	1.85	2.04	2.50	5.59	1.67

2.6.5.12C PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES (CONTINUED)

Test Article: Nirmatrelvir

Report Number: PF-07321332_[redacted]_102559

Hepatocyte Lot	Nirmatrelvir Concentration (µM)	mRNA Fold Induction						Enzyme Activity Fold Induction		
		3A4	2B6	1A2	2C8	2C9	2C19	3A4	2B6	1A2
FOS	0.01	1.11	1.12	1.09	1.10	1.07	1.02	1.05	1.00	1.00
	0.03	1.23	1.38	1.25	1.31	1.24	1.19	1.27	1.05	1.01
	0.1	1.19	1.18	1.29	1.33	1.28	1.11	1.23	0.98	1.05
	0.3	1.54	1.33	1.43	1.45	1.29	1.19	1.35	1.07	1.09
	1	2.02	1.45	1.46	1.41	1.26	1.16	1.34	1.25	1.11
	3	3.62	1.36	1.36	1.57	1.32	1.23	1.37	1.34	1.10
	10	3.79	0.845	0.58	0.85	0.76	0.78	1.59	1.78	1.14
	30	14.2	1.81	0.999	2.38	1.18	1.31	1.97	2.57	1.43
	50	20.0	2.54	1.19	2.90	1.48	1.88	2.40	3.30	1.61
	100	9.89	1.45	0.559	1.30	0.89	0.92	1.95	3.68	1.66
	200	17.4	2.55	1.15	2.43	1.19	1.33	1.62	3.06	1.85
HH1144	0.01	1.04	1.03	1.04	1.13	1.01	0.958	0.94	0.976	0.91
	0.03	1.24	1.23	1.22	1.22	1.14	1.09	1.02	1.06	1.01
	0.1	1.35	1.26	1.18	1.26	1.06	1.08	1.02	1.08	0.98
	0.3	1.45	1.32	1.52	1.39	1.18	1.02	1.00	1.06	1.02
	1	2.00	1.36	1.33	1.56	1.30	1.03	0.92	1.10	1.03
	3	4.45	1.53	1.38	1.92	1.48	1.23	0.96	1.21	1.09
	10	11.2	1.91	1.29	2.30	1.62	1.21	1.09	1.66	1.11
	30	21.6	2.36	0.983	2.80	1.77	1.27	1.27	2.62	1.16
	50	32.0	3.04	1.26	3.35	2.19	1.54	1.30	2.91	1.24
	100	40.8	3.55	1.31	4.15	2.54	1.71	1.42	4.29	1.47
	200	37.8	3.41	1.30	3.83	2.49	1.72	1.31	4.67	1.51

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

2.6.5.12D PHARMACOKINETICS: INDUCTION KINETICS OF CYP ENZYMES

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF-07321332_[redacted]_102559

Type of Study: CYP (3A4, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19) induction kinetics by nirmatrelvir
Method: In vitro incubation with cryopreserved human hepatocytes and quantitated by LC-MS/MS and quantitative RT-PCR
Nirmatrelvir Concentration: 0.01 to 200 µM

CYP Enzyme	Parameters	mRNA				Enzyme Activity			
		Lot BXM	Lot BNA	Lot FOS	Lot HH1144	Lot BXM	Lot BNA	Lot FOS	Lot HH1144
CYP3A4	Ind_{max} (fold) ± SE (fold)	30.3 ± 1.1	33.7 ± 0.8	18.0 ± 3.0	47.6 ± 2.9	2.07 ± 0.05	2.67 ± 0.06	2.19 ± 0.18	-
	E_{max} (fold)	29.3	32.7	17.0	46.6	1.07	1.67	1.19	-
	EC_{50} ± SE (µM)	25.4 ± 2.0	17.6 ± 1.3	15.7 ± 10.8	30.9 ± 6.1	13.2 ± 1.7	5.82 ± 0.85	5.37 ± 3.53	-
	$EC_{50,u}$ (µM)	24.4	16.9	15.1	29.7	12.7	5.59	5.16	-
	Hill Slope ± SE (γ)	1.80 ± 0.22	1.63 ± 0.15	1	1	2.20 ± 0.54	1.49 ± 0.26	1	-
CYP2B6	Ind_{max}(fold) ± SE (fold)	4.20 ± 0.26	6.48 ± 0.30	2.50 ± 0.58	3.78 ± 0.24	3.57 ± 0.16	5.99 ± 0.08	3.71 ± 0.24	6.04 ± 0.30
	E_{max} (fold)	3.20	5.48	1.50	2.78	2.57	4.99	2.71	5.04
	EC_{50} ± SE (µM)	29.9 ± 7.6	44.3 ± 6.8	30.3 ± 37.0	20.3 ± 6.3	38.3 ± 7.1	27.1 ± 1.1	17.9 ± 5.9	66.9 ± 9.6
	$EC_{50,u}$ (µM)	28.7	42.6	29.1	19.5	36.8	26.0	17.2	64.3
	Hill Slope ± SE (γ)	1	1	1	1	1	1.25 ± 0.05	1	1

CYP Enzyme	Parameters	mRNA			
		Lot BXM	Lot BNA	Lot FOS	Lot HH1144
CYP2C8	Ind_{max} (fold) ± SE (fold)	4.98 ± 0.35	3.99 ± 0.15	2.32 ± 0.44	4.07 ± 0.24
	E_{max} (fold)	3.98	2.99	1.32	3.07
	EC_{50} ± SE (µM)	30.4 ± 8.6	15.1 ± 3.0	9.83 ± 14.5	12.2 ± 4.1
	$EC_{50,u}$ (µM)	29.2	14.5	9.4	11.7
	Hill Slope ± SE (γ)	1	1	1	1
CYP2C9	Ind_{max} (fold) ± SE (fold)	3.38 ± 0.25	-	-	2.61 ± 0.16
	E_{max} (fold)	2.28	-	-	1.61
	EC_{50} ± SE (µM)	33.7 ± 10.8	-	-	16.3 ± 6.2
	$EC_{50,u}$ (µM)	32.4	-	-	15.7
	Hill Slope ± SE (γ)	1	-	-	1
CYP2C19	Ind_{max} (fold) ± SE (fold)	-	2.03 ± 0.14	-	-
	E_{max} (fold)	-	1.03	-	-
	EC_{50} ± SE (µM)	-	12.8 ± 7.1	-	-
	$EC_{50,u}$ (µM)	-	12.3	-	-
	Hill Slope ± SE (γ)	-	1	-	-

- = Data not available; CYP = Cytochrome P450; EC_{50} = Concentration of inducer associated with half of the maximum induction; $EC_{50,u}$ = Unbound concentration of inducer associated with half of the maximum induction; E_{max} = Ind_{max} – 1; Ind_{max} = Maximum fold induction observed in vitro; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; mRNA = Messenger ribose nucleic acid; RT-PCR = Reverse transcription-polymerase chain reaction; SE = Standard error.

2.6.5.12E PHARMACOKINETICS: INHIBITION OF UGT ENZYMES

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF-07321332_[redacted]_103243

Type of Study:	UGT Inhibition by Nirmatrelvir
Method:	In vitro incubation with HLM and individual substrates of UGT enzymes in the presence of UDPGA ± 2% BSA
Analytical Method:	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry
Concentration of Nirmatrelvir:	1.0 - 100 µM

UGT Enzyme	Enzyme Reaction	Without 2% BSA		With 2% BSA	
		IC_{50} (µM)[a]	Inhibition at 100 µM (%)[b]	IC_{50} (µM)	Inhibition at 100 µM (%)[b]
1A1	β-Estradiol-3-Glucuronidation	>100	3.5	>100	15.3
1A4	Trifluorperazine-N-Glucuronidation	>100	No inhibition	>100	7.1
1A6	5-Hydroxytryptophol-O-Glucuronidation	>100	6.5	>100	2.7
1A9	Propofol-O-Glucuronidation	>100	3.3	>100	7.5
2B7	Zidovudine-5′-Glucuronidation	>100	4.0	>100	17.8
2B15	S-Oxazepam-Glucuronidation	>100	8.6	>100	2.6

BSA = Bovine serum albumin; HLM = Human liver microsome; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; UDPGA = Uridine diphosphate-glucuronic acid; UGT = Uridine diphosphate-glucuronosyltransferase.
a. Due to minimal amount of protein (0.025 mg/mL) in the incubations without BSA, nirmatrelvir f_u was assumed to be 1.
b. Inhibition observed (%) is calculated with the following formula: Inhibition observed (%) = 100% − Percent of control.

2.6.5.12F PHARMACOKINETICS: TRANSPORTER SUBSTRATE ASSESSMENT OF NIRMATRELVIR

Test Article: Nirmatrelvir

Type of Study: Evaluation of nirmatrelvir as a substrate of human transporters in vitro.

Report Number	Transporter	Test System	Nominal Concentration of Nirmatrelvir (µM)	Measured Concentration of Nirmatrelvir (µM)	A-B P_{app} ($\times 10^{-6}$ cm/sec)	
					Mean	SD
PF-07321332 _[redacted]_095737	Efflux Transporters	Caco-2	231.00	80.76	1.19	0.13
			77.00	25.89	1.14	0.19
			25.64	9.98	0.72	0.08
			8.55	3.22	0.76	0.02
			2.85	0.87	0.92	0.16
			0.95	0.34	0.82	0.20
			0.32	0.10	0.80	0.15
			0.11	0.03	0.66	0.17
			0.32 + inhibitor cocktail[a]	0.10 + inhibitor cocktail[a]	4.05	0.26

Report Number	Transporter	Test System	Concentration of Nirmatrelvir (µM)	Uptake CL_{app} (µL/min/mg protein)	Inhibitor and Concentration	Inhibition (%)
PF-07321332 _[redacted]_110227	Hepatic Uptake Transporters	PHH	0.5	4.2	Control	-
				10.1	0.1 mM Ketoprofen	No inhibition
				7.0	0.3 mM Ketoprofen	No inhibition
				5.6	0.5 µM HBV	No inhibition
				4.3	20 µM Rifampicin	No inhibition
				3.0	1 mM Rifamycin SV	28
		SCHH	0.5	9.5	Control[b]	-
				9.4	20 µM Rifampicin	1
				5.8	1 mM Rifamycin SV	39

2.6.5.12F PHARMACOKINETICS: TRANSPORTER SUBSTRATE ASSESSMENT OF NIRMATRELVIR (CONTINUED)

Test Article: Nirmatrelvir

Report Number Transporter	Transporter	Test System	Concentration of Nirmatrelvir (µM)	Time (minutes)	Uptake Ratio[c]	Substrate (Yes/No)[d]
PF-07321332 _[redacted]_114514	NTCP	HEK293 cells	0.385	1	0.94	No
				3	0.66	
			2.31	1	0.89	
				3	0.80	
			7.7	1	1.00	
				3	0.86	
	OATP1B1	HEK293 cells	0.385	1	1.08	No
				3	0.96	
			2.31	1	1.04	
				3	0.90	
			7.7	1	1.06	
				3	1.03	
	OATP1B3	HEK293 cells	0.385	1	1.13	No
				3	0.82	
			2.31	1	1.14	
				3	0.87	
			7.7	1	1.33	
				3	1.08	
	OATP2B1	HEK293 cells	0.385	1	1.19	No
				3	0.82	
			2.31	1	1.15	
				3	0.93	
			7.7	1	1.31	
				3	1.08	

- = Not applicable; A-B = Apical to basolateral permeability; Caco-2 = Colorectal adenocarcinoma cell monolayers; CL= Clearance; HBV= Hepatitis B virus; HEK293 = Human embryonic kidney; NTCP= Sodium taurocholate cotransporting polypeptide; OATP = Organic anion transporting polypeptide; P_{app} = Apparent permeability coefficient; PHH= Plateable human hepatocytes; SD = Standard deviation; SCHH= Sandwich cultured human hepatocytes.
a. Inhibitor cocktail: 10 µM Ko143, 10 µM PSC833, 100 µM MK571.
b. Biliary clearance and biliary excretion index for nirmatrelvir at 10 min was estimated to be 2.1 µL/min/mg protein and 43% respectively.
c. Data are the mean of triplicate measurements.
d. Compounds with an uptake ratio > 2 are defined as substrates.

2.6.5.12G PHARMACOKINETICS: TRANSPORTER SUBSTRATE ASSESSMENT OF NIRMATRELVIR

Test Article: Nirmatrelvir

Report Number Transporter	Transporter	Test System	Concentration of Nirmatrelvir (µM)	Time (minutes)	Uptake Ratio[a]	Substrate (Yes/No)[b]
PF-07321332_[redacted]_013448	MATE1	HEK293-MATE1	0.5	3	0.71	No
			3		0.81	
			10		0.54	
	MATE2K	HEK293-MATE2K	0.5	3	0.61	No
			3		0.71	
			10		0.64	
	OAT1	HEK293-OAT1	0.5	1	1.04	No
			3		1.14	
			10		1.07	
			0.5	3	0.91	
			3		0.99	
			10		0.97	
	OAT3	HEK293-OAT3	0.5	1	0.97	No
			3		1.00	
			10		1.02	
			0.5	3	0.95	
			3		1.01	
			10		1.04	
	OCT1	HEK293-OCT1	0.5	1	1.12	No
			3		1.02	
			10		1.08	
			0.5	3	0.87	
			3		0.89	
			10		0.95	
	OCT2	HEK293-OCT2	0.5	3	1.02	No
			3		1.17	
			10		0.91	
	PEPT1	MDCKII-PEPT1	20	5	1.13	No

2.6.5.12G PHARMACOKINETICS: TRANSPORTER SUBSTRATE ASSESSMENT OF NIRMATRELVIR (CONTINUED)

Test Article: Nirmatrelvir

Report Number Transporter	Transporter	Test System	Concentration of Nirmatrelvir (µM)	Inhibitor	EffluxRatio[a]	Substrate (Yes/No)[c]
PF-07321332_[redacted]_124535	BCRP	MDCKII-BCRP cells	0.3	None	1.5	No
				Ko143	1.0	
			1	None	1.5	
				Ko143	1.0	
			3	None	1.4	
				Ko143	1.1	
	MDR1	MDCKI-MDR1 cells	0.3	None	48.4	Yes
				PSC833	1.9	
			1	None	83.7	
				PSC833	1.7	
			3	None	71.1	
				PSC833	2.3	

Report Number Transporter	Transporter	Test System	Concentration of Nirmatrelvir (µM)	Inhibitor	Uptake CL (µL/min/mg protein)[a]	% Inhibition	Substrate (Yes/No)
PF-07321332_[redacted]_124557	OATP4C1	Human renal proximal tubule epithelial cells	1	None	0.258[d]	-	No
				10 µM Ouabain	0.305	-18	
				100 µM Ouabain	0.279	-8	

- = Not applicable; BCRP = Breast cancer resistance protein; CL= Clearance; HEK293 = Human embryonic kidney; MATE = Multidrug and toxin extrusion protein; MDR1 = Multidrug resistance protein; MDCK = Madin-Darby canine kidney; n = Number of replicates; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; PEPT = Peptide transporter.
a. Data are the mean of triplicate measurements.
b. Compounds with an uptake ratio > 2 are defined as substrates.
c. Compounds with an efflux ratio > 6 are defined as substrates for MDR1 (or >2.5 for BCRP)
d. n=6

2.6.5.12H PHARMACOKINETICS: TRANSPORTER INHIBITION

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number: PF-07321332_[redacted]_020944

Type of Study:	Nirmatrelvir as an inhibitor of human transporters in vitro in transfected vesicles or cell lines					
Analytical Method:	LC-MS/MS					
Transporter	**Test System**	**Test Article Concentrations Tested**	**Probe Substrate (Concentration)**	**IC_{50} (µM)**	**K_i (µM)[a]**	**% Inhibition at Highest Concentration Tested**
BCRP	HEK293-BCRP vesicles	0.032 - 1000 µM	Rosuvastatin (0.2 µM)	> 1000	> 1000	26.0
MDR1/P-gp	HEK293-MDR1 vesicles	0.032 - 1000 µM	N-Methyl quinidine (0.2 µM)	70.6	55.2	92.8
MATE1	HEK293-MATE1 cells	0.061 - 1000 µM	[^{14}C]-Metformin (15 µM)	111.7	111.7	81.0
MATE2K	HEK293-MATE2K cells	0.061 - 1000 µM	[^{14}C]-Metformin (15 µM)	872.1	872.1	49.2
OAT1	HEK293-OAT1 cells	0.032 - 1000 µM	[^{3}H]-PAH (0.5 µM)	> 1000	> 1000	26.2
OAT3	HEK293-OAT3 cells	0.032 - 1000 µM	[^{3}H]-ES 0.1 (µM)	520.6	520.6	59.5
OATP1B1	HEK293-OATP1B1 cells	0.032 - 1000 µM	Rosuvastatin (0.3 µM)	44.4	44.4	97.0
OATP1B3	HEK293-OATP1B3 cells	0.032 - 1000 µM	Rosuvastatin (0.3 µM)	283.2	283.2	89.1
OCT1	HEK293-OCT1 cells	0.032 - 1000 µM	[^{14}C]-Metformin (10 µM)	138.1	138.1	87.9
OCT2	HEK293-OCT2 cells	0.061 - 1000 µM	[^{14}C]-Metformin (15 µM)	954.5	954.5	53.0

BCRP = Breast cancer resistance protein; E3S = Estrone-3-sulfate; HEK293 = Human embryonic kidney; K_i = Concentration at 50% maximum inhibition (unbound inhibition constant); K_m = Substrate concentration at 50% maximum velocity/rate; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry;
MDR = Multidrug resistance protein; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; PAH = Para-aminohippuric acid; P-gp = P-glycoprotein; MATE = Multidrug and toxin extrusion protein.
a. The estimated Ki values were assumed to be equal to the IC_{50} values for all transporter inhibition assays, based on the respective probe substrate concentration -to-K_m ratio, except for MDR1 where a conversion factor of 1.28 was used; Ki = IC_{50}/1.28.

2.6.5.13 PHARMACOKINETICS: EXCRETION MASS BALANCE IN HUMANS

Test Article: Nirmatrelvir
Report Number:
PF-07321332_[redacted]_014401

Species:	Healthy Human Volunteers
Sex/Number of Subjects:	Male/6 Subjects
Vehicle/Formulation:	Tablet
Method of Administration:	Oral
Dose (mg):	300 mg Nirmatrelvir (100 mg Ritonavir)
Analytical Method	(1) Quantitative bioanalysis of nirmatrelvir and metabolite M5 (PF-07320267) using HPLC-MS/MS (2) Quantitative fluorine NMR spectroscopy for all fluorine-containing drug-related material.

	% of Drug-related Material Excreted									
	Nirmatrelvir and M5 Measured by HPLC-MS/MS			Measured by ^{19}F-NMR			M8[a] Measured by LC-MS/MS			Overall Mass Balance[b]
	Pooled Urine	Pooled Feces	Total[c]	Pooled Urine	Pooled Feces	Total[c]	Pooled Urine	Pooled Feces	Total[c]	
Subject 61	53.9	35.9	89.7	61.0	28.1	89.1	4.6	1.8	6.4	95.5
Subject 62	49.1	28.7	77.7	55.5	24.3	79.8	3.0	1.2	4.1	83.9
Subject 63	41.8	20.4	62.2	49.3	18.3	67.7	2.2	0.7	3.0	70.7
Subject 64	26.3	42.3	68.6	39.1	46.3	85.4	2.5	2.5	5.0	90.4
Subject 65	33.2	48.0	81.3	33.6	52.9	86.6	1.4	1.6	2.9	89.5
Subject 66	39.2	34.6	73.8	43.6	32.1	75.6	2.0	1.6	3.7	79.3
Mean	40.6	35.0	**75.6**	47.0	33.7	**80.7**	2.6	1.6	**4.2**	**84.9**
SD	10.1	9.8	9.7	10.3	13.3	8.0	1.1	0.6	1.3	8.9

F-NMR = Fluorine nuclear magnetic resonance; HPLC-MS/MS = High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LC/MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M = Metabolite; NMR = Nuclear magnetic resonance; SD = Standard deviation.
a. M8 (PF-07331782) is a non-fluorinated and ^{19}F-NMR silent metabolite.
b. Overall mass balance was obtained by summing the F-NMR data and M8
c. Most of the observed excretion of drug-related material occurred over the first five days of sample collection up to 10 days, and in urine most of the material that was excreted by this route occurred in the first day.

2.6.5.14 PHARMACOKINETICS: EXCRETION INTO BILE — Test Article: Nirmatrelvir

Excretion of nirmatrelvir into bile was only measured after a single IV dose of non-radiolabeled nirmatrelvir in rats. Data is presented in Tabulated Summary 2.6.5.3A.

2.6.5.15A PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, CYP INHIBITION

Test Article: Nirmatrelvir

Assessment of Risk for In Vivo DDIs (Reversible Inhibition or TDI) Between Nirmatrelvir and Co-administered Substrates of CYP Enzymes

Model	CYP	IC_{50} (μM)	$K_{i,u}$[a] (μM)	$[I]_{max,u}$[b] (μM)	1+ $([I]_{max,u}/K_{i,u})$	Threshold Cutoff For Potential DDI	Potential DDI
Basic (R_1) Reversible	CYP1A2	>300	>150	1.96	<1.02	1+ $([I]_{max,u}/K_{i,u})$ ≥1.02	No
	CYP2B6	>300	>150	1.96	<1.02		No
	CYP2C8	>300	>150	1.96	<1.02		No
	CYP2C9	>300	>150	1.96	<1.02		No
	CYP2C19	>300	>150	1.96	<1.02		No
	CYP2D6	>300	>150	1.96	<1.02		No
	CYP3A Midazolam	58.3	29.2	1.96	1.07		Yes
	CYP3A Testosterone	106	53.0	1.96	1.04		Yes
	CYP3A Nifedipine	45.1	22.6	1.96	1.09		Yes
Model	**CYP**	**IC_{50} (μM)**	**$K_{i,u}$[a] (μM)**	**$[I]_{gut}$[c] (μM)**	**1 + $([I]_{gut}/K_{i,u})$**	**Threshold Cutoff For Potential DDI**	**Potential DDI**
Basic ($R_{1,gut}$) Reversible	CYP3A4/5 Midazolam	58.3	29.2	2400	83	1+ $([I]_{gut}/K_{i,u})$ >11	Yes
	CYP3A4/5 Testosterone	106	53.0	2400	46		Yes
	CYP3A4/5 Nifedipine	45.1	22.6	2400	107		Yes
Model	**CYP**	**$K_{I,u}$ (μM)**	***k_{inact}*** **(min^{-1})**	**k_{deg} (h^{-1})**	**k_{obs}[d] (h^{-1})**	**$(k_{obs} + k_{deg})/k_{deg}$**	**Threshold Cutoff For Potential DDI**	**Potential DDI**
Basic (R_2) TDI	CYP3A4/5 Midazolam	15.5	0.0142	0.03	0.736	26	$(k_{obs} + k_{deg})/k_{deg}$ ≥1.25	Yes
	CYP3A4/5 Testosterone	13.9	0.0165	0.03	0.867	30		Yes

Note: IC_{50} values are listed in Tabulated Summary 2.6.5.12A and 2.6.5.12B.
CYP = Cytochrome P450; DDI = Drug-drug interaction; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; I_{gut} = Maximum intestinal luminal inhibitor concentration; $I_{max,u}$ = Maximum unbound inhibitor concentration; TDI = Time-dependent inhibition.
a. Calculated as $K_i = IC_{50}/2$.
b. $I_{max,u}$ = Maximum unbound inhibitor concentration at a clinical oral dose of 300 mg Nirmatrelvir + 100 mg ritonavir BID (PMAR-1323).
c. I_{gut} = Clinical dose / intestinal volume of 250 mL.
d. $k_{obs} = (k_{inact} \times 50 \times I_{max,u})/(K_{I,u} + 50 \times I_{max,u})$

2.6.5.15B PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION (FDA)

Test Article: Nirmatrelvir

Summary Results: Assessment of risk for in vivo DDIs between nirmatrelvir and coadministered substrates of select transporters, based on the 2020 FDA drug interaction guidance.

Transporter	I_{gut}[a] (µM)	$I_{in,max,u}$[b] (µM)	$I_{max,u}$ (µM)	IC_{50} (µM)	[I]/IC_{50}	R = 1 + ($I_{in,max,u}$/IC_{50})	Criteria for Potential DDI	DDI Risk (Yes/No)
MDR1/P-gp	2400	--	--	70.6	34	--	$I_{gut}/IC_{50} \geq 10$	Yes
BCRP	2400	--	--	>1000	<2.4	--	$I_{gut}/IC_{50} \geq 10$	No
OATP1B1	--	3.95	--	44.4	--	1.09	$R \geq 1.1$	No
OATP1B3	--	3.95	--	283.2	--	1.01	$R \geq 1.1$	No
OCT1[c]	--	3.95	--	138.1	--	1.03	$R \geq 1.1$	No
OCT2	--	--	1.96	954.5	0.002	--	$I_{max,u}/IC_{50} \geq 0.1$	No
OAT1	--	--	1.96	>1000	<0.002	--	$I_{max,u}/IC_{50} \geq 0.1$	No
OAT3	--	--	1.96	520.6	0.004	--	$I_{max,u}/IC_{50} \geq 0.1$	No
MATE1	--	--	1.96	111.7	0.02	--	$I_{max,u}/IC_{50} \geq 0.1$	No
MATE2K	--	--	1.96	872.1	0.002	--	$I_{max,u}/IC_{50} \geq 0.1$	No

Note: IC_{50} values are listed in Tabulated Summary 2.6.5.12H.

-- = Data not applicable; AUC = Area under the curve; BCRP = Breast cancer resistance protein; C_{max} = Maximum observed concentration in plasma; DDI = Drug-drug interaction; FDA = Food and Drug Administration; F_a= Fraction of the dose absorbed = 0.8 (from Simcyp modeling), F_g = fraction of dose that escapes intestinal metabolism = 0.89 (from Simcyp modeling); $f_{u,b}$ = Fraction unbound in human blood = $f_{u,p}/R_B$; $f_{u,p}$ = Fraction unbound in human plasma = 0.31; [I] = Inhibitor concentration; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; I_{gut} = Maximum intestinal luminal inhibitor concentration; $I_{in,max,b}$ = Maximal unbound inhibitor blood concentration in the hepatic inlet; $I_{in,max,u}$ = Maximal unbound inhibitor concentration in the hepatic inlet; I_{max} = Maximum inhibitor concentration; $I_{max,u}$ = Maximum unbound inhibitor concentration at a clinical oral dose of 300 mg nirmatrelvir + 100 mg ritonavir BID (mean steady state total $C_{max} \times f_{u,p}$ = 1.96 µM, from PMAR-1323); k_a = Absorption rate constant = 0.873 h-1; MATE = Multidrug and toxin extrusion protein; MDR1 = Multidrug resistance protein; OAT = Organic anion transporter; OATP = Organic anion-transporting polypeptide; OCT = Organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein; Q_h = Hepatic blood flow (1.6 L/min); R = Predicted ratio of victim drug's AUC in presence and absence of inhibitor; R_B = Blood-to-plasma ratio (0.6).

a. I_{gut} = Clinical dose / intestinal volume of 250 mL.

b. $I_{in,max,u} = f_{u,b} \times I_{in,max,b} = f_{u,b} \times [C_{max,b} + (F_a F_g \times k_a \times Dose)/Q_h] = f_{u,p}/R_B \times [C_{max} \times R_B + (F_a F_g \times k_a \times Dose)/Q_h]$.

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

2.6.5.15C PHARMACOKINETICS: DRUG-DRUG INTERACTIONS, TRANSPORTER INHIBITION (EMA)

Test Article: Nirmatrelvir

Summary Results: **A**ssessment of risk for in vivo DDIs between nirmatrelvir and coadministered substrates of select transporters, based on the 2012 EMA drug interaction guidance.

Transporter	0.1 × Molar Dose/ 250 mL (µM)	IC_{50} (µM)	K_i[a] (µM)	50 × $C_{max,u}$ (µM)	$I_{in,max,u}$[b] (µM)	25 × $I_{in,max,u}$	Criteria for Potential DDI	DDI Risk (Yes/No)
				Intestinal				
MDR1/P-gp	240	70.6	55.2	--	--	--	$K_i \leq (0.1 \times Dose/250\ mL)$	Yes
BCRP	240	>1000	>1000	--	--	--	$K_i \leq (0.1 \times Dose/250\ mL)$	No
MDR1/P-gp	--	70.6	55.2	98	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max},u)$	Yes
BCRP	--	>1000	>1000	98	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max},u)$	No
OATP1B1	--	44.4	44.4	--	3.95	99	$K_i \leq (25 \times I_{in,max,u})$	Yes
OATP1B3	--	283.2	283.2	--	3.95	99	$K_i \leq (25 \times I_{in,max,u})$	No
OCT1[c]	--	138.1	138.1	--	3.95	99	$K_i \leq (25 \times I_{in,max,u})$	No
OCT2	--	954.5	954.5	98	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max},u)$	No
OAT1	--	>1000	>1000	98	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max},u)$	No
OAT3	--	520.6	520.6	98	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max},u)$	No
MATE1	--	111.7	111.7	98	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max},u)$	No
MATE2K	--	872.1	872.1	98	--	--	$K_i \leq (50 \times C_{max},u)$	No

Note: IC_{50} values are listed in Tabulated Summary 2.6.5.12H.

$C_{max,u}$ = Maximum unbound inhibitor concentration (clinical oral dose of 300 mg nirmatrelvir + 100 mg ritonavir BID - mean steady state total C_{max}× $f_{u,p}$ = 1.96 µM, from PMAR-1323); $f_{u,p}$ = Fraction unbound in human plasma = 0.31; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; $I_{in,max,u}$ = Maximal unbound inhibitor concentration in the hepatic inlet; NA= not applicable; K_i = concentration at half-maximal rate of inhibition; R_B = Blood-to-plasma ratio (0.6)

a. The estimated Ki values were assumed to be equal to the IC_{50} values for all transporter inhibition assays, based on the respective probe substrate concentration -to-K_m ratio, except for MDR1 where a conversion factor of 1.28 was used; $K_i = IC_{50}/1.28$.

b. $I_{in,max,u} = f_{u,b} \times I_{in,max,b} = f_{u,b} \times [C_{max,b} + (F_a F_g \times k_a \times Dose)/Q_h] = f_{u,p}/R_B \times [C_{max} \times R_B + (F_a F_g \times k_a \times Dose)/Q_h]$

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