目次

1 まとめ 9
2 分析法 16
2.1 標識体 16
2.2 非標識体 16
3 吸収 20
3.1 単回投与 20
3.2 反復投与 21
3.2.1 ラット 22
3.2.2 ウサギ 26
3.2.3 イヌ 27
3.2.4 その他 31
3.2.5 種差 33
4 分布 34
4.1 組織内分布 34
4.2 タンパク結合及び血球移行 37
5 代謝 38
5.1 *In Vitro* 代謝 38
5.2 CYP 分子種の同定 41
5.3 UGT 分子種の同定 41
5.4 *In Vivo* 代謝 41
6 排泄 44
6.1 尿、胆汁及び糞中排泄 44
7 薬物動態学的薬物相互作用 45
7.1 CYP 阻害作用 45
7.2 UGT 阻害作用 46
7.3 CYP 誘導作用 46

7.4 トランスポーター基質 48
7.5 トランスポーター阻害作用 49
8 その他の薬物動態試験 51
8.1 ラットでの代謝物 13 週間反復経口投与毒性試験 51
8.2 イヌでの代謝物 13 週間反復経口投与毒性試験 52
9 考察及び結論 54
10 図表 56
参考文献 57

表目次

表 2.6.4-1 非臨床薬物動態試験一覧 12

表 2.6.4-2 非臨床試験で使用した血漿中濃度定量法（LC-MS/MS 法） 17

表 2.6.4-3 マウス、ラット、イヌ及びサルにパロバロテンを単回静脈内又は経口投与後のパロバロテンの薬物動態パラメータ（平均値） 21

表 2.6.4-4 反復投与試験の概要 22

表 2.6.4-5 ラットに 1 日 1 回 5 日間反復経口投与後のパロバロテンの薬物動態パラメータ（1008700 試験） 22

表 2.6.4-6 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）及び代謝物／未変化体曝露量比（1007062 試験） 23

表 2.6.4-7 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（1009627 試験） 24

表 2.6.4-8 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）及び代謝物／未変化体曝露量比（1013603 試験） 25

表 2.6.4-9 ウサギ 4 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）及び代謝物／未変化体曝露量比（1020320 試験） 26

表 2.6.4-10 イヌに 1 日 1 回 5 日間反復経口投与後のパロバロテンの薬物動態パラメータ（平均値±標準偏差）（1008701 試験） 27

表 2.6.4-11 イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）及び代謝物／未変化体曝露量比（1009512 試験） 28

表 2.6.4-12 イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）（1009654 試験） 29

表 2.6.4-13 イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）及び代謝物／未変化体曝露量比（1013980 試験） 30

表 2.6.4-14 マウス小核試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）（1002682 試験） 31

表 2.6.4-15 幼若ラット 6 週間経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値±標準誤差）（6700132 試験） 32

表 2.6.4-16 妊娠ラット 12 日間反復投与試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）（1003177 試験） 32

表 2.6.4-17 白色及び有色ラットに[^{14}C]-パロバロテンを 2 mg/kg で 5 日間反復経口投与したときの最終日の各組織の薬物動態パラメータ 35

表 2.6.4-18 パロバロテンを NADPH 存在下で肝ミクロソームとインキュベートしたときの代謝物の割合（1008691 試験） 38

表 2.6.4-19 パロバロテンを UDPGA 存在下で肝ミクロソームとインキュベートしたときのグルクロン酸抱合体の割合（1008691 試験）.....39

表 2.6.4-20 パロバロテンを凍結肝細胞とインキュベートしたときの代謝プロファイル（1008691 試験）.....39

表 2.6.4-21 ラット及びイヌに[^{14}C]-パロバロテンを単回経口投与後の代謝プロファイル.....43

表 2.6.4-22 ラット及びイヌに[^{14}C]-パロバロテンを単回経口投与後の放射能回収率（投与量に対する%）.....44

表 2.6.4-23 パロバロテン及び典型的誘導薬による CYP 誘導作用（mRNA の変化）.....47

表 2.6.4-24 パロバロテンの CYP3A4 に対する CYP2B6 誘導作用の比率.....48

表 2.6.4-25 パロバロテンによる各トランスポーターを介した薬物相互作用のリスク評価.....50

表 2.6.4-26 ラット代謝物 13 週間反復経口投与毒性試験での TK パラメータ（平均値）（1013009 試験）.....52

表 2.6.4-27 イヌ代謝物 13 週間反復経口投与毒性試験での TK パラメータ（平均値）（1011046 試験）.....53

図目次

図 2.6.4-1　[^{14}C]-パロバロテンの構造式 16

図 2.6.4-2　パロバロテン及びその代謝物の構造式 40

略号及び用語の説明

略語又は用語	日本語	英語
AUC_{0-24}	投与 0 から 24 時間後までの濃度―時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose
AUC_{0-48}	投与 0 から 48 時間後までの濃度―時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve from time 0 to 48 hours post-dose
AUC_{0-last}	投与 0 時間から定量可能な時点までの濃度―時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve from time zero to the last concentration above the limit of quantification
BCRP	-	breast cancer resistance protein
BHA	ブチルヒドロキシアニソール	butylated hydroxyanisole
BHT	ブチルヒドロキシトルエン	butylated hydroxytoluene
BSEP	-	bile salt export pump
CL	全身クリアランス	systemic clearance
CL/F	みかけの全身クリアランス	apparent systemic clearance
CLM-001	パロバロテンの開発コード（別称：RO3300074、R667、RO3300074-000 及び RO3300074-003）	developmental code of palovarotene (other names: RO3300074, R667, RO3300074-000 and RO3300074-003)
C_{max}	最高血漿中濃度	maximum plasma concentration
CYP	シトクロム P450	cytochrome P450
EMA	欧州医薬品庁	European Medicines Agency
F	バイオアベイラビリティ	bioavailability
FDA	米国食品医薬品局	Food and Drug Administration
FeSSIF	摂食時人工腸液	Fed-state simulated Intestinal Fluid
FOP	進行性骨化性線維異形成症	fibrodysplasia ossificans progressiva
GD	妊娠	gestational day
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practice
HEK	ヒト胎児腎	human embryonic kidney
IC_{50}	50%阻害濃度	half-maximal inhibitory concentration
I_{gut}	阻害薬の消化管内濃度	intestinal luminal concentration of the interacting drug
$I_{max,u}$	最大非結合型血漿中濃度	maximal unbound plasma concentration of the interacting drug
K_i	阻害定数	inhibition constant
K_m	ミカエリス定数	Michaelis constant
LC	液体クロマトグラフィー	liquid chromatography

略号及び用語の説明（続き）

略語又は用語	日本語	英語
LC-MS/MS	高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー	liquid chromatography with tandem mass spectrometry
LLOQ	定量下限	lower limit of quantitation
LSC	液体シンチレーションカウンター	liquid scintillation counter
M1	パロバロテンの 6,7 位水酸化体（ジアステレオマー1:5）	6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene (mixture of diastereomers with 1:5 ratio)
M1a/b	パロバロテンの 6,7 位水酸化体（識別コード：RO3305642/RO3308507）	6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene (RO3305642/RO3308507)
M2	パロバロテンの 6 位水酸化体（識別コード：RO3304835）	6-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3304835)
M3	パロバロテンの 7 位水酸化体（識別コード：RO3305210）	7-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3305210)
M4	パロバロテンの 6 位オキソ体及び 7 位オキソ体	6-oxo and 7-oxo metabolite of palovarotene
M4a	パロバロテンの 6 位オキソ体（識別コード：RO3304974）	6-oxo metabolite of palovarotene (RO3304974)
M4b	パロバロテンの 7 位オキソ体（識別コード：RO3305659）	7-oxo metabolite of palovarotene (RO3305659)
M5	パロバロテンのグルクロン酸抱合体	carboxyl β-glucuronide of palovarotene
MATE	-	multidrug and toxin extrusion
MDCK	イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来の細胞株	Madin-Darby canine kidney cell
MRHD	最大推奨臨床用量	maximum recommended human dose
mRNA	メッセンジャーリボ核酸	messenger ribonucleic acid
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form
NMR	核磁気共鳴	nuclear magnetic resonance
OAT	-	organic anion transporter
OATP	-	organic anion transporting polypeptide
OCT	-	organic cation transporter
P-gp	P-糖蛋白質	P-glycoprotein
R	阻害薬存在及び非存在下での基質の推定 AUC 比	the ratio under the presence and absence of the investigational drug for specific enzyme reaction
RARγ	レチノイン酸受容体γ	retinoic acid receptor gamma
SLC	-	solute carrier
SPE	固相抽出	solid phase extraction

略号及び用語の説明（続き）

略語又は用語	日本語	英語
$T_{1/2}$	消失半減期	terminal elimination half-life
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetic
T_{max}	最高血漿中濃度到達時間	time of maximum plasma concentration
UDPGA	ウリジン 5'-二リン酸-グルクロン酸	uridine 5’-diphospho-glucuronic acid
UGT	ウリジン 5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素	uridine 5’-diphospho-glucuronosyltransferase
UV	紫外線	ultraviolet
Vd_{ss}	定常状態の分布容積	volume of distribution at steady state

1　まとめ

パロバロテン（開発コード：CLM-001）は、経口投与可能なレチノイン酸受容体γ（RARγ）選択的アゴニストであり、進行性骨化性線維異形成症（FOP）の治療薬として開発された。

FOP は疼痛を伴う反復性の軟部組織腫脹（フレアアップ）並びに筋肉、腱及び靭帯における異所性骨形成を特徴とする、重度の機能障害をもたらす非常に稀な遺伝子疾患である。FOP は小児期から成人期を通して進行し、小児期にかなりの身体障害が生じる（Kaplan 2018）。FOP はアンメット・メディカル・ニーズの高い疾患である。

パロバロテンは、成人及び小児（8 歳以上の女児及び 10 歳以上の男児）の FOP の抑制・予防として 1 日 1 回 5 mg/日を経口投与する。また、フレアアップ時には用量を増量し、最大推奨臨床用量（MRHD）は 20 mg/日である。14 歳未満の小児には体重により調節した用量を投与する。

パロバロテンの薬物動態を特徴付けるために、様々な動物種での *in vitro* 及び *in vivo* 非臨床薬物動態試験を実施した（表 2.6.4-1）。

パロバロテン経口投与後の吸収は、マウス及びラットでは速やかであるが、イヌ及びサルでは遅かった。絶食下でパロバロテン 1 mg/kg を単回経口投与したときのバイオアベイラビリティ（F）は、イヌで高く（63%）、マウス及びラットで中程度（32%～56%）、サルで低かった（8.4%）。サルを除くいずれの動物種においても、パロバロテンの投与 0 時間から定量可能な時点までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-last}}$）及び最高血漿中濃度（C_{max}）は投与量にほぼ比例して増加した。サルでは曝露量の増加は用量の増加比を下回った。いずれの動物種でもパロバロテンの薬物動態に対する食事の影響はみられなかった。

ラット、ウサギ及びイヌを用いた反復投与毒性試験でのトキシコキネティクス（TK）データからも、1 日 1 回反復経口投与による曝露量に用量比例性が示され、明らかな蓄積性は認められなかった。パロバロテンの曝露量はラットでは雌で雄よりも高かったが、ウサギ及びイヌでは性差はみられなかった。幼若ラットでは、C_{max} 及び投与 0 から 24 時間後までの濃度―時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24}$）は用量依存的に増加し、Day 1 では用量比例性を示したが、Day 42 では用量比例性を下回った。幼若ラットでの反復投与時の Day 42 における曝露量は、Day 1 の約 1/2 であった。反復投与による曝露量減少の要因が、酵素誘導の影響によるものか、代謝酵素活性が幼若ラットで成熟ラットより高かったことによるものか、又はその両方によるものかは不明である。幼若ラットでは反復投与により曝露量が減少したが、Day 42 の曝露量（0.1、0.5 及び 1.2 mg/kg/day）（3.2.4.2 項）は、成熟ラット（0.3、0.6 及び 1 mg/kg/day）に 177 日間反復投与後の曝露量（3.2.1.4 項）と同程度又はわずかに高かった。

[^{14}C]-パロバロテンを用いたラット組織内分布試験では、緩徐ではあるが広範な組織分布が示され、副腎、肝臓、小腸及び盲腸で最も高い放射能が検出された。最終投与 96 時間後には、副腎を除き、ほとんどの組織で放射能は定量下限（LLOQ）未満となった。有色ラットの組織内分布は白色ラットと同様であり、メラニン含有組織への選択的な結合は示されなかった。パロバロテンのマウス、ラット、イヌ、サル及びヒト血漿中タンパク結合率は高く、その平均値は 97.5%

～99.0%であった。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトでのパロバロテンの血液／血漿中濃度比は 0.52～0.63 であり、パロバロテンは赤血球に分配されないことが示された。

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト肝ミクロソームとパロバロテンとのインキュベーションで得られた *in vitro* 代謝プロファイルは、質的には類似しているが、量的には種差がみられた。主要代謝物はパロバロテンの 6 位水酸化体（M2）、7 位水酸化体（M3）、6 位オキソ体（M4a）及び 7 位オキソ体（M4b）の 4 代謝物であった。ラット、イヌ、サル及びヒト凍結肝細胞とのインキュベーションではパロバロテンのグルクロン酸抱合体（M5）が検出された。ヒト特有の代謝物は検出されなかった。ラット、イヌ及びウサギで検出された代謝物は同様であったが、M2、M3、M4a 及び M4b 曝露量の未変化体曝露量に対する比は、ラット及びイヌでは小さかったが（0.2%～24%）、ウサギでは大きかった（M2 及び M4a は 3%～29%、M3 及び M4b は 90%～649%）。ラット、ウサギ及びイヌにパロバロテンを反復投与したときの、M2、M3、M4a 及び M4b 曝露量の増加は概ね用量比例性を示し、ラット及びイヌでは顕著な蓄積性は認められなかったが、ウサギでは 4 代謝物、特に M4a 及び M4b で蓄積性が認められた

胆管カニューレ未処置ラット及びイヌに[^{14}C]-パロバロテンを単回経口投与したときの放射能の大部分は胆汁を介して糞中から排泄された。また、投与放射能は 7 日以内に 96%以上が回収され、そのほとんどは最初の 24 時間以内に回収された。いずれの動物種でも、投与量のごく一部（3%未満）が尿中に回収された。したがって、パロバロテンの消失過程における腎排泄の寄与は少ないと考えられた。

パロバロテンのシトクロム P450（CYP）及びトランスポーターを介した薬物相互作用を *in vitro* 試験で評価した。パロバロテンは複数の CYP（CYP3A4、CYP2C8 及び CYP2C19）による酸化代謝を受けたが、主代謝酵素は CYP3A4 であった。ヒト肝ミクロソームを用いた検討では、パロバロテンの代謝はケトコナゾールにより競合的に阻害され、阻害定数（Ki）は 0.184 μmol/L であった。これらの結果は、パロバロテンの消失が CYP3A4 の強い阻害薬又は誘導薬との併用により影響されることを示唆する。一方、CYP3A4 に対するパロバロテン及び 4 代謝物［M1：パロバロテンの 6,7 位水酸化体（ジアステレオマー1:5）、M2、M3 及び M4：パロバロテンの 6 位オキソ体及び 7 位オキソ体］の 50%阻害濃度（IC_{50}）値はいずれも 100 μmol/L 超であったことから、パロバロテン及びその代謝物は MRHD で CYP3A4 の基質となる薬剤の代謝を阻害しないと考えられた。なお、パロバロテンによる CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対する阻害作用はみられなかった。パロバロテンは CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 に対する誘導作用を示さなかったが、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用が示された。*In vitro* 試験の結果を基に CYP3A4 及び CYP2B6 の誘導作用に対する寄与を評価した結果、パロバロテンによる誘導作用は CYP2B6 よりも CYP3A4 で高いことが示されため、CYP3A4 誘導作用に関する臨床薬物相互作用試験が実施され、パロバロテンは臨床で CYP3A4 誘導作用を示さないと考えられた。臨床薬物相互作用試験の詳細は 2.7.2.2.2.1.5 項に示す。

パロバロテンは主要なウリジン 5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素（UGT）に対する感受性の高い基質ではなく、これらの酵素の阻害に関しても臨床に関連するリスクをもたらさないと考えられた。パロバロテンは、P-糖蛋白質（P-gp）、breast cancer resistance protein（BCRP）、organic anion transporting polypeptide（OATP）1B1 及び 1B3 又は organic cation transporter（OCT）1 の基質

ではない。パロバロテンの消失過程における腎排泄の寄与はほとんどないことから、organic anion transporter（OAT）1 及び 3、OCT2、multidrug and toxin extrusion（MATE）1 及び 2-K に関する検討は実施しなかった。パロバロテンは P-gp、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1、MATE2-K の阻害薬とはならない。パロバロテンは BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、及び bile salt export pump（BSEP）を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 9.69 µmol/L、1.83 µmol/L、3 µmol/L 超、3 µmol/L 超及び 14.7 µmol/L であった。BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び BSEP を介したパロバロテンの阻害作用を、パロバロテン存在及び非存在下での基質の推定 AUC 比（R）値を推定することにより評価した結果、これらのトランスポーターを介した臨床的に重要な相互作用を起こさないことが確認された。

ラット及びイヌ 13 週間反復経口投与毒性試験で M2 と M3 の混合物（それぞれ M4a 及び M4b にさらに代謝される）を投与したとき、4 代謝物の曝露量はいずれも用量依存的に増加し、ラット及びイヌともに概ね用量比例性を示した。ラット及びイヌともに一貫した蓄積性は認められなかった。

表 2.6.4-1　　非臨床薬物動態試験一覧

試験の種類及び期間（報告書番号）	投与経路	動物種	被験物質	投与量（mg/kg/day）
単回投与				
バイオアベイラビリティ及び用量漸増（1008704）	静脈内、経口	マウス	パロバロテン	静脈内：1 経口：1、4
バイオアベイラビリティ及び用量漸増（1008700）*	静脈内、経口	ラット	パロバロテン	静脈内：1 経口：1、5
バイオアベイラビリティ及び用量漸増（1008701）*	静脈内、経口	イヌ	パロバロテン	静脈内：1 経口：0.2、1
バイオアベイラビリティ及び用量漸増（1009007）	静脈内、経口	サル	パロバロテン	静脈内：1 経口：1、5
反復投与				
5 日間反復投与（1008700）*	経口	ラット	パロバロテン	1
4 週間反復投与毒性（1007062）**	経口	ラット	パロバロテン	0.04、0.2、1、5
26 週間反復投与毒性（1009627）**	経口	ラット	パロバロテン	0.005、0.015、0.05、0.15
26 週間反復投与毒性（1013603）**	経口	ラット	パロバロテン	0.3、0.6、1
4 週間反復投与毒性（1020320）**	経口	ウサギ	パロバロテン	0.5、1、2.5
5 日間反復投与（1008701）*	経口	イヌ	パロバロテン	0.1
4 週間反復投与毒性（1009512）**	経口	イヌ	パロバロテン	0.008、0.04、0.2
39 週間反復投与毒性（1009654）**	経口	イヌ	パロバロテン	0.0002、0.0006、0.002、0.006
39 週間反復投与毒性（1013980）**	経口	イヌ	パロバロテン	0.012、0.025/0.12、0.04
その他の吸収				
小核試験（1002682）**	経口	マウス	パロバロテン	5、12.5、25
6 週間反復投与毒性（6700132）**	経口	幼若ラット	パロバロテン	0.1、0.5、1.2
胚・胎児発生（1003177）**	経口	ラット	パロバロテン	0.01、0.25、1.25
分布				
5 日間反復投与組織内分布（1007312**、CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270）	経口	ラット	[^{14}C]-パロバロテン	2
血漿タンパク結合（1008422）	*In vitro*	マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト	[^{14}C]-パロバロテン	6、40、200、1000 ng/mL
血球移行性（1008425）	*In vitro*	マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト	[^{14}C]-パロバロテン	100、1000 ng/mL

表 2.6.4-1　　非臨床薬物動態試験一覧（続き）

試験の種類及び期間（報告書番号）	投与経路	動物種	被験物質	投与量（mg/kg/day）
代謝				
In vivo 代謝プロファイル（1008705）	経口	胆管カニューレ処置／未処置ラット	[^{14}C]-パロバロテン	2
In vivo 代謝プロファイル（1008692）	経口	胆管カニューレ処置／未処置イヌ	[^{14}C]-パロバロテン	0.2
代謝プロファイル（1008691）	*In vitro*	肝ミクロソーム（マウス、ラット、イヌ、サル、ヒト）及び凍結肝細胞（ラット、イヌ、サル、ヒト）	パロバロテン	20 µmol/L
CYP 分子種同定（1008690）	*In vitro*	CYP1A2、CYP3A4、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 発現系、ヒト肝ミクロソーム	パロバロテン	CYP 発現系：20 µmol/L、ヒト肝ミクロソーム：0.5-200 µmol/L
CYP2B6 分子種同定（CYP1933_04）	*In vitro*	CYP2B6 発現系	パロバロテン	20 µmol/L
UGT 分子種同定（CYP1558 R2A）	*In vitro*	UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9、UGT2B7、UGT2B15 発現系	パロバロテン	20 µmol/L
排泄				
胆汁、尿及び糞中排泄（1008705）	経口	胆管カニューレ処置／未処置ラット	[^{14}C]-パロバロテン	2
胆汁、尿及び糞中排泄（1008692）	経口	胆管カニューレ処置／未処置イヌ	[^{14}C]-パロバロテン	0.2

表 2.6.4-1　　非臨床薬物動態試験一覧（続き）

試験の種類及び期間（報告書番号）	投与経路	動物種	被験物質	投与量 (mg/kg/day)
薬物動態学的薬物相互作用				
CYP 阻害（1008423）	*In vitro*	CYP1A2、CYP3A4、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 発現系	パロバロテン	0.0046～10 µmol/L
CYP2B6 阻害（CYP1933_05）	*In vitro*	ヒト肝ミクロソーム	パロバロテン	0.1～100 µmol/L
UGT 阻害（CYP1558 R2B）	*In vitro*	UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9、UGT2B7 発現系	パロバロテン	0.05～50 µmol/L
CYP 誘導（CYP1933_03）	*In vitro*	ヒト凍結肝細胞	パロバロテン	0.003-1 µmol/L
トランスポーター基質認識性（CYP1933_01）	*In vitro*	MDCK-MDR1 cells（P-gp）、Caco-2 cells（BCRP）、HEK293 発現系（OATP1B1、OATP1B3、OCT1）	パロバロテン	1、10、50、100 µmol/L.（1 and 10 µmol/L in the presence of reference inhibitor）
トランスポーター阻害（CYP1933_02）	*In vitro*	MDCK-MDR1 cells（P-gp）、Caco-2 cells（BCRP）、HEK293 発現系（OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K）、膜ベシクル（BSEP）	パロバロテン	P-gp、BCRP：0.1-100 µmol/L SLC：0.01-3 µmol/L BSEP: 0.3-100 µmol/L
薬物相互作用の評価（CLM001-PK-001 & Amendment 1）	該当なし	該当なし	パロバロテン	該当なし
その他の薬物動態試験				
13 週間代謝物毒性試験（1013099）**	経口	ラット	M2 及び M3 混合物	0.3、1、3
13 週間代謝物毒性試験（1011046）**	経口	イヌ	M2 及び M3 混合物	0.05、0.15、0.5

*: Single and multiple (5 days) doses were evaluated.
**: GLP study
BCRP = breast cancer resistance protein; BSEP = bile salt export pump; CYP = cytochrome P450; GLP = good laboratory practice; HEK293 = human embryonic kidney 293; M2 = 6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; MATE = multidrug and toxin extrusion; MDCK = Madin Darby canine kidney; MDR1 = multidrug

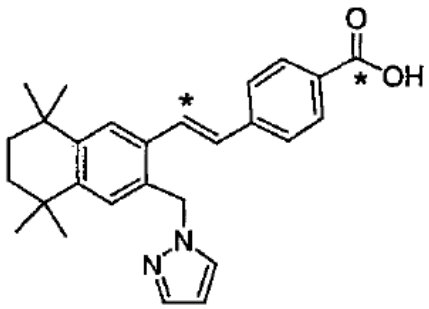
resistance protein 1; NA = not applicable; OAT = organic anion transporter; OATP = organic anion transporting polypeptide; OCT = organic cation transporter; P-gp = P-glycoprotein; UGT = uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase

2　分析法

2.1　標識体

ラット組織内分布試験（1007312 試験）、タンパク結合試験（1008422 試験）、血球移行性試験（1008425 試験）、ラット及びイヌでの代謝／マスバランス試験（1008705 試験及び 1008692 試験）で、[^{14}C]-パロバロテンを使用した（図 2.6.4-1）。ラット組織内分布試験では蛍光イメージング法で組織内放射能濃度を測定した。タンパク結合試験、血球移行試験、マスバランス試験での放射能は液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。なお、ラット及びイヌでの代謝物評価では、ラット胆汁中並びにイヌ血漿及び胆汁中パロバロテン及び代謝物濃度は、試料を除タンパク後、液体クロマトグラフィー（LC）-フローシンチレーションアナライザーで測定した。ラット血漿中パロバロテン及び代謝物濃度は、試料を固相抽出（SPE）及び LC によるポストカラム分画後、各分画を LSC で測定した。いずれの測定法でもバリデーション試験は実施していない。

図 2.6.4-1　　[^{14}C]-パロバロテンの構造式



*：^{14}C 標識位置

2.2　非標識体

血漿中パロバロテン及び代謝物濃度を測定するために、感度及び特異性の高い高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー（LC-MS/MS）法が開発された。パロバロテン及び代謝物の測定に用いた分析法一覧を表 2.6.4-2 に示す。また、バリデーション結果の詳細は 2.6.5.2 項に示す。

表 2.6.4-2　　非臨床試験で使用した血漿中濃度定量法（LC-MS/MS 法）

Pharmacokinetics Study			Assay Method					
Study Type (Report Number)	**GLP**	**Species (Matrix)**	**Analyte**	**Sample Preparation**	**Assay Procedure**	**Assay Range (ng/mL)**	**Validation Report Number**	**Location in CTD**
Absorption								
Single dose (1008704)	N	Mouse (plasma)	Palovarotene	Protein precipitation	LC-MS/MS	0.5-1000	Not validated	4.2.2.2.1
Single and multiple dose (1008700)	N	Rat (plasma)	Palovarotene[1]	Protein precipitation	LC-MS/MS	0.5-2500	Not validated	4.2.2.2.2
Single and multiple dose (1008701)	N	Dog (plasma)	Palovarotene[1]	Protein precipitation	LC-MS/MS	0.5-2500	Not validated	4.2.2.2.3
Single dose (1009007)	N	Monkey (plasma)	Palovarotene[1]	Protein precipitation	LC-MS/MS	0.5-2500	Not validated	4.2.2.2.4
4-week (1007062)	Y	Rat (plasma)	Palovarotene[2]	Protein precipitation	LC-MS/MS	0.5-250	1007335	4.2.2.1.3
26-week (1009627)	Y	Rat (plasma)	Palovarotene	Solid phase extraction	LC-MS/MS	0.02-5	1007336	4.2.2.1.4
26-week (1013603)	Y	Rat (plasma)	Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b	Solid phase extraction	LC-MS/MS	0.05-10	1013104	4.2.2.1.5
4-week (1020320)	Y	Rabbit (plasma)	Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b	Solid phase extraction	LC-MS/MS	0.05-10	1019321	4.2.2.1.6
4-week (1009512)	Y	Dog (plasma)	Palovarotene[2]	Protein precipitation	LC-MS/MS	0.5-250	1007340	4.2.2.1.7
39-week (1009654)	Y	Dog (plasma)	Palovarotene	Solid phase extraction	LC-MS/MS	0.02-5	1007339	4.2.2.1.8
39-week (1013980)	Y	Dog (plasma)	Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b	Solid phase extraction	LC-MS/MS	0.01-2	1013105 (also known as MS-93 described in 1012575)	4.2.2.1.9

表 2.6.4-2　　非臨床試験で使用した血漿中濃度定量法（LC-MS/MS 法）（続き）

Pharmacokinetics Study			Assay Method					
Study Type (Report Number)	**GLP**	**Species (Matrix)**	**Analyte**	**Sample Preparation**	**Assay Procedure**	**Assay Range (ng/mL)**	**Validation Report Number**	**Location in CTD**
In vivo micronucleus test (1002682)	Y	Mouse (plasma)	Palovarotene	Protein precipitation	LC-MS/MS	0.5-250	1007334	4.2.2.1.1
6-week juvenile (6700132)	Y	Rat (plasma)	Palovarotene	Protein precipitation	LC-MS/MS	0.1-100	1000462	4.2.2.1.2
12-day pregnant rat (1003177)	Y	Rat (plasma)	Palovarotene	Protein precipitation	LC-MS/MS	0.5-250	1007335	4.2.2.1.3
Other Pharmacokinetic Studies								
13-week metabolites[3] (1013099)	Y	Rat (plasma)	M2, M3, M4a, M4b	Solid phase extraction	LC-MS/MS	0.05-10	1013104	4.2.2.1.5
13-week metabolites[3] (1011046)	Y	Dog (plasma)	M2, M3, M4a, M4b	Solid phase extraction	LC-MS/MS	0.01-2	1013105 (also known as MS-93 described in 1012575)	4.2.2.1.9

[1] In addition to the determination of palovarotene plasma concentrations by LC-MS/MS, metabolites M1, M2, M3, M4a and M4b plasma concentrations were estimated by a non-validated method using protein precipitation extraction and LC/UV detection to determine the metabolite-to-parent drug ratio.

[2] In addition to the determination of palovarotene plasma concentrations by LC-MS/MS, metabolites M1, M2, M3 and M4 plasma concentrations were estimated by a non-validated method using protein precipitation extraction and LC/UV detection to determine the metabolite-to-parent drug ratio.

[3] M2 and M3 administered as a mixture to the same animals.

GLP=good laboratory practice; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LC/UV=liquid chromatography with ultraviolet detection; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene (mixture of diastereomers with 1:5 ratio); M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; N=no; Y=yes.

開発初期での非臨床試験をサポートするために、試料を除タンパク後に LC-MS/MS で検出するマウス、ラット、イヌ及びサル血漿中パロバロテン濃度定量法を開発した。この方法はバリデートされておらず、詳細は各報告書（1008704 試験、1008700 試験、1008701 試験、1009007 試験）に記載されている。その後、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）試験での血漿中パロバロテン濃度測定のために除タンパク及び LC-MS/MS を用いた血漿中パロバロテン濃度定量法を開発し、バリデートした。マウス、ラット及びイヌ血漿中パロバロテン定量法での LLOQ は 0.5 ng/mL、定量範囲は 0.5～250 ng/mL であった（1007334 試験、1007335 試験、1007340 試験）。パロバロテンの定量感度を向上させるために、前処理法を SPE に変更してバリデートした。その結果、ラット及びイヌ血漿中パロバロテン定量法の LLOQ は 0.02 ng/mL、定量範囲は 0.02～5 ng/mL となった（1007336 試験、1007339 試験）。さらに、LC-MS/MS のイオン源にポジティブイオンモードのターボイオンスプレーを用いるラット、ウサギ及びイヌ血漿中濃度定量法をバリデートした。ラット及びウサギ血漿中パロバロテン定量法の LLOQ は 0.05 ng/mL、定量範囲は 0.05～10 ng/mL（1013104 試験、1019321 試験）、イヌ血漿中パロバロテン定量法の LLOQ は 0.01 ng/mL、定量範囲は 0.01～2 ng/mL であった（1013105 試験）。GLP 準拠の幼若ラット反復経口投与毒性試験で使用したバリデート済みの LC-MS/MS 法では、血漿中パロバロテン濃度の LLOQ は 0.1 ng/mL、定量範囲は 0.1～100 ng/mL であった（1000462 試験）。

ラット、イヌ及びサルを用いた初期の薬物動態試験（1008700 試験、1008701 試験、1009007 試験）及びラット及びイヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験（1007062 試験、1009512 試験）での血漿中代謝物（M1、M2、M3 及び M4）濃度は、除タンパク及び LC／紫外線（UV）検出器を用いたバリデートしていない定量法で測定した。ラット 26 週間、ウサギ 4 週間及びイヌ 39 週間反復経口投与毒性試験で 4 種の主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）を測定するために、感度及び特異性の高い定量法（SPE を用いた LC-MS/MS 法）を開発し、バリデートした。全代謝物の LLOQ は、ラット及びウサギ血漿で 0.05 ng/mL（1013104 試験、1019321 試験）、イヌ血漿で 0.01 ng/mL（1013105 試験）であった。ラット及びイヌに M2 及び M3 混合物を投与する 13 週間反復経口投与毒性試験での血漿中代謝物は、ラット血漿では LLOQ が 0.05 ng/mL（1013104 試験）、イヌ血漿では 0.01 ng/mL（1013105 試験、1012575 試験に記載されている Method No.MS-93）の高感度でバリデートされた定量法を用いて測定された。

パロバロテン及びその代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）のラット、ウサギ及びイヌ血漿中長期安定性及び凍結／融解安定性を、バリデートされた LC-MS/MS 法を用いて評価した（1013104 試験、1019321 試験、1013105 試験）。パロバロテン及び代謝物ともに、ラット及びイヌ血漿中では–70°C で少なくとも 370 及び 278 日間（1018562 試験）、ウサギ血漿中（1019321 試験）では少なくとも 30 日間安定であった。イヌ血漿中では、パロバロテン及び代謝物ともに 6 サイクルの凍結／融解（約–70°C で凍結し、室温で少なくとも 30 分間融解）で安定であった（1018562 試験）。ウサギ血漿中では、パロバロテン、M4a 及び M4b は 4 回まで、M2 及び M3 は 3 回までの凍結／融解で安定であった（1019321 試験）。

3　吸収

マウス、ラット、イヌ及びサルにパロバロテンを単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態パラメータを算出した。また、ラット、ウサギ及びイヌにパロバロテンを反復経口投与したときの薬物動態パラメータを算出した。なお、いくつかの試験ではパロバロテン代謝物の薬物動態についても評価した。

3.1　単回投与

1008704 試験、添付資料番号：4.2.2.2.1
1008700 試験、添付資料番号：4.2.2.2.2
1008701 試験、添付資料番号：4.2.2.2.3
1009007 試験、添付資料番号：4.2.2.2.4

CD-1 マウス、Wistar ラット、ビーグル犬及びカニクイザルでのパロバロテン単回静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータを算出した（表 2.6.4-3、2.6.5.3A 項、2.6.5.3B 項、2.6.5.3C 項、2.6.5.3D 項）。静脈内投与での投与媒体にはジメチルスルホキシド、経口投与での投与媒体には 0.01%ブチルヒドロキシアニソール（BHA）及び 0.01%ブチルヒドロキシトルエン（BHT）を含むミグリオール 812 を用いた。マウス及びラットでの経口投与後のパロバロテンは速やかに吸収されたが［最高血漿中濃度到達時間（T_{max}）：投与 0.25～3 時間後］、イヌ及びサルでの吸収は遅かった（T_{max}：投与 2～13 時間後）。絶食下でのパロバロテン 1 mg/kg 経口投与後の F%は、マウス及びラット（32～56%）並びにイヌ（63%）、で高く、サル（8.4%）で低かった。パロバロテンの 1 mg/kg 静脈内投与後、イヌでの全身クリアランス（CL）は低く（0.067 L/h/kg）、マウス、ラット及びサルでは中程度であった（0.65～2.0 L/h/kg）。また、定常状態の分布容積（Vd_{ss}）はイヌでは小さく（0.26 L/kg）、マウス、ラット及びサルでは大きかった（1.5～4.2 L/kg）。消失半減期（$T_{1/2}$）は、イヌ及びサルでそれぞれ 3.88 及び 7.49 時間であった。サルを除くいずれの動物種においても、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$ は投与量にほぼ比例した。サルでの曝露が投与量に比例しなかったのは、消化管吸収が低いためであると考える。いずれの動物でも経口投与後のみかけの全身クリアランス（CL/F）は静脈内投与後の CL と比較して高く、特にサルでは消化管での初回通過の大きいことが示唆された。いずれの動物種でもパロバロテンの薬物動態に対する顕著な食事の影響はみられなかった。

表 2.6.4-3　　マウス、ラット、イヌ及びサルにパロバロテンを単回静脈内又は経口投与後のパロバロテンの薬物動態パラメータ（平均値）

Intravenous

Species (fed or fasted, sex)	Dose (mg/kg)	CL (L/h/kg)	Vd_{ss} (L/kg)	$T_{1/2}$ (h)	$AUC_{0\text{-last}}$ (ng•h/mL)	Report Number
CD-1 Mouse (fed, male)	1	1.99	2.54	NC	502	1008704
Wistar Rat (fed, male)	1	0.893	4.16	NC	1120	1008700
Beagle Dog (fed, female)	1	0.0671	0.263	3.88	15400	1008701
Cynomolgus Monkey (fed, male)	1	0.651	1.46	7.49	1550	1009007

Oral

Species (fed or fasted, sex)	Dose (mg/kg)	T_{max} (h)	CL/F (L/h/kg)	F	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-last}}$ (ng•h/mL)	Report Number
CD-1 Mouse (fed, male)	1	0.25	3.80	44.2	37.1	222	1008704
CD-1 Mouse (fed, male)	4	0.25	3.92	50.3	227	1010	1008704
CD-1 Mouse (fasted, male)	1	0.5	3.56	56.0	64.2	281	1008704
Wistar Rat (fed, male)	1	0.25	3.25	27.5	65.2	308	1008700
Wistar Rat (fed, female)	1	1	2.03	44.0	126	493	1008700
Wistar Rat (fed, male)	5	3	3.42	25.9	310	1450	1008700
Wistar Rat (fasted, male)	1	2	2.76	32.4	90.4	362	1008700
Beagle Dog (fed, female)	1	3.00	0.0946	70.3	990	10400	1008701
Beagle Dog (fed, female)	0.2	2.33	0.0910	77.7	285	2450	1008701
Beagle Dog (fed, male)	0.2	5.50	0.100	NC	157	2010	1008701
Beagle Dog (fasted, female)	1	2.25	0.118	62.9	1030	9530	1008701
Cynomolgus Monkey (fed, male)	1	12.7	5.30	13.0	21.6	200	1009007
Cynomolgus Monkey (fed, male)	5	5.67	13.2	5.10	41.6	416	1009007
Cynomolgus Monkey (fasted, male)	1	5.00	7.04	8.43	16.5	138	1009007

$AUC_{0\text{-last}}$=area under the concentration versus time curve from time zero to the last concentration above the limit of quantification; CL=systemic clearance; CL/F=apparent systemic clearance; C_{max}=maximum plasma concentration; F=bioavailability; NC=not calculated; $T_{1/2}$=terminal elimination half-life; T_{max}=time of maximum plasma concentration; Vd_{ss}=volume of distribution at steady state.
Source: Report 1008704, Summary Table, Report 1008700, Summary Table, Report 1008701, Summary Table, Report 1009007, Summary Table

3.2　反復投与

反復投与試験の概要を表 2.6.4-4 に示す。主要代謝物である M2、M3、M4a 及び M4b の薬物動態パラメータについては、5 試験［1007062 試験（M4 として）、1013603 試験、1020320 試験、1009512 試験（M4 として）、1013980 試験］で評価した。

表 2.6.4-4　　反復投与試験の概要

Report Number	Species	Route	Dose (mg/kg/day)	Duration
1008700	Rat	Oral gavage	1	5 days
1007062	Rat	Oral gavage	0.04, 0.2, 1, and 5	4 weeks
1009627	Rat	Oral gavage	0.005, 0.015, 0.050, and 0.150	26 weeks
1013603	Rat	Oral gavage	0.3, 0.6, and 1.0	26 weeks
1020320	Rabbit	Oral gavage	0.5, 1.0, and 2.5	4 weeks
1008701	Dog	Oral gavage (capsule)	0.1	5 days
1009512	Dog	Oral gavage (capsule)	0.008, 0.04, and 0.2	4 weeks
1009654	Dog	Oral gavage (capsule)	0.0002, 0.0006, 0.002, and 0.006	39 weeks
1013980	Dog	Oral gavage (capsule)	0.012, 0.025, 0.12, and 0.04	39 weeks

3.2.1　ラット

3.2.1.1　5 日間反復経口投与薬物動態試験

1008700 試験、添付資料番号：4.2.2.2.2

Wistar ラット（雌雄各 3 匹／時点）にパロバロテンを 1 mg/kg/day で 1 日 1 回 5 日間反復経口投与したときの薬物動態を評価した。投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。Day 1 及び 5 の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、3、5、7、10、24、30（Day 5 のみ）及び 48（Day 5 のみ）時間後に血液試料を採取した。血漿中パロバロテン濃度は LC-MS/MS 法で測定した。Day 1 及び 5 の薬物動態パラメータを表 2.6.4-5 及び 2.6.5.4A 項に示す。

Day 1 及び 5 ともに C_{max} 及び AUC_{0-24} は雌で雄より高い傾向がみられた。雄の C_{max} 及び AUC_{0-24} 並びに雌の AUC_{0-24} が Day 1 よりも Day 5 でやや高いものの、反復投与による明らかな蓄積性はみられなかった。

表 2.6.4-5　　ラットに 1 日 1 回 5 日間反復経口投与後のパロバロテンの薬物動態パラメータ（1008700 試験）

		1 mg/kg/day	
Sex	**Parameters**	**Day 1**	**Day 5**
Males	C_{max} (ng/mL)	56.5	63.0
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	233	305
Females	C_{max} (ng/mL)	126	110
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	493	591

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration
Source: Report 1008700, Summary Table

3.2.1.2 4 週間反復経口投与毒性試験（パロバロテン及び代謝物の評価）

1007062 試験、添付資料番号：4.2.3.2.2

Wistar ラット（雌雄各 3 匹／時点／群）にパロバロテンを 0.04、0.2、1 及び 5 mg/kg/day で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与したときの TK パラメータ及び代謝物／未変化体曝露量比を算出した。パロバロテンを微紛化し、投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。Day 0 及び 26 の投与約 1、2、4、7 及び 24 時間後に血液試料を採取した。血漿中パロバロテン濃度は LC-MS/MS 法（1007335 試験）で測定した。また、5 mg/kg 群のみ LC/UV 法で血漿中パロバロテン及びその代謝物濃度を測定し、代謝物／未変化体曝露量比を算出した。TK パラメータ及び代謝物／未変化体曝露量比を表 2.6.4-6 及び 2.6.5.4B 項に示す。

Day 0 及び 26 ともに雌雄で C_{max} 及び AUC_{0-24} はほぼ用量に比例して増加した。Day 0 の C_{max} 及び AUC_{0-24} に性差はみられなかったが、Day 26 では C_{max} 及び AUC_{0-24} ともに雌で雄よりもやや高かった。また、1 及び 5 mg/kg/day 群の C_{max} 及び AUC_{0-24} は雌雄ともに Day 26 で Day 0 よりも低かった。代謝物／未変化体曝露量比は、雌の M3 及び M4 を除き、Day 26 で Day 0 よりも小さくなった。

表 2.6.4-6 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）及び代謝物／未変化体曝露量比（1007062 試験）

		0.04 mg/kg/day		0.2 mg/kg/day		1 mg/kg/day		5 mg/kg/day	
Sex	**Parameters**	**Day 0[1]**	**Day 26**	**Day 0[1]**	**Day 26**	**Day 0[1]**	**Day 26**	**Day 0[1]**	**Day 26**
Males	C_{max} (ng/mL)	4.64	2.35	15.2	19.0	93.4	47.6	420	223
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	20.9	11.0	78.2	77.9	400	306	2400	1030
Females	C_{max} (ng/mL)	4.26	3.77	17.6	18.5	123	95.6	644	353
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	25.4	25.7	136	112	637	446	2410	1680

Metabolite-to-Parent Ratio (%) Based on AUC_{0-24} (Dose: 5 mg/kg/day)[2]

	M1		M2		M3		M4	
Sex	**Day 0[1]**	**Day 26**	**Day 0[1]**	**Day 26**	**Day 0[1]**	**Day 26**	**Day 0[1]**	**Day 26**
Males	0.00	0.00	0.217	0.00	3.33	0.711	17.1	14.2
Females	0.00	0.00	1.13	0.632	1.32	1.48	7.19	13.6

[1] Day 0 was the first day of dosing.
[2] Palovarotene and metabolite plasma concentrations determined by LC/UV method.
AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration; LC/UV=liquid chromatography with ultraviolet detection; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene (mixture of diastereomers with 1:5 ratio); M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4=6-oxo and 7-oxo metabolite of palovarotene.
Source: Study report 1007062, APPENDIX A, Analytical Chemistry and Toxicokinetic Reports, Table

3.2.1.3 26 週間反復経口投与毒性試験

1009627 試験、添付資料番号：4.2.3.2.3

Wistar ラット（雌雄各 6 匹／時点／群）にパロバロテンを 0.005、0.015、0.050 及び 0.150 mg/kg/day で 1 日 1 回 26 週間反復経口投与したときの TK パラメータを算出した。パロバロテンを微紛化し、投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。Day 0、27、84 及び 175 の投与約 1、2、4、7 及び 24 時間後に血液試料を採取した。血漿中パロバロテン濃度は LC-MS/MS 法（1007336 試験）で測定した。TK パラメータを表 2.6.4-7 及び 2.6.5.4C 項に示す。

C_{max} 及び AUC_{0-24} はいずれの測定日でも雌雄ともにほぼ用量比例的に増加したが、Day 0 の 0.15 mg/kg 群での C_{max} を除き、雌の C_{max} 及び AUC_{0-24} は雄よりもやや高い値を示した。全測定日を通して、C_{max} 及び AUC_{0-24} はほぼ同様であったことから、反復投与による代謝の自己誘導及び蓄積はないと考えられた。

表 2.6.4-7 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（1009627 試験）

Males	**0.005 mg/kg/day**				**0.015 mg/kg/day**			
	Day 0[1]	**Day 27**	**Day 84**	**Day 175**	**Day 0[1]**	**Day 27**	**Day 84**	**Day 175**
C_{max} (ng/mL)	0.432	0.430	0.317	0.284	1.13	1.10	1.31	1.13
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	2.50	3.02	2.17	2.00	6.45	7.17	6.90	6.38
	0.050 mg/kg/day				**0.150 mg/kg/day**			
	Day 0[1]	**Day 27**	**Day 84**	**Day 175**	**Day 0[1]**	**Day 27**	**Day 84**	**Day 175**
C_{max} (ng/mL)	3.20	4.77	3.53	2.87	13.1	9.95	10.8	9.23
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	24.1	26.7	24.5	24.0	73.6	79.5	90.2	60.2
Females	**0.005 mg/kg/day**				**0.015 mg/kg/day**			
	Day 0[1]	**Day 27**	**Day 84**	**Day 175**	**Day 0[1]**	**Day 27**	**Day 84**	**Day 175**
C_{max} (ng/mL)	0.476	0.486	0.436	0.485	1.47	1.31	1.35	1.63
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	3.21	3.65	2.72	3.20	9.89	10.6	9.57	9.21
	0.050 mg/kg/day				**0.150 mg/kg/day**			
	Day 0[1]	**Day 27**	**Day 84**	**Day 175**	**Day 0[1]**	**Day 27**	**Day 84**	**Day 175**
C_{max} (ng/mL)	5.77	5.32	4.66	5.15	12.2	19.7	13.7	14.4
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	35.2	33.9	38.1	35.1	108	114	133	122

[1] Day 0 was the first day of dosing.
AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration.
Source: Report 1009627, APPENDIX E, Toxicokinetic Report, Table

3.2.1.4 26 週間反復経口投与毒性試験（パロバロテン及び代謝物の評価）

1013603 試験、添付資料番号：4.2.3.2.4

Wistar ラット（雌雄各 3 匹／時点／群）にパロバロテンを 0.3、0.6、1.0 mg/kg/day で 1 日 1 回 26 週間反復経口投与したときの TK パラメータ及び代謝物／未変化体曝露量比を算出した。パロバロテンを微紛化し、投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。Day 1、86 及び 177 の投与前及び投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に血液試料を採取した。また、1.0 mg/kg 群では血漿中パロバロテン及び代謝物濃度は LC-MS/MS 法（1013104 試験）で測定した。TK パラメータ及び代謝物／未変化体曝露量比を表 2.6.4-8 及び 2.6.5.4D 項に示す。

いずれの測定日でもパロバロテン及び 4 代謝物の AUC_{0-24} は用量比例的に増加した。雌雄ともに未変化体の曝露量が各代謝物の曝露量より顕著に高かった。すなわち、1.0 mg/kg/day 群の Day 1 の AUC_{0-24} に基づくと、M2、M3、M4a 及び M4b のパロバロテンに対する曝露量比は雄で 3.82%、3.69%、10.6%及び 2.53%、雌で 2.63%、4.07%、2.71%及び 1.77%であった。Day 86 及び 177 も同様の比であった。Day 86 ではパロバロテン及び代謝物ともにやや蓄積傾向を示したが、Day 177 では更なる蓄積はみられなかった。パロバロテンの曝露は雌で雄よりやや高かった。

表 2.6.4-8 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）及び代謝物／未変化体曝露量比（1013603 試験）

		0.3 mg/kg /day			0.6 mg/kg/day			1.0 mg/kg/day		
Sex	**Parameters**	**Day 1**	**Day 86**	**Day 177**	**Day 1**	**Day 86**	**Day 177**	**Day 1**	**Day 86**	**Day 177**
Males	C_{max} (ng/mL)	22.7	20.7	16.5	47.2	31.4	33.1	64.0	51.4	82.6
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	85.9	133	129	191	282	242	301	366	421
Females	C_{max} (ng/mL)	33.8	35.7	29.7	48.7	57.6	60.7	79.5	107	96.6
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	133	211	207	292	351	445	501	673	716

	Metabolite-to-Parent Ratio (%) Based on AUC_{0-24} (Dose: 1.0 mg/kg/day)											
	M2			**M3**			**M4a**			**M4b**		
Sex	**Day 1**	**Day 86**	**Day 177**	**Day 1**	**Day 86**	**Day 177**	**Day 1**	**Day 86**	**Day 177**	**Day 1**	**Day 86**	**Day 177**
Males	3.82	3.44	3.71	3.69	3.11	3.40	10.6	12.8	11.6	2.53	3.42	2.61
Females	2.63	4.96	4.22	4.07	8.42	7.14	2.71	8.60	7.58	1.77	7.95	5.95

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene.
Source: Report 1013603, Tabulated Summary of Toxicity and Toxicokinetic Findings

3.2.2 ウサギ

3.2.2.1 4 週間反復経口投与毒性試験（パロバロテン及び代謝物の評価）

1020320 試験、添付資料番号：4.2.3.2.6

ニュージーランド系白色ウサギ（雌雄各 7 匹／時点）にパロバロテンを 0.5、1.0 及び 2.5 mg/kg/day で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与したときの TK パラメータ及び代謝物／未変化体曝露量比を算出した。投与媒体として 0.01%BHA を含むミグリオール 812 を用いた。Day 1 及び 29（2.5 mg/kg/day の雄では Day 12）の投与前並びに投与 0.5、1、3、10 及び 24 時間後に血液試料を採取した。ただし、2.5 mg/kg/day 群の雄は、早期解剖のため Day 1 及び 12 にサンプルを採取した。血漿中パロバロテン及びその代謝物濃度は LC-MS/MS 法で測定した（1019321 試験）。TK パラメータ及び代謝物／未変化体曝露量比を表 2.6.4-9 及び 2.6.5.4E 項に示す。

Day 1 及び 29 の雌雄ともにパロバロテン及び 4 代謝物の AUC_{0-24} は用量比例的に増加した。反復投与によるパロバロテンの蓄積はみられなかったが、4 代謝物ともにわずかに蓄積傾向が認められた。また、パロバロテンの曝露量に性差はみられなかったが、代謝物の曝露量は雌で雄より高かった。代謝物／未変化体曝露量比はいずれの代謝物でもラット及びイヌに比べて大きく、M2 及び M4a は 3%～29%、M3 及び M4b は 90%～649%であった。

表 2.6.4-9 ウサギ 4 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）及び代謝物／未変化体曝露量比（1020320 試験）

		0.5 mg/kg/day		1.0 mg/kg/day		2.5 mg/kg/day	
Sex	**Parameters**	**Day 1**	**Day 29**	**Day 1**	**Day 29**	**Day 1**	**Day 29[1]**
Males	C_{max} (ng/mL)	24.5	28.7	41.4	44.2	142	209
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	223	353	518	582	1190	399
Females	C_{max} (ng/mL)	21.1	26.5	38.7	43.1	123	113
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	208	277	392	454	911	1080

	Metabolite-to-Parent Ratio (%) Based on AUC_{0-24} (Dose: 2.5 mg/kg/day)							
	M2		**M3**		**M4a**		**M4b**	
Sex	**Day 1**	**Day 29[1]**	**Day 1**	**Day 29[1]**	**Day 1**	**Day 29[1]**	**Day 1**	**Day 29[1]**
Males	10.7	11.3	89.9	108	3.34	5.74	97.5	133
Females	28.8	28.2	187	172	12.1	22.0	307	649

[1] Day 12 for males.
AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene.
Source: Report 1020320, Tabulated Summary of Toxicity and Toxicokinetic Findings

3.2.3 イヌ

3.2.3.1 5 日間反復経口投与薬物動態試験

1008701 試験、添付資料番号：4.2.2.2.3

ビーグル犬（雌 5 匹）にパロバロテンを 0.1 mg/kg/day で 1 日 1 回 5 日間反復経口投与したときの薬物動態を評価した。投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を使用した。Day 1 及び 5 の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、3、5、7、10、24、30（Day 5 のみ）及び 48（Day 5 のみ）時間後に血液試料を採取した。血漿中パロバロテン濃度は LC-MS/MS 法で測定した。Day 1 及び 5 の薬物動態パラメータを表 2.6.4-10 及び 2.6.5.4F 項に示す。

Day 5 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は Day 1 と同様であったことから、パロバロテン反復投与による蓄積及び自己誘導はないと考えられた。

表 2.6.4-10 イヌに 1 日 1 回 5 日間反復経口投与後のパロバロテンの薬物動態パラメータ（平均値±標準偏差）（1008701 試験）

		0.1 mg/kg/day	
Sex	**Parameters**	**Day 1**	**Day 5**
Females	C_{max} (ng/mL)	148 ± 30.0	130 ± 15.2
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1190 ± 674	1060 ± 657

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration
Source: Report 1008701, Table 6-7

3.2.3.2 4 週間反復経口投与毒性試験（パロバロテン及び代謝物の評価）

1009512 試験、添付資料番号：4.2.3.2.9

ビーグル犬（雌雄各 5 匹／群）にパロバロテンを 0.008、0.04 及び 0.2 mg/kg/day で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与したときの TK パラメータを算出した。パロバロテンを微紛化し、投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。Day 1 及び 28 の投与約 1、3、7 及び 24 時間後に血液試料を採取した。血漿中パロバロテン濃度は LC-MS/MS 法を用いて測定した（1007340 試験）。また、0.2 mg/kg/day 群では血漿中パロバロテンとその代謝物濃度を LC/UV 法により測定し、代謝物／未変化体曝露量比を算出した。パロバロテンの TK パラメータ及び代謝物／未変化体曝露量比を表 2.6.4-11 及びに 2.6.5.4G 項に示す。

Day 1 のパロバロテンの C_{max} 及び AUC_{0-24} に性差はみられなかった。Day 28 の雌の C_{max} 及び AUC_{0-24} は Day 1 と同様であったが、雄では Day 1 よりわずかに低かった（Day 28 の Day 1 に対する比は 2 未満）。これは、雄では軽度の代謝の自己誘導の影響を受けている可能性がある。

表 2.6.4-11　イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）及び代謝物／未変化体曝露量比（1009512 試験）

		0.008 mg/kg/day		0.04 mg/kg/day		0.2 mg/kg/day	
Sex	**Parameter**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28[1]**
Males	C_{max} (ng/mL)	6.43	4.95	39.2	24.6	209	129
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	80.1	55.2	493	332	2520	1720
Females	C_{max} (ng/mL)	7.40	6.93	28.9	44.5	209	207
	AUC_{0-24} (ng•h/mL)	74.3	67.5	313	430	2530	2750

	Metabolite-to-Parent Ratio (%) Based on AUC_{0-24} (Dose: 0.2 mg/kg/day)[2]							
	M1		**M2**		**M3**		**M4**	
	Day 1	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**	**Day 1**	**Day 28**
Males	0.164	0.00	1.88	2.61	0.00	0.820	6.34	19.3
Females	0.128	0.125	3.71	1.50	0.709	0.523	14.9	17.8

[1] 3 animals/sex per time point.
[2] Palovarotene and metabolite plasma concentrations determined by LC/UV method.
AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration; LC/UV=liquid chromatography with ultraviolet detection; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene (mixture of diastereomers with 1:5 ratio); M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4 = 6-oxo and 7-oxo metabolite of palovarotene.
Source: Report 1009512, Table 2-4

3.2.3.3　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験

1009654 試験、添付資料番号：4.2.3.2.10

ビーグル犬（雌雄各 6 匹／群）にパロバロテンを 0.0002、0.0006、0.002 及び 0.006 mg/kg/day で 1 日 1 回 39 週間反復経口投与したときの TK パラメータを算出した。パロバロテンを微紛化し、投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。投与前（Day 0 のみ）並びに投与 1、3、7 及び 24 時間後に血液試料を採取した。雄では Day 0、28、84、175 及び 272、雌では Day 0、27、83、174 及び 271 に採血した。血漿中パロバロテン濃度は LC-MS/MS 法を用いて測定した（1007339 試験）。パロバロテンの TK パラメータを表 2.6.4-12 及び 2.6.5.4H 項に示す。

39 週間反復投与によるパロバロテンの曝露に顕著な変化はみられなかった。各測定時点（Day 0、27/28、83/84、174/175 及び 271/272）での C_{max} は 0.0002、0.0006、0.002 及び 0.006 mg/kg/day で 0.26、0.75、2.52 及び 8.29 ng/mL、AUC_{0-24} は 1.9、5.5、20.2 及び 69 ng•h/mL であり（雌雄合算の平均値）、C_{max} 及び AUC_{0-24} ともに用量比例性を示した。

表 2.6.4-12　　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）（1009654 試験）

	0.0002 mg/kg/day					0.0006 mg/kg/day				
Males	**Day 0[1]**	**Day 28**	**Day 84**	**Day 175**	**Day 272**	**Day 0[1]**	**Day 28[2]**	**Day 84**	**Day 175**	**Day 272**
C_{max} (ng/mL)	0.302	0.207	0.229	0.164	0.225	0.924	0.733	0.926	0.732	0.625
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1.83	1.60	1.62	1.38	2.03	6.55	4.99	7.19	5.86	4.62
	0.002 mg/kg/day					**0.006 mg/kg/day**				
	Day 0[1]	**Day 28**	**Day 84**	**Day 175**	**Day 272**	**Day 0[1]**	**Day 28[2]**	**Day 84**	**Day 175**	**Day 272**
C_{max} (ng/mL)	2.91	2.24	2.41	2.42	2.43	9.65	7.39	8.50	8.26	8.13
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	21.4	16.4	17.9	22.7	17.6	66.6	65.9	71.5	71.1	68.1
	0.0002 mg/kg/day					**0.0006 mg/kg/day**				
Females	**Day 0[1]**	**Day 27**	**Day 83**	**Day 174**	**Day 271**	**Day 0[1]**	**Day 27**	**Day 83**	**Day 174**	**Day 271**
C_{max} (ng/mL)	0.330	0.266	0.286	0.288	0.314	0.606	0.707	0.972	0.598	0.713
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	2.01	1.96	1.98	1.96	2.73	3.90	4.87	6.38	4.78	5.82
	0.002 mg/kg/day					**0.006 mg/kg/day**				
	Day 0[1]	**Day 27**	**Day 83**	**Day 174**	**Day 271**	**Day 0[1]**	**Day 27**	**Day 83**	**Day 174**	**Day 271**
C_{max} (ng/mL)	2.74	2.07	2.49	2.51	2.97	8.22	8.31	6.72	8.89	8.82
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	20.7	17.4	20.7	22.6	24.8	64.6	64.1	68.0	73.8	76.0

[1] Day 0 was the first day of dosing.
[2] N=5.
AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration.
Source: Report 1009654, Toxicokinetic report, Table 4-23

3.2.3.4　　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験（パロバロテン及び代謝物の評価）

1013980 試験、添付資料番号：4.2.3.2.11

ビーグル犬（雌雄各 10 匹又は 7 匹／群）にパロバロテンを 0.012、0.025、0.025/0.120 及び 0.04 mg/kg/day で 1 日 1 回 39 週間反復経口投与したときの TK パラメータを算出した。パロバロテンを微紛化し、投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。0.012、0.025 及び 0.040 mg/kg/day（雌雄各 10 匹／群）を 39 週間投与し、Day 99 に中間用量である 0.025 mg/kg/day を 0.120 mg/kg/day に増量した（雌雄各 7 匹／群）。0.012、0.040 及び 0.120 mg/kg/day では 39 週間、0.025 mg/kg/day では 13 週間の投与を行った。0.012、0.025 及び 0.04 mg/kg/day については Day 1、89 及び 268（0.025 mg/kg/day は Day 89 まで）、0.12 mg/kg/day については Day 1、29、170 及び 267 の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に血液検体を採取した。なお、0.120 mg/kg/day の雄 2 匹（2/7）及び雌 5 匹（5/7）が、耳及び皮膚病変により倫理的見地から屠殺された。血漿中パロバロテン及びその代謝物濃度を LC-

MS/MS 法で測定した（1013105 試験、1012575 試験に記載されている Method No.MS-93）。TK パラメータ及び代謝物／未変化体曝露量比を表 2.6.4-13 及び 2.6.5.4I 項に示す。

雌雄ともにパロバロテンの曝露量はいずれの代謝物よりも顕著に高かった。パロバロテン及び 4 代謝物ともに AUC_{0-24} は 0.040 mg/kg/day までの用量では全ての測定日で用量比例的に増加したが、0.120 mg/kg/day までの用量で評価すると、全ての測定日について用量比例的に増加するという結論は得られなかった。

雌雄ともに反復投与によるパロバロテンの蓄積はみられなかったが、4 代謝物についてはやや蓄積傾向がみられた。雌雄ともに 0.120 mg/kg/fay の Day 170 及び 267 ではパロバロテン及び 4 代謝物の曝露に大きなばらつきがみられた。

表 2.6.4-13　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）及び代謝物／未変化体曝露量比（1013980 試験）

	0.012 mg/kg/day			0.025 mg/kg/day		
Males	**Day 1**	**Day 89**	**Day 268**	**Day 1**	**Day 89**	
C_{max} (ng/mL)	9.68	10.6	10.3	15.3	18.0	
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	102	126	117	137	189	
	0.040 mg/kg/day			**0.120 mg/kg/day**		
	Day 1	**Day 89**	**Day 268**	**Day 1**	**Day 170**	**Day 267**
C_{max} (ng/mL)	38.4	40.7	35.1	96.5	52.8	86.9
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	443	466	384	1020	412	752
	0.012 mg/kg/day			**0.025 mg/kg/day**		
Females	**Day 1**	**Day 89**	**Day 268**	**Day 1**	**Day 89**	
C_{max} (ng/mL)	9.87	9.83	8.07	16.2	21.7	
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	103	109	88.2	188	237	
	0.040 mg/kg/day			**0.120 mg/kg/day**		
	Day 1	**Day 89**	**Day 268**	**Day 1**	**Day 170**	**Day 267**
C_{max} (ng/mL)	31.2	37.1	40.3	121	95.3	56.7
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	335	343	401	1450	948	718

	Metabolite-to-Parent Ratio (%) Based on AUC_{0-24} (Dose: 0.040 mg/kg/day)											
	M2			**M3**			**M4a**			**M4b**		
Day	**1**	**89**	**268**	**1**	**89**	**268**	**1**	**89**	**268**	**1**	**89**	**268**
Males	4.36	7.47	8.18	2.82	5.36	5.42	6.46	11.2	13.4	0.932	2.02	2.35
Females	7.97	13.4	15.9	4.12	6.94	6.73	15.0	24.4	26.7	1.44	2.76	2.87

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene.
Source: Report 1013980, Tabulated Summary of Toxicity and Toxicokinetic Findings

3.2.4 その他

3.2.4.1 マウス小核試験での TK 試験

1002682 試験、添付資料番号：4.2.3.3.2.1

マウス骨髄を用いた小核試験で、Moro Albino マウス（雌雄各 2 匹／群）にパロバロテンを 5.00、12.5 及び 25.0 mg/kg/day で 1 日 1 回 2 日間経口投与したときの TK パラメータを算出した。投与媒体として 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。2 回目の投与約 0.25、1、7 及び 24 時間後に血液試料を採取した。血漿中パロバロテン濃度は LC-MS/MS 法で測定した（1007334 試験）。TK パラメータを表 2.6.4-14 及び 2.6.5.4J 項に示す。

雌雄ともにパロバロテンの $AUC_{0\text{-}24}$ は、5.00～12.5 mg/kg で投与量の増加比を下回って増加したが、12.5～25.0 mg/kg では用量の増加比を上回った。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は概して雌で雄よりやや高かった（2 倍未満）。

表 2.6.4-14 マウス小核試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）（1002682 試験）

	Parameters	5.00 mg/kg/day	12.5 mg/kg/day	25.0 mg/kg/day
Males	C_{max} (ng/mL)	156	583	315
	$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	716	1020	3290
Females	C_{max} (ng/mL)	206	237	509
	$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	1150	1670	5800

$AUC_{0\text{-}24}$=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration.
Source: Report 1002682, Toxicokinetics Final Report Table 1

3.2.4.2 幼若ラット 6 週間反復経口投与毒性試験

6700132 試験、添付資料番号：4.2.3.5.4.2

幼若 Wistar ラット（投与開始時 21 日齢、雌雄各 3 匹／時点／群）にパロバロテンを 0.1、0.5 及び 1.2 mg/kg/day で 1 日 1 回 6 週間反復経口投与したときの TK パラメータを算出した。投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を使用した。Day 1 及び 42（21 及び 62 日齢）の投与前並びに投与 1、2、4、7 及び 24 時間後に血液試料を採取した。血漿中パロバロテン濃度は LC-MS/MS 法で測定した（1000462 試験）。TK パラメータを表 2.6.4-15 及び 2.6.5.4K 項に示す。

0.1～0.5 mg/kg/day については用量比例性がみられたが、0.5～1.2 mg/kg/day では Day 1 では用量比例性がみられたものの、Day 42 では投与量の増加比をやや下回った。また、Day 1 では曝露に性差がみられなかったが、Day 42 では雌で雄より高かった。すべての用量で反復投与による曝露の減少がみられ、Day 42 の Day 1 に対する割合は 0.329～0.674 であった。

表 2.6.4-15　幼若ラット 6 週間経口投与毒性試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値±標準誤差）（6700132 試験）

	0.1 mg/kg/day		0.5 mg/kg/day		1.2 mg/kg/day	
Number of Animals[1]	**Males 18+6**	**Females 18+6**	**Males 18+6**	**Females 18+6**	**Males 18+6**	**Females 18+6**
Day 21 pp (Day 1 of dosing)						
C_{max} (ng/mL)	20.6 ± 1.43	22.3 ± 5.15	98.5 ± 17.4	113 ± 15.2	316 ± 91.1	295 ± 64.6
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng•h/mL)[2]	120 ± 13.9	129 ± 13.9	912 ± 330	800 ± 95.8	1490 ± 212	1810 ± 211
Day 62 pp (Day 42 of dosing)						
C_{max} (ng/mL)	10.8 ± 0.968	14.0 ± 3.58	47.8 ± 4.06	99.1 ± 15.4	92.0 ±7.35	138 ± 9.65
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng•h/mL)[2]	57.9 ± 10.4	87.0 ± 14.6	300 ± 62.7	430 ± 47.6	575 ± 39.7	787 ± 79.3

[1] First set of animals used for terminal blood sampling on Day 21 pp and second set of animals used for serial sampling on Day 62 pp.
[2] Last quantifiable concentration observed at 24 hours.
$AUC_{0\text{-}last}$=area under the concentration versus time curve from time zero to the last concentration above the limit of quantification; C_{max}=maximum plasma concentration; pp=postpartum.
Source: Report 6700132, Text table 19-20

3.2.4.3　妊娠ラット 12 日間反復投与毒性試験

1003177 試験、添付資料番号：4.2.3.5.2.3

妊娠（GD）Wistar ラット［GD6～17 日、3 匹／群］にパロバロテンを 0.01、0.25 及び 1.25 mg/kg/day で 1 日 1 回 12 日間反復経口投与したときの TK パラメータを算出した。投与媒体として 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。GD 17 の投与約 2 及び 24 時間後に血液試料を採取した。血漿中パロバロテン濃度は LC-MS/MS 法で測定した（1007335 試験）。TK パラメータを表 2.6.4-16 及び 2.6.5.4L 項に示す。

パロバロテンの $AUC_{0\text{-}24}$（平均値±標準偏差）は 0.01、0.25 及び 1.25 mg/kg/day で 8.65± 7.62、268 ± 106 及び 1000± 239 ng•h/mL であった。また、C_{max}（投与 2 時間後の平均値±標準偏差）はそれぞれ 0.721 ± 0.635、22.3 ± 8.85 及び 80.1 ± 18.3 ng/mL であった。1.25 mg/kg でのみ投与 24 時間後に定量可能な濃度（0.5 ng/mL 以上）が検出された。

表 2.6.4-16　妊娠ラット 12 日間反復投与試験でのパロバロテンの TK パラメータ（平均値）（1003177 試験）

Parameter		0.01 mg/kg/day	0.25 mg/kg/day	1.25 mg/kg/day
		GD17	**GD17**	**GD17**
Females	C_{max} (ng/mL)[1]	0.721	22.3	80.1
	$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)[2]	8.65	268	1000

[1] Mean plasma concentration at 2 hours postdose.
[2] Concentrations of palovarotene above the limit of quantification (0.5 ng/mL) at 24 hours after dosing were achieved only at 1.25 mg/kg/day.
$AUC_{0\text{-}24}$=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration; GD=gestational day.
Source: Report 1003177, TOXICOKINETIC REPORT, Table 1

3.2.5 種差

ラット、イヌ及びウサギともにパロバロテン及びその代謝物の曝露量（C_{max} 及び AUC）は概ね用量比例性を示した。

ラットではパロバロテンの曝露量は雌で雄よりも高かったが意義のある差ではなく、イヌでは一貫した性差の傾向はみられなかった。また、ラット及びイヌともに 4 代謝物についての一貫した性差はみられなかった。ウサギではパロバロテンの曝露量に顕著な性差はみられなかったが、4 代謝物ともに曝露量は雌で雄よりも若干高かった。

ラット 26 週間反復経口投与毒性試験の 1.0 mg/kg/day（表 2.6.4-8）では反復投与により、やや蓄積傾向がみられたが、ラット 26 週間反復経口投与毒性試験の 0.150 mg/kg/day（表 2.6.4-7）及びイヌ 39 週間反復経口投与毒性試験（表 2.6.4-13）では 0.04 mg/kg まで、反復投与時のパロバロテンの曝露量は初回投与時とほぼ同様であり、両動物種において顕著な蓄積性は認められず、反復投与による酵素誘導もないことが示唆された。ウサギ 4 週間反復経口投与毒性試験では、パロバロテンの蓄積性は認められなかったが、4 代謝物のうち主に M4a 及び M4b で蓄積傾向が認められた（表 2.6.4-9）。

幼若ラット 6 週間反復経口投与毒性試験では、全身曝露量（表 2.6.4-15）は Day 1 ではほぼ用量比例的に増加したが、Day 42 ではやや用量比例性を下回った。Day 1 に対する Day 42 の比は 0.329～0.674 であった。経時的な曝露の減少が、パロバロテン反復投与による酵素誘導の影響によるものか、代謝酵素活性が幼若ラットで成熟ラットより高かったことによるものか、又はその両方によるものかは不明である。

パロバロテンの代謝物である M2、M3、M4a 及び M4b の曝露量は、ラット 26 週間反復経口投与毒性試験の 1 mg/kg/day（表 2.6.4-8、代謝物／未変化体曝露比は 2%～13%）及びイヌ 39 週間反復経口投与毒性試験の 0.040 mg/kg/day（表 2.6.4-13、代謝物／未変化体曝露比は 1%～27%、M4a で最も高値を示した）ともに、未変化体の曝露量よりも顕著に低かったが、ウサギ 4 週間反復経口投与毒性試験の 2.5 mg/kg/day（表 2.6.4-9、代謝物／未変化体曝露比は M2 及び M4a で 3%～29%、M3 及び M4b で 90%～649%）では M3 及び M4b で未変化体と同程度か高い値を示した。

4　分布

4.1　組織内分布

1007312 試験、添付資料番号：4.2.2.3.1

CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 試験、添付資料番号：4.2.2.3.2

[^{14}C]-パロバロテンを 5 日間反復経口投与後の組織内分布を、雄性白色 Wistar ラット及び有色 Lister Hooded ラットを用いて検討した。白色ラットでは最終投与 1、2、4、8、24、48 時間後（各時点 3 匹）、有色ラットでは最終投与 4、8、24、48、72、96 時間後（各時点 1 匹）に、全身蛍光イメージングにより組織内放射能濃度を測定した。

ラットに[^{14}C]-パロバロテンを 2 mg/kg で 1 日 1 回 5 日間反復経口投与したときの放射能は緩徐ではあるが広範な組織に分布し、消化管に関連する組織及び副腎で高い放射能が検出された（表 2.6.4-17 及び 2.6.5.5 項）。投与 0 から 48 時間後までの濃度―時間曲線下面積（AUC_{0-48}）として評価したとき、採取した 39 組織のうち 30 組織（白色ラット）又は 26 組織（有色ラット）で、組織／血液中放射能曝露比は 1 超であった。有色ラットの副腎及び骨組織以外では、すべての組織で放射能は最終投与後 4～8 時間で T_{max} に達した後、徐々に減少した。有色ラットの副腎と骨組織では放射能は最終投与後 24 時間で T_{max} に達した。有色ラットの組織内分布は白色ラットと類似していたが、血液中放射能濃度が低いため、被毛／皮膚及び眼の組織／血液中放射能曝露比（AUC_{0-48}）は 3.43 及び 0.6 と若干高かった。最終投与後 96 時間には、大部分の組織で放射能濃度は LLOQ 付近又は未満となった。メラニンへの選択的な結合はないと考えられた。

表 2.6.4-17　白色及び有色ラットに[^{14}C]-パロバロテンを 2 mg/kg で 5 日間反復経口投与したときの最終日の各組織の薬物動態パラメータ

	Albino Wistar[1]					Pigmented Lister Hooded[2]				
Tissue	**T_{max} (h)**	**C_{max} (ng•Eq/g)**	**AUC_{0-48} (ng•Eq•h/g)**	**T/B C_{max}**	**T/B AUC_{0-48}**	**T_{max} (h)**	**C_{max} (ng•Eq/g)**	**AUC_{0-48} (ng•Eq•h/g)**	**T/B C_{max}**	**T/B AUC_{0-48}**
Large Intestine Contents	8	44000	837000	460	709	8	23700	356000	479	645
Caecum Contents	4	34000	537000	351	455	4	38300	562000	775	1020
Small Intestine Contents	4	35000	394000	361	334	4	21400	239000	432	433
Stomach Contents	2	30000	192000	314	163	8	7170	111000	145	200
Adrenal Cortex	4	2400	86900	25.3	73.6	24	3530	116000	71.4	209
Adrenal Medulla	4	1300	34500	14.0	29.2	24	1640	54100	33.2	97.8
Liver	4	3300	34300	34.1	29.1	4	2340	25900	47.4	46.8
Caecum Wall	8	1100	19800	11.2	16.8	8	1280	19300	25.9	34.9
Preputial Gland	4	390	8970	4.09	7.60	4	158	4430	3.20	8.02
Stomach Wall	1	600	7150	6.28	6.05	8	318	10400	6.44	18.9
Pancreas	4	460	6140	4.86	5.20	4	526	3390	10.6	6.13
Kidney Cortex	4	370	5460	3.84	4.63	4	179	3980	3.62	7.19
Testes	4	280	4380	2.92	3.71	4	142	2880	2.87	5.21
Bone Marrow	4	120	3490	1.21	2.96	4	83.0	3280	1.68	5.94
Brown Fat	4	230	3030	2.43	2.57	4	51.5	909	1.04	1.64
Thymus	4	150	2860	1.58	2.42	4	68.3	1060	1.38	1.93
Submaxillary Salivary Gland	4	260	2670	2.75	2.26	4	86.1	1040	1.74	1.88
Harderian Gland	4	290	2510	3.01	2.13	4	146	764	2.96	1.38
Spleen	4	280	2420	2.89	2.05	4	142	1490	2.87	2.69
Kidney Medulla	4	210	2340	2.22	1.98	4	83.6	1370	1.69	2.47
White Fat	4	100	2090	1.06	1.77	4	24.3	703	0.492	1.27
Cardiac Muscle	4	210	2020	2.24	1.71	4	89.7	518	1.82	0.936

表 2.6.4-17　　白色及び有色ラットに[^{14}C]-パロバロテンを 2 mg/kg で 5 日間反復経口投与したときの最終日の各組織の薬物動態パラメータ（続き）

	Albino Wistar[1]					Pigmented Lister Hooded[2]				
Tissue	**T_{max} (h)**	**C_{max} (ng•Eq/g)**	**AUC_{0-48} (ng•Eq•h/g)**	**T/B C_{max}**	**T/B AUC_{0-48}**	**T_{max} (h)**	**C_{max} (ng•Eq/g)**	**AUC_{0-48} (ng•Eq•h/g)**	**T/B C_{max}**	**T/B AUC_{0-48}**
Epididymis	4	170	1930	1.76	1.64	4	77.5	1200	1.57	2.17
Lung	4	160	1550	1.70	1.32	4	88.5	709	1.79	1.28
Thyroid Gland	4	160	1450	1.69	1.23	4	42.5	170	0.86	0.307
Nasal Mucosa	4	120	1350	1.25	1.14	4	48.9	473	0.99	0.856
Pituitary Gland	4	170	1310	1.80	1.11	4	52.7	211	1.07	0.381
Fur/Skin	4	39.0	1290	0.403	1.09	8	87.6	1900	1.77	3.43
Seminal Vesicles	2	99.0	1250	1.03	1.06	4	74.7	387	1.51	0.700
Spinal Cord	4	150	1200	1.60	1.02	4	49.4	315	1.00	0.569
Brain	4	150	1050	1.52	0.891	4	50.6	327	1.02	0.592
Pineal Body	4	180	944	1.89	0.800	4	40.9	164	0.828	0.296
Cardiac Blood	4	100	828	1.05	0.701	4	44.8	299	0.907	0.541
Urine	2	80.0	793	0.832	0.671	4	28.5	114	0.577	0.206
Skeletal Muscle	4	62.0	538	0.651	0.455	4	17.5	245	0.354	0.444
Whole Eye	8	12.0	283	0.129	0.239	4	15.4	332	0.312	0.600
Bone	4	23.0	109	0.244	0.0923	24	16.6	373	0.336	0.675
Large Intestine Wall	8	1300	NC	13.4	NC	8	91.2	2840	1.85	5.14
Small Intestine Wall	4	2200	NC	22.8	NC	4	266	3190	5.38	5.77
Whole Blood	4	96.0	1180	1.00	1.00	4	49.4	553	1.00	1.00

[1] N=3.
[2] N=1.
AUC_{0-48}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 48 hours post-dose; C_{max}=maximum observed concentration; NC=not calculated; T/B=tissue to blood ratio; T_{max}=time of maximum observed concentration.
Source: Report CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270, Table 8-9, Table 12-13

4.2 タンパク結合及び血球移行

1008422 試験、添付資料番号：4.2.2.3.3
1008425 試験、添付資料番号：4.2.2.3.4

[^{14}C]-パロバロテンの *in vitro* での血漿中タンパク結合率及び血球分配率を、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトで測定した。パロバロテンは、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの血漿中タンパク結合は高く、濃度依存性はみられなかった。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトでの平均値は 97.5%～99.0%であった（1008422 試験、2.6.5.6 項）。

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにおけるパロバロテンの血液／血漿濃度比の雌雄の平均値は 0.52～0.63 であり、パロバロテンは赤血球に分配されないことが示された（1008425 試験、2.6.5.8A 項）。

5 代謝

マウス、ラット、イヌ及びサルにおけるパロバロテン及びその代謝物の体内動態を特徴付けるために、包括的な *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。

5.1 *In Vitro* 代謝

1008691 試験、添付資料番号：4.2.2.4.1

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト肝ミクロソーム、並びにラット、イヌ、サル及びヒト凍結肝細胞を用いて、パロバロテンの *in vitro* 代謝を検討した（2.6.5.10A 項）。

パロバロテン 20 µmol/L をニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）存在下、肝ミクロソームと 60 分間インキュベートしたときにパロバロテンが代謝された割合は、Balb/c マウス、CD-1 マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトでそれぞれ 68.5%、25.3%、40.6%、25.5%、50.4%及び 89.1%であった（表 2.6.4-18）。したがって、パロバロテンは肝ミクロソーム中では、ヒト＞Balb/c マウス＞サル＞ラット＞CD-1 マウス＝イヌの順に代謝され易いと考えられた。また、パロバロテン 20 µmol/L をウリジン 5'-二リン酸-グルクロン酸（UDPGA）存在下、肝ミクロソーム中で 5 時間インキュベートしたときのβ-グルクロン酸抱合体生成の割合は、Balb/c マウス、CD-1 マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトで 47.5%、60.7%、82.4%、11.4%、15.9%及び 30.1%であった（表 2.6.4-19）。パロバロテン 20 µmol/L を凍結肝細胞と 6 時間インキュベートしたときにパロバロテンが代謝された割合は、ラット、イヌ、サル及びヒトで 12.8%、22.7%、60.3%及び 43.4%であり（表 2.6.4-20）、凍結肝細胞中ではサル、ヒト、イヌ、ラットの順に代謝され易いと考えられた。

表 2.6.4-18 パロバロテンを NADPH 存在下で肝ミクロソームとインキュベートしたときの代謝物の割合（1008691 試験）

Species (sex)	Time (min)	% Transformation (Parent Equivalents)					
		Parent	M1	M2	M3	M4	%Recovery[1]
Balb/c Mouse (M & F)	60	68.5	3.01	22.0	15.9	25.3	97.7
CD-1 Mouse (M)	60	25.3	1.03	4.18	4.06	1.09	85.1
Wistar Rat (M)	60	40.6	-	16.6	9.08	4.13	89.2
Beagle Dog (M & F)	60	25.5	-	24.9	2.64	2.08	104
Cynomolgus Monkey (M)	60	50.4	-	21.7	10.2	9.42	90.9
Human (M & F)	60	89.1	2.53	16.1	8.11	38.2	75.8

[1] % Recovery = (100 - %transformation of parent) + sum of metabolites 1-4.
-=not present; F=female; M=male; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene (mixture of diastereomers with 1:5 ratio); M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4=6-oxo and 7-oxo metabolite of palovarotene; NADPH=nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form.
Source: Report 1008691, Table 1

表 2.6.4-19　パロバロテンを UDPGA 存在下で肝ミクロソームとインキュベートしたときのグルクロン酸抱合体の割合（1008691 試験）

		Species (sex)					
	Time (h)	Balb/c Mouse (M & F)	CD-1 Mouse (M)	Wistar Rat (M)	Beagle Dog (M & F)	Cynomolgus Monkey (M)	Human (M & F)
% Transformed to glucuronide (Parent Equivalents)	5	47.5	60.7	82.4	11.4	15.9	30.1

F=female; M=male; UDPGA=uridine 5'diphospho-glucuonic acid.
Source: Report 1008691, Table 6

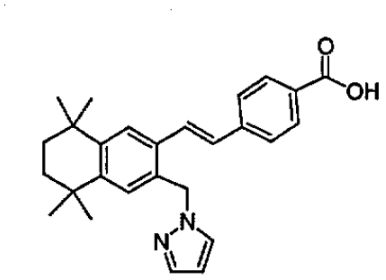
表 2.6.4-20　パロバロテンを凍結肝細胞とインキュベートしたときの代謝プロファイル（1008691 試験）

		% Transformation (Parent Equivalents)						
Species (sex)	Time (h)	Parent	M1	M2	M3	M4	M5	%Recovery[1]
Sprague-Dawley Rat (M)	6	12.8	0.217	3.47	3.14	0.769	0.271	95.1
Beagle Dog (F)	6	22.7	0.941	12.9	3.45	2.15	1.08	97.8
Cynomolgus Monkey (M)	6	60.3	1.03	14.4	23.7	6.63	0.119	90.8[2]
Human (M & F)	6	43.4	0.729	14.1	12.8	11.7	0.568	96.4

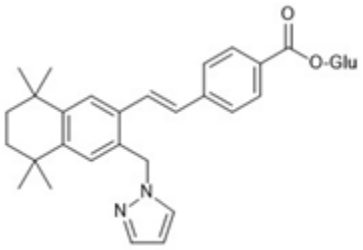
[1] % Recovery = (100 - %transformation of parent) + sum of metabolites.
[2] Including transformation (5.25%) to an unknown metabolite.
F=female; M=male; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene (mixture of diastereomers with 1:5 ratio); M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4=6-oxo and 7-oxo metabolite of palovarotene; M5=carboxyl β-glucuronide of palovarotene.
Source: Report 1008691, Table 4

パロバロテンを肝ミクロソーム又は凍結肝細胞とインキュベートしたときに得られた *in vitro* 代謝プロファイルは、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトで質的には類似しているが、量的には差がみられた（2.6.5.10A 項）。なお、ヒト特有の代謝物は確認されなかった。4 種の代謝物（M1、M2、M3 及び M4）を、肝ミクロソームとのインキュベート後に単離し、核磁気共鳴（NMR）スペクトルでの構造解析に供した。これらの構造式を図 2.6.4-2 に、推定代謝経路を 2.6.5.11 項に示す（M4 は M4a 及び M4b の 2 つの成分を有する）。肝ミクロソームとのインキュベートの結果から、パロバロテンがヒトで NADPH 依存的酸化代謝及び UDPGA 依存的グルクロン酸抱合を受けることが示唆された。すなわち、ヒトでは、パロバロテン及び代謝物のβ-グルクロン酸抱合体が生成されると考えられる。検討した動物種での主要代謝物は、M2、M3 及び M4 であり、パロバロテンのカルボキシル基に対するβ-グルクロン酸抱合体である M5 も、凍結肝細胞とのインキュベートで 0.119%～1.08%検出された。

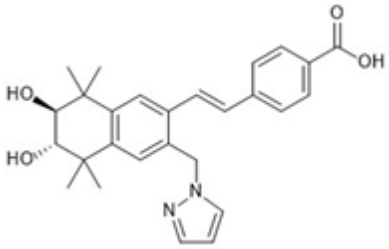
図 2.6.4-2　　パロバロテン及びその代謝物の構造式



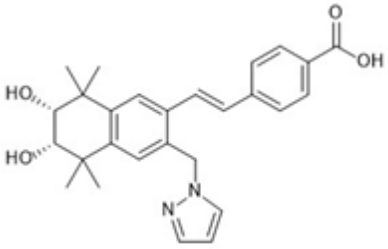
Palovarotene



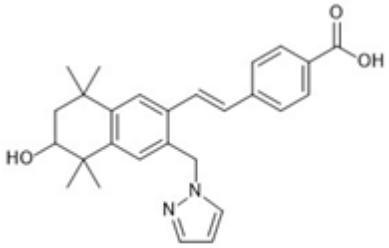
M5



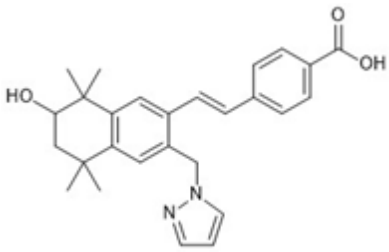
M1a



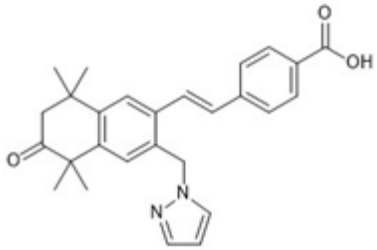
M1b



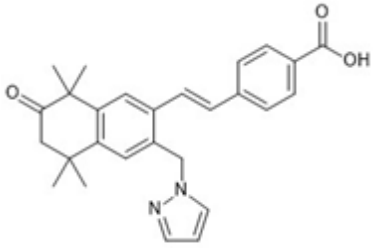
M2



M3



M4a



M4b

M1a/b=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; M5=carboxyl β-glucuronide of palovarotene.

Source: Report 1008691, Figure 1, Report 1008690, Figure 2

5.2 CYP 分子種の同定

1008690 試験、添付資料番号：4.2.2.4.2
CYP1933_04 試験、添付資料番号：4.2.2.4.3

パロバロテンの代謝に関与する CYP 分子種を、ヒト CYP 発現系及びヒト肝ミクロソームを用いて評価した（2.6.5.10B 項、2.6.5.10C 項）。ヒト CYP3A4、CYP2C8 及び CYP2C19 発現系との 60 分間のインキュベートで、パロバロテンの 98.l%、4%及び 14%が代謝された。CYP3A4 を介したパロバロテンの代謝固有クリアランスは 0.033 mL/min/mg protein であり、ミカエリス定数（K_m）値は 59 µmol/L であった。パロバロテンはヒト CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9 及び CYP2D6 発現系では代謝されなかった。ヒトプール肝ミクロソームを用いて、ケトコナゾール、ミダゾラム及びエリスロマイシンによるパロバロテンの代謝に対する阻害を評価した。強い CYP3A4 阻害薬であるケトコナゾールによるパロバロテンの代謝に対する Ki 値は 0.184 µmol/L であった。以上のことから、パロバロテン代謝に関与する主な CYP 分子種は CYP3A4 であると考えられた。

5.3 UGT 分子種の同定

CYP1558 R2A 試験、添付資料番号：4.2.2.4.4

パロバロテンのグルクロン酸抱合に関与する UGT 分子種について、UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9、UGT2B7 及び UGT2B15 発現系を用いて評価した（2.6.5.10D 項）。抱合活性は低いものの（$t_{1/2}$≧142 分）、パロバロテンは UGT1A4、UGT1A6 及び UGT2B7 の基質となる可能性が示唆された。

5.4 *In Vivo* 代謝

1008705 試験、添付資料番号：4.2.2.5.1
1008692 試験、添付資料番号：4.2.2.5.2

胆管カニューレ処置及び未処置雄 Wistar ラット（1008705 試験）及び雌ビーグル犬（1008692 試験）に[^{14}C]-パロバロテンをそれぞれ 2 及び 0.2 mg/kg で単回経口投与したときの血漿及び胆汁中代謝物を検討した。ラット血漿及び胆汁は投与後 7 及び 48 時間後まで、イヌ血漿及び胆汁は投与後 30 及び 72 時間後まで採取した。

ラット及びイヌにともに胆汁中代謝プロファイルは複雑であった（表 2.6.4-21）。胆汁中に回収された未変化体はごくわずかであり、パロバロテンの消失は主として代謝によることが示された。胆汁中代謝物はパロバロテンの酸化代謝物及びその抱合体であった。NMR で確認された酸化代謝物は、M2、M3 及びクロマトグラフィーで分離不能な M4a+M4b であり（図 2.6.4-2）、未変化体及び代謝物はさらに抱合体に代謝され、胆汁中に排泄されると考えられた。

M8、M10、M11 及び M16 は血漿中の主要代謝物ではなかったことから、構造推定は実施しなかった。ラット及びイヌ血漿中放射能の大部分がパロバロテンであった。血漿中の主な代謝物は M2、M3、M4 及び M5 のみであった。

なお、反復経口投与毒性試験で得られた代謝物／未変化体曝露量比は以下の通りである。ラット 26 週間 TK 試験（1013603 試験)では、M2、M3、M4a 及び M4b の AUC_{0-24} に基づく代謝物／未変化体曝露量比は、1.0 mg/kg/日投与群の Day 1 の雄でそれぞれ 4%、4%、11%及び 3%、雌でそれぞれ 3%、4%、3%及び 2%であった。Day 86 及び Day 177 においても同程度の比であった（表 2.6.4-8)。39 週間イヌ TK 試験（1013980 試験）では、M2、M3、M4a 及び M4b の AUC_{0-24} に基づく代謝物／未変化体比は、0.04 mg/kg/日群の 13 週目の雄でそれぞれ 7%、5%、11%及び 2%、雌でそれぞれ 13%、7%、24%及び 3%であり、39 週目では同程度であった（表 2.6.4-13)。ウサギ 4 週間 TK 試験（1020320 試験）で、2.5 mg/kg/日投与後の酸化代謝物である M2、M3、M4a 及び M4b の AUC_{0-24} に基づく代謝物／未変化体曝露量比は、Day 1 の雄でそれぞれ 11%、90%、3%及び 98%、雌でそれぞれ 29%、187%、12%及び 307%であった。4 代謝物、主に M4a 及び M4b の蓄積による高い比率が Day 29 に認められた（表 2.6.4-9)。また、RARγ転写活性化能に基づくと、M2、M3、M4a 及び M4b の活性はそれぞれパロバロテンの 1.2%、1.7%、14%及び 4.2%であった（2.6.2.2.1.1 項)。

表 2.6.4-21　　ラット及びイヌに[^{14}C]-パロバロテンを単回経口投与後の代謝プロファイル

Report Number		**1008705**		**1008692**	
		Rats (2 mg/kg)		**Dog (0.2 mg/kg)**	
		Intact	**Bile Duct-Cannulated**	**Intact**	**Bile Duct-Cannulated**
	Structural Assignment	**% Plasma AUC_{0-7}**	**Biliary % Dose 0-48 hours**	**% Plasma AUC_{0-30}**	**Biliary % Dose 0-72 hours**
Total		100	57.0	100	46.2
Palovarotene	Parent	66.1	0.803	88.6	1.22
Metabolite 2	6-hydroxy-parent	—[1]	0.307	0.395	0.436
Metabolite 3	7-hydroxy-parent	—	0.928	0.0760	0.343
Metabolite 2/3[1]	6-/7- hydroxy-parent	7.56	—	—	—
Metabolite 4	6-/7-oxo-parent	5.62	3.48	8.74	1.22
Metabolite 7a	Unknown	—	0.498	—	—
Metabolite 8[2]	Unknown	—	5.52	—	2.99
Metabolite 10[2]	Unknown	1.15	1.89	—	2.17
Metabolite 11[2]	Unknown	1.12	3.56	—	10.6
Metabolite 14	Unknown	—	—	—	1.26
Metabolite 16[2]	Unknown	—	—	—	2.97
Conjugates of parent					
Metabolite 5	G of parent	8.12	7.51	—	2.01
Metabolite 15	T of parent	—	0.297	1.13	2.88
Conjugates of oxidative metabolites[3]	6D, 6R, 7D, 7R, 9, 12, 13, 17	0.0686	17.0	0.337	16.2
All other metabolites	Non discrete, low level peaks	5.15	15.3	0.412	1.95

[1] Evidence of two fused chromatographic peaks in rats.
[2] Evidence of two fused chromatographic peaks in dogs.
[3] Metabolites 6D, 6R, 7D, 9, 12, and 13 are ß-glucuronide conjugates of metabolites. In rat bile, metabolite 6R is an ether ß-glucuronide of Metabolite 7R, and Metabolite 7R is a taurine conjugate of Metabolite 2/3. Metabolite 9 is a glucuronide of Metabolite 2. In dog bile, Metabolite 6D is a mixture of two di-glucuronides, which are ß-glucuronides of Metabolites 9 and 13. Metabolite 9 is an ether or acyl ß-glucuronide of Metabolite 2 and Metabolite 13 is an ether or acyl ß-glucuronide of Metabolite 17 (monohydroxy, exact position of hydroxide [OH] is not determined); Metabolites 7D and 12 are ß-glucuronides (exact correspondence of conjugate and aglycone are not determined).

—=not present; AUC_{0-7}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 7 hours post-dose; AUC_{0-30}= area under the concentration versus time curve from time 0 to 30 hours post-dose; D=metabolite found in dog only; G=β-glucuronide conjugate; R=metabolite found in rat only; T=taurine conjugate.
Source: Report 1008705, Table 4, 1008692, Table 4

6 排泄

6.1 尿、胆汁及び糞中排泄

1008705 試験、添付資料番号：4.2.2.5.1
1008692 試験、添付資料番号：4.2.2.5.2

[^{14}C]-パロバロテンを胆管カニューレ処置及び未処置ラット並びにイヌに単回経口投与したときの尿、胆汁及び糞中排泄を検討した。

胆管カニューレ未処置ラット（雄 5 匹）に[^{14}C]-パロバロテンを 2 mg/kg で投与したときの投与後 168 時間までの尿及び糞中排泄率は、投与量の 0.234%及び 101%であった。なお、投与後 24 時間までに投与量の 81%以上が尿糞中に排泄された（尿：0.137%、糞：81.2%）。胆管カニューレ処置ラット（雄 5 匹）での投与後 48 時間までの胆汁、尿及び糞中排泄率は投与量の 57.0%、0.736%及び 26.1%であった。カーカスには投与量の 10.4%が検出された。胆管カニューレ未処置及び処置ラットでの総回収率は 102%及び 94.4%であった（2.6.5.13A 項）。

胆管カニューレ未処置イヌ（雌 4 匹）に[^{14}C]-パロバロテンを 0.2 mg/kg で投与したときの投与後 168 時間までの尿及び糞中排泄率は、投与量の 0.554%及び 101%であった。なお、投与後 24 時間までに投与量の 70.4%及び 0.32%がそれぞれ糞及び尿中に排泄された。胆管カニューレ処置イヌ（雌 3 匹）では、投与後 168 時間までの胆汁、尿及び糞中排泄率は投与量の 47.8%、2.34%及び 46.7%であった。胆管カニューレ未処置及び処置イヌでの総回収率は 102%及び 97.1%であった（2.6.5.13B 項）。

ラット及びイヌともに投与された放射能の大部分は胆汁を介して糞中に排泄された。投与後 7 日目までに投与放射能すべてが回収され、大部分は投与後 24 時間までに回収された。（表 2.6.4-22）。いずれの動物種でも、尿中排泄率はわずか（3%未満）であった。

表 2.6.4-22 ラット及びイヌに[^{14}C]-パロバロテンを単回経口投与後の放射能回収率（投与量に対する%）

Report Number	**1008705**		**1008692**	
	Rats (2 mg/kg)		**Dog (0.2 mg/kg)**	
	Intact (N=5)	**Bile D-C (N=5)**	**Intact (N=4)**	**Bile D-C (N=3)**
Collection	**0-168 hours**	**0-48 hours**	**0-168 hours**	**0-168 hours**
Urine	0.234	0.736	0.554	2.34
Feces	101	26.1	101	46.7
Bile	N/A	57.0	N/A	47.8
Carcass	N/A	10.4	N/A	N/A
Total	102	94.4	102	97.1

D-C=duct-cannulated; N/A=not applicable.
Source: Report 1008705, Table 1-3, 1008692, Table 2-3

7　薬物動態学的薬物相互作用

パロバロテンが代謝酵素の基質／阻害薬／誘導薬、及び様々なトランスポーターの基質／阻害薬であるかどうかを評価するための一連の *in vitro* 試験に基づいて、パロバロテンの薬物相互作用の可能性を検討した。

7.1　CYP 阻害作用

1008423 試験、添付資料番号：4.2.2.6.1
CYP1933_05 試験、添付資料番号：4.2.2.6.2

ヒト CYP 発現系（CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4）及び各 CYP の典型的基質を用いて、パロバロテン及び 4 つの主要代謝物（代謝物は CYP3A4 のみを評価）による CYP 阻害作用を検討した（1008423 試験）。CYP2B6 についてはヒト肝ミクロソーム及び典型的基質を用いて検討した（CYP1933_05 試験）（2.6.5.15A 項）。その結果、パロバロテンの CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 に対する意味のある阻害作用はみられなかった。CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対するパロバロテンの IC_{50} 値は、それぞれ 100 µmol/L 超、55.9、4.7、8.1、7.9 及び 100 µmol/L 超であった。CYP3A4 については、パロバロテン及び 4 代謝物ともに CYP3A4 に対する IC_{50} 値は 100 µmol/L 超であった。米国食品医薬品局（FDA）の薬物相互作用ガイダンス（FDA 2020）に基づいて R（パロバロテン存在又は非存在下での曝露量比）値を算出した。

MHRD である 20 mg 投与後の血漿中濃度は 138～202 ng/mL（0.333～0.487 µmol/L）であり、予想される最大非結合型血漿中濃度（$I_{max,u,}$）は 0.010 µmol/L となる（5.3.3.5 項：PVO-PopPK-002 Final Addendum Version 2）。その結果、$I_{max,u}/Ki$ は 0.004 以下で R 値は閾値（1.02）未満であった（報告書 CLM001-PK-001）。この評価に基づくと、パロバロテンが検討した CYP 阻害を介して臨床的に重要な薬物相互作用を生じる可能性は低いと考える。

消化管の CYP3A4 についても同様に評価した。消化管容量を 250 mL と仮定したときのパロバロテン 20 mg 投与後の消化管内濃度は 193 µmol/L（80 µg/mL）となり、これが阻害薬の消化管内濃度（I_{gut}）となる。パロバロテンの CYP3A4 に対する Ki が 100 µmol/L 超であることから、I_{gut}/Ki は 3.86 未満、R 値は 4.86 未満となり、閾値（$1+I_{gut}/Ki \geqq 11$）を下回った。さらに、パロバロテンは水溶性が低く、消化管内濃度は理論濃度を下回ると予想される。37℃での摂食時人工腸液（FeSSIF）におけるパロバロテンの最大溶解度はわずか 2.4 µg/mL である（3.2.P.2.1 項）。この結果から、パロバロテンは消化管での CYP3A4 の阻害に関して臨床的に重要なリスクをもたらさないと考えられた。

7.2 UGT 阻害作用

CYP1558 R2B 試験、添付資料番号：4.2.2.6.3

UGT 発現系（UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9 及び UGT2B7）及び典型的基質を用いて、パロバロテンによる UGT 阻害試験を実施した。その結果、パロバロテンは検討したいずれの UGT 分子種に対しても意味のある阻害を示さなかった（2.6.5.15B 項）。

UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT1A9 及び UGT2B7 に対するパロバロテンの IC_{50} 値は、それぞれ 3.90、21.3、1.98、21.8、4.76 及び 20.1 µmol/L であった。FDA の薬物相互作用ガイダンス（FDA 2020）に基づいて R 値を予測した。MHRD である 20 mg 投与後の血漿中濃度は 138～202 ng/mL であり、予想される $I_{max,u}$ に基づくと（0.333～0.487 µmol/L、総非結合濃度 0.010 µmol/L、5.3.3.5 項：PVO-PopPK-002 Final Addendum Version 2）、$I_{max,u}$/Ki は 0.010 未満であり、R 値は閾値（1.02）未満であった（報告書 CLM001-PK-001）。この評価に基づくと、パロバロテンが検討した UGT 阻害を介して臨床的に重要なリスクをもたらすとは考えにくい。

7.3 CYP 誘導作用

CYP1933_03 試験、添付資料番号：4.2.2.6.4

凍結ヒト肝細胞（3 ドナー）を用いて、パロバロテンによる CYP（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP3A4）誘導作用を検討した。肝細胞に 0.003、0.01、0.03、0.1、0.32、1.0 µmol/L のパロバロテンを添加し培養した。なお、最高濃度は 1 日の MHRD である 20 mg 投与後に予想される最大非結合型濃度（0.010 µmol/L）の 100 倍に相当する。各 CYP のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）の増加率を表 2.6.4-23 及び 2.6.5.15C 項に示す。

ガイドラインでの評価法（mRNA 発現量の増加が濃度依存的であり、その増加率が溶媒対照の 2 倍以上である場合は誘導作用がある。なお、mRNA 発現量の増加が 2 倍未満であっても、陽性対照の 20%以上であれば誘導作用は否定できない。）に基づくと、パロバロテンは CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 に対する誘導作用を示さなかった。一方、CYP3A4 については 3 ドナーともに誘導作用が認められ（表 2.6.4-23）、CYP3A4 誘導作用が示唆された。そのため、臨床薬物相互作用試験が実施されたが、パロバロテンは CYP3A4 誘導剤とならないことが確認されている（2.7.2.2.2.1.5 項）。

CYP2B6 については、ドナー1 及び 3 の結果から、*in vivo* で CYP2B6 を誘導する可能性が示唆された。パロバロテンと同様に *in vitro* で CYP3A4 及び CYP2B6 誘導作用を有するいくつかの化合物では、CYP2B6 よりも CYP3A4 誘導作用の方が優位であることが報告されている（Fahmi 2016）。パロバロテンについて、*in vitro* 試験の結果から CYP3A4：CYP2B6 誘導作用の比を算出し、表 2.6.4-24 に示した。CYP3A4 誘導作用の比率は CYP2B6 誘導作用の 2 倍超であり、パロバロテンによる誘導作用は CYP2B6 で CYP3A4 よりも少ないと考えられる。なお、臨床薬物相互作用試験では、パロバロテンが CYP3A4 誘導薬となる可能性は低いことが確認されている。したがって、パロバロテンが *in vivo* で CYP2B6 を誘導する可能性はほとんどないと考える。CYP2B6 誘導作用を評価するために推奨される基質はエファビレンツ又はブプロピオンであるが、いずれ

も多代謝経路を有するため、理想的な典型基質ではない。以上のことから、CYP2B6 誘導に関する臨床薬物相互作用試験は実施しなかった（報告書 CLM001-PK-001）。

表 2.6.4-23　　パロバロテン及び典型的誘導薬による CYP 誘導作用（mRNA の変化）

		Fold mRNA increase compared to negative control			Response (%) of the positive control inducer[1]
CYP Enzyme	**Donor**	**Positive control inducer[2] (maximum)**	**Palovarotene (maximum)**	**Palovarotene (~30-fold $I_{max,u}$)[3]**	**Palovarotene (~30-fold $I_{max,u}$)[3]**
1A2	1	37.21	No induction	No induction	N/A
	2	22.2	No induction	No induction	N/A
	3	16.03	No induction	No induction	N/A
3A4	1	375.1	7.956	4.239	0.87
	2	434.3	4.493	3.788	0.64
	3	25.98	6.805	4.976	16
2B6	1	17.04	3.205	2.385	8.6
	2	11.63	1.296	1.271	2.5
	3	5.326	1.908[4]	1.908	21
2C8	1	3.278	1.433	1.093	4.1
	2	2.68	No induction	No induction	N/A
	3	2.141	No induction	No induction	N/A
2C9	1	2.143	No induction	No induction	N/A
	2	1.769	No induction	No induction	N/A
	3	1.677	No induction	No induction	N/A
2C19	1	No induction	No induction	No induction	N/A
	2	No induction	No induction	No induction	N/A
	3	No induction	No induction	No induction	N/A

[1] Response relative to positive control: percent of positive control = (mRNA fold increase of test drug treated cells – 1) x 100/ (mRNA fold increase of positive control – 1).
[2] Positive control inducer: omeprazole for CYP1A2, phenobarbital for CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 and rifampicin for CYP3A4.
[3] 0.32µmol/L.
[4] Maximum fold mRNA increase observed at Palovarotene 0.32 µmol/L.

Conc.= concentration; CYP=cytochrome P450; $I_{max,u}$= maximum unbound plasma concentration; mRNA=messenger ribonucleic acid; N/A= not applicable.
Source: Report CYP1933_03, Table 2-37

表 2.6.4-24　　パロバロテンの CYP3A4 に対する CYP2B6 誘導作用の比率

		Maximum Fold-change[1]		
CYP Enzyme	**Conc. (µmol/L)**	**Donor 1**	**Donor 2**	**Donor 3**
3A4	1	7.956	4.493	6.805
2B6	1	3.205	1.296	1.908[2]
3A4:2B6 ratio of fold induction		**2.48**	**3.47**	**3.57**

[1] maximum mRNA fold increase was observed at 1 µmol/L palovarotene (highest concentration tested).
[2] maximum mRNA fold increase was observed at 0.32 µmol/L palovarotene.
Conc.= concentration; CYP=cytochrome P450; mRNA=messenger ribonucleic acid.
Source: Report CLM001-PK-001, Table 10

7.4　トランスポーター基質

CYP1933_01 試験、添付資料番号：4.2.2.6.5

パロバロテン投与後、未変化体及び代謝物の尿中排泄は無視できるため（6.1 項及び 2.7.2.2.1.2 項）、腎臓のトランスポーターである OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する基質認識性は評価しなかった。

パロバロテンの P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 に対する基質認識性を評価するため、様々な細胞系を用いた *in vitro* 試験を実施した（2.6.5.15D 項）。

細胞をパロバロテン（1、10、50 及び 100 µmol/L、典型的阻害薬による阻害試験では 1 及び 10 µmol/L）とインキュベートした。P-gp 及び BCRP については、それぞれイヌ腎臓尿細管上皮細胞由来の細胞株（MDCK）に P-gp を発現させた MDCK-MDR1 細胞及び Caco-2 細胞を用い、頂端膜側から基底膜側への透過性及び基底膜側から頂端膜側への透過性を LC-MS/MS 法により定量し、efflux ratio を算出した。solute carrier（SLC）トランスポーターについては、各トランスポーター発現ヒト胎児腎（HEK）293 細胞及び非発現細胞へのパロバロテンの取り込みを LC-MS/MS 法により定量し、非発現系細胞に対する発現細胞での取込み比を算出した。陽性対照基質を用いて典型的阻害薬の非存在下／存在下での取り込み比を測定し、試験系の妥当性を確認した。

P-gp については 1 及び 10 µmol/L での efflux ratio が 1.1～1.9 であったが、シクロスポリン A 存在下でも 1.4～3.5 であった。BCRP については、1 及び 10 µmol/L での efflux ratio が 1.4～1.9 で fumitremorgin C 存在下でも 0.9～1.9 であった。

OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 については、非発現細胞に対する発現細胞でのパロバロテン（1 µmol/L）の取込み比は 2 分でそれぞれ 0.8、1.1 及び 1.6 であり、典型的阻害薬存在下での取込み比もそれぞれ 0.8、1.5 及び 1.1 であった。

以上のことから、パロバロテンは P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の基質ではないと考えられた。

7.5 トランスポーター阻害作用

CYP1933_02 試験、添付資料番号：4.2.2.6.6

各種細胞を用いてパロバロテンの P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、OCT1、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用を、膜ベシクルを用いて BSEP に対する阻害作用を検討した（2.6.5.15E 項）。

各トランスポーター基質の標識体を、パロバロテン（P-gp 及び BCRP：0.1、0.3、1、3、10、30 及び 100 µmol/L、SLC トランスポーター：0.01、0.03、0.1、0.3、1 及び 3 µmol/L、BSEP：0.3、1、3、10、30 及び 100 µmol/L）の非存在下及び存在下でインキュベートし、インキュベート後の放射能を LSC により測定した。P-gp 及び BCRP については、基底膜側から頂端膜側へのみかけの膜透過性を用いて、コントロールに対する輸送活性から IC_{50} 値を算出した。SLC トランスポーター及び BSEP については、コントロールでの基質の取り込みを補正した取込み活性から IC_{50} 値を算出した。典型阻害薬による阻害率から、本試験系の妥当性を確認した。

本試験の結果から、パロバロテンは P-gp、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害薬とはならないことが示唆された。一方、パロバロテンは BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び BSEP に対する阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 9.69 µmol/L、1.83 µmol/L、3 µmol/L 超、3 µmol/L 超及び 14.7 µmol/L であった。PMDA（PMDA 2019）、FDA（FDA 2020）及び欧州医薬品庁（EMA）ガイダンス（EMA 2012）に基づいて算出したパロバロテンの BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び BSEP に対する薬物相互作用のリスクの評価を表 2.6.4-25 に示す。パロバロテンは OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び BSEP に対して臨床的に重要な阻害作用をもたらさないと考えられた。パロバロテンは BCRP を介したエストロン-3-硫酸輸送を阻害し、IC_{50} 値は 9.69 µmol/L であった。最大消化管容量を 250 mL と仮定したとき、MHRD である 20 mg 投与後の I_{gut} は 193 µmol/mL（80 µg/mL）である。BCRP の IC_{50} 値である 9.69 µmol/L に基づくと、$1 + I_{gut}/IC_{50}$（R 値）は 20.92 となる（表 2.6.4-25）。$1 + I_{gut}/IC_{50}$ が閾値（$1 + I_{gut}/IC_{50} \geqq 11$）を超えていることから、BCRP を介した阻害作用について臨床評価を考慮すべきであることが示唆される。しかし、パロバロテンは溶解度が低く、実際の I_{gut} は理論値よりも低いと考えられる。37℃での FeSSIF 中のパロバロテンの最大溶解度はわずか 2.4 µg/mL であり（3.2.P.2.1 項）、この値に基づいて算出した $1 + I_{gut}/IC_{50}$ は 1.60 であり、閾値未満となる。以上のことから、パロバロテンの消化管における BCRP 阻害を介した臨床での薬物相互作用のリスクは低いと考えられた。

表 2.6.4-25　パロバロテンによる各トランスポーターを介した薬物相互作用のリスク評価

Transporter	IC_{50} (µmol/L)	R Threshold	Palovarotene R value	$R=1+I/IC_{50}$
BCRP intestinal	9.69	11	20.92	$I=I_{gut}$[1]
OATP1B1	1.83	1.1	1.058	$I=f_{u,p} \times I_{in,max}$[2]
OATP1B3	>3[3]	1.1	1.035	$I=f_{u,p} \times I_{in,max}$[2]
OCT1[4]	>3[5]	1.04	1.035	$I=f_{u,p} \times I_{in,max}$[2]
BSEP[4]	14.7	1.02	1.0007	$I=I_{max,u}$[6]

1 I_{gut} calculated as the dose/250 mL. Maximal clinical dose is 20 mg. I_{gut}=80 µg/mL or 193 µmol/L.

2 $f_{u,p}$=0.02 (Report 1008422)
$I_{in,max}$=2.33 µmol/L. It is calculated as $I_{max}+(F_aF_g \times k_a \times Dose/[Q_h/R_B])$; I_{max}=0.487 µmol/L; assuming F_aF_g=1 and k_a=0.1/min as worst-case estimate; Dose=20 mg or 48.2 µmol/Lol; Q_h=1.62 L/min; R_B=0.62 (Report 1008425).

3 41.4% inhibition at 3 µmol/L.

4 FDA/PMDA provides no guidance on how to interpret OCT1 and BSEP. The approaches taken here are consistent with EMA guideline[7].

5 25.7% inhibition at 3 µmol/L.

6 $I_{max,u}$=0.010 µmol/L.

BCRP=breast cancer resistance protein; BSEP=bile salt export pump; DDI=drug-drug interaction; EMA=European Medicines Agency; F_a=fraction absorbed; F_g=intestinal availability; $f_{u,p}$=unbound fraction in plasma; FDA=Food and Drug Administration; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; I_{gut}=intestinal luminal concentration of the interacting drug; $I_{in,max}$=estimated maximum plasma concentration at the inlet to the liver; I_{max}=maximum plasma concentration; $I_{max,u}$=maximum unbound plasma concentration; k_a=absorption rate constant; OATP=organic anion transporting polypeptide; PMDA= Pharmaceuticals and Medical Devices Agency; Q_h=hepatic blood flow rate; R=predicted ratio of the victim drug's AUC in the presence and absence of the investigational drug as the inhibitor; R_B=blood-to-plasma concentration ratio.
Source: Report CLM001-PK-001 Amendment 1, Table 20

8　その他の薬物動態試験

8.1　ラットでの代謝物 13 週間反復経口投与毒性試験

1013099 試験、添付資料番号：4.2.3.7.5.2

Wistar ラット（雌雄各 3 匹）に M2 及び M3 をそれぞれ 0.3、1.0 及び 3.0 mg/kg（1:1 の混合剤として併用投与）で 1 日 1 回 13 週間反復経口投与したときの M2、M3、M4a 及び M4b の TK を評価した。M2 及び M3 を微紛化し、投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。Day 0 及び 91 の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に血液試料を採取した。血漿中 M2、M3、M4a 及び M4b 濃度は LC-MS/MS 法（1013104 試験）で測定した。ラットに M2 及び M3（1:1 混合剤）を 13 週間反復経口投与したときの TK パラメータを表 2.6.4-26 及び 2.6.5.16A 項に示す。

ラットに M2 及び M3（1:1 混合剤）を 3.0 mg/kg/日まで投与した結果、M2、M3、M4a 及び M4b の 4 種類の代謝物の全身曝露量は、いずれも用量依存的に増加し、概ね用量比例性を示した。また、反復投与による蓄積性は認められなかった。M2 及び M4a の曝露量に性差はみられなかったが、M3 及び M4b では雌で雄より曝露が高かった。

表 2.6.4-26　ラット代謝物 13 週間反復経口投与毒性試験での TK パラメータ（平均値）（1013009 試験）

	M2	M3	M4a	M4b	M2	M3	M4a	M4b
Males	**0.3 mg/kg/day – Day 0[1]**				**0.3 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	10.1	15.8	4.03	7.82	4.83	6.82	4.31	4.15
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	43.3	44.0	38.0	34.5	39.8	39.8	56.8	37.1
	1.0 mg/kg/day – Day 0[1]				**1.0 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	13.9	20.1	12.1	16.9	13.6	19.8	16.4	20.1
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	157	172	156	136	104	107	205	144
	3.0 mg/kg/day – Day 0[1]				**3.0 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	48.0	96.5	27.5	48.6	44.5	78.6	33.4	43.9
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	349	476	441	533	210	279	389	380
	M2	**M3**	**M4a**	**M4b**	**M2**	**M3**	**M4a**	**M4b**
Females	**0.3 mg/kg/day – Day 0[1]**				**0.3 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	10.6	17.8	2.47	8.89	7.85	12.2	3.50	8.48
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	59.7	89.8	42.0	102	57.6	75.9	60.8	101
	1.0 mg/kg/day – Day 0[1]				**1.0 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	32.8	62.3	8.96	31.6	21.0	34.6	13.5	29.0
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	191	285	139	262	162	223	216	405
	3.0 mg/kg/day – Day 0[1]				**3.0 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	73.9	152	21.8	61.3	38.6	72.6	36.6	69.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	556	1040	389	878	411	663	471	985

[1] Day 0 was the first day of dosing.
AUC_{0-24}=area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene.
Source: Report 1013009, Tabulate Summary

8.2　イヌでの代謝物 13 週間反復経口投与毒性試験

1011046 試験、添付資料番号：4.2.3.7.5.4

ビーグル犬（雌雄各 6 匹）に M2 及び M3 をそれぞれ 0.05、0.15 及び 0.5 mg/kg（1:1 の混合剤として併用投与）で 1 日 1 回 13 週間反復経口投与したときの TK を評価した。M2 及び M3 を微紛化し、投与媒体には 0.01%BHA 及び 0.01%BHT を含むミグリオール 812 を用いた。Day 0、28 及び 91 の投与前並びに投与 0.25、0.5、1、2、4、8、12 及び 24 時間後に血液試料を採取した。血漿中 M2、M3、M4a 及び M4b 濃度は LC-MS/MS 法（1013105 試験、1012575 試験に記載され

ている Method No.MS-93）で測定した。イヌに M2 及び M3（1:1 混合剤）を 13 週間反復経口投与したときの TK パラメータを表 2.6.4-27 及び 2.6.5.16B 項に示す。

イヌに M2 及び M3（1:1 混合剤）を 0.5 mg/kg/day まで投与した結果、M2、M3、M4a 及び M4b の 4 種類の代謝物の全身曝露量は、概して用量比例的に増加した。曝露量に性差はみられず、代謝物の一貫した蓄積性は認められなかった。

表 2.6.4-27　　イヌ代謝物 13 週間反復経口投与毒性試験での TK パラメータ（平均値）（1011046 試験）

	M2	M3	M4a	M4b	M2	M3	M4a	M4b	M2	M3	M4a	M4b
Males	**0.05 mg/kg/day – Day 0[1]**				**0.05 mg/kg/day – Day 28**				**0.05 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	12.1	21.3	3.83	3.78	12.8	21.3	6.13	4.84	12.1	15.7	5.84	3.98
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	91.8	146	57.4	55.0	127	174	98.8	70.3	88.5	101	72.5	49.2
	0.15 mg/kg/day – Day 0[1]				**0.15 mg/kg/day – Day 28**				**0.15 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	27.2	63.9	11.3	13.2	35.4	59.5	19.3	19.1	43.1	71.4	20.1	18.3
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	299	494	198	193	355	470	275	216	520	690	381	283
	0.5 mg/kg/day – Day 0[1]				**0.5 mg/kg/day – Day 28**				**0.5 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	141	255	42.2	56.7	67.6	140	40.2	41.0	115	193	57.6	50.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1330	2090	666	774	1020	1510	768	705	1340	1770	1020	813
	M2	**M3**	**M4a**	**M4b**	**M2**	**M3**	**M4a**	**M4b**	**M2**	**M3**	**M4a**	**M4b**
Females	**0.05 mg/kg/day – Day 0[1]**				**0.05 mg/kg/day – Day 28**				**0.05 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	12.4	22.0	5.00	4.65	9.77	17.1	6.63	4.54	7.23	12.6	5.47	4.19
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	84.0	135	63.3	56.8	103	146	91.3	63.7	88.3	116	73.7	56.6
	0.15 mg/kg/day – Day 0[1]				**0.15 mg/kg/day – Day 28**				**0.15 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	36.1	76.5	12.6	17.3	30.2	59.4	17.5	15.6	47.3	74.7	28.9	21.0
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	318	552	197	200	316	467	252	203	497	670	451	312
	0.5 mg/kg/day – Day 0[1]				**0.5 mg/kg/day – Day 28**				**0.5 mg/kg/day – Day 91**			
C_{max} (ng/mL)	128	238	61.2	76.8	75.6	152	49.2	51.3	98.7	175	80.9	60.5
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1110	1950	683	800	754	1320	765	738	961	1420	1200	901

[1] Day 0 was the first day of dosing.
AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; C_{max}=maximum plasma concentration; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene.
Source: Report 1011046, Tabulated Summary

9　考察及び結論

パロバロテンの薬物動態を特徴付けるために、さまざまな動物種での *in vitro* 及び *in vivo* 非臨床薬物動態試験を実施した。

パロバロテン単回静脈内投与後の CL は、イヌで低く、マウス、ラット及びサルでは中程度であった。また、パロバロテンの Vd_{ss} はイヌでは小さく、マウス、ラット及びサルで大きかった。パロバロテンは単回経口投与後、マウス及びラットでは速やかに吸収され、イヌ及びサルでの吸収は遅かった。非絶食下でのパロバロテン単回経口投与後の F は、イヌで高く、マウス及びラットで中程度、サルで低かった。サルを除くいずれの動物種においても、パロバロテンの $AUC_{0\text{-last}}$ 及び C_{max} はほぼ用量比例的に増加した。サルでは消化管吸収が低いため、曝露量の増加は用量の増加比を下回ったと考えられる。いずれの動物種でもパロバロテンの薬物動態に対する食事の影響はみられなかった。

ラット、ウサギ及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験での TK 試験の結果、パロバロテン及びその代謝物の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は用量比例的に増加した。パロバロテンの曝露量は、ラットでは雌で雄よりやや高かったが、ウサギ及びイヌでは性差はみられなかった。ウサギでは代謝物の曝露量は雌で雄より高かった。ラット 26 週間及びイヌ 39 週間反復経口投与毒性試験では、反復投与によるパロバロテンの蓄積性及び酵素誘導はみられなかった。幼若ラット 6 週間反復経口投与毒性試験では、曝露量は用量依存的に増加し、Day 1 では用量比例性を示したが、Day 42 では用量比例性を下回った。幼若ラットでの曝露量は反復投与によりいずれの用量でも低下したが、この要因が、酵素誘導の影響によるものか、代謝酵素活性が幼若ラットで成熟ラットより高かったことによるものか、又はその両方によるものかは不明である。

[^{14}C]-パロバロテンを用いたラットの組織内分布試験では、緩徐ではあるが広範な組織分布が示され、副腎、肝臓、小腸及び盲腸で最も高い放射能が検出された。最終投与 96 時間後には、副腎での放射能を除き、いずれの組織でも放射能は LLOQ 未満となった。有色ラットと白色ラットの組織内分布は類似しており、メラニン含有組織への選択的な結合もみられなかった。パロバロテンのマウス、ラット、イヌ、サル及びヒト血漿中タンパク結合率は高かった（97.5%～99.0%）。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトでのパロバロテンの血液／血漿中濃度比は 0.52～0.63 であり、パロバロテンは赤血球に分配されないことが示された。

マウス、ラット、イヌ、サル、ヒト肝ミクロソームとパロバロテンとのインキュベートで得られた代謝プロファイルは、質的には類似しているが、量的には種差がみられた。主要代謝物は M2、M3、M4a 及び M4b であった。また、凍結肝細胞とのインキュベーションでは M5 が検出された。なお、ヒト特有の代謝物は検出されなかった。これらの結果から、パロバロテン及びその代謝物はさらにグルクロン酸抱合体に代謝され、胆汁排泄されると考えられた。

ラット、イヌ及びウサギで検出された代謝物は同様であったが、M2、M3、M4a 及び M4b の曝露量の未変化体に対する曝露量比は、ラット及びイヌでは小さかったが、ウサギでは大きかった。ラット、ウサギ及びイヌにパロバロテンを反復投与したときの、M2、M3、M4a 及び M4b の曝露量の増加は用量比例性を示し、ラット及びイヌでは顕著な蓄積性は認められなかったが、ウサギでは 4 代謝物、特に M4a 及び M4b で蓄積性が認められた。

ラット及びイヌに[^{14}C]-パロバロテンを単回経口投与したとき、放射能の大部分は胆汁を介して糞中から排泄された。いずれの動物種でも、尿中への排泄は投与量のごく一部（3%未満）であったことから、パロバロテンの消失過程における腎排泄の寄与は少ないと考えられた。

パロバロテンの代謝に関与する主な酵素は CYP3A4 であった。パロバロテンの代謝がケトコナゾールにより競合的に阻害されたことから、CYP3A4 の強力な阻害薬又は誘導薬との併用によってパロバロテンの消失が影響を受けることが示唆された。一方、パロバロテン及び M1～M4 の CYP3A4 に対する IC_{50} 値は 100 µmol/L 超であったことから、パロバロテンは CYP3A4 の基質となる薬剤を阻害しないと考えられた。なお、パロバロテンは CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 を阻害しなかった。

パロバロテンは CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 の誘導薬ではなかったが、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用を示した。*In vitro* 試験の結果を基に CYP3A4 及び CYP3B6 の誘導作用に対する寄与を評価した結果、パロバロテンによる誘導作用は CYP3A4 で CYP2B6 よりも高いことが示されため、CYP3A4 誘導作用に関する臨床薬物相互作用試験が実施された。詳細は 2.7.2.2.2.1.5 項に示す。

パロバロテンは主要な UGT に対する感受性の高い基質ではなく、これらの酵素の阻害に関しても臨床に関連するリスクをもたらさないと考えられた。

パロバロテンは、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の基質ではなかった。パロバロテンは主に胆汁を介して排泄されるため、腎トランスポーター（OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K）に関する検討は実施しなかった。

検討したトランスポーターのうち、パロバロテンが BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1 及び BSEP を阻害することが示唆されたため、薬物相互作用のリスク評価を行ったが、パロバロテンとこれらトランスポーターとの併用により臨床的に意味のある薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

ラット及びイヌに M2 と M3 の混合物を 13 週間反復経口投与したとき、4 代謝物の曝露量はいずれも用量比例的に増加した。ラット及びイヌともに一貫した蓄積性は認められなかった。

一連の非臨床薬物動態試験から、パロバロテン投与後の吸収、分布、代謝、排泄及び薬物相互作用の可能性を評価することができた。これらの結果はパロバロテンの臨床使用において有用な情報となると考える。

10 図表

本文中に記載した。

参考文献

European Medicines Agency (EMA), Committee for Human Medicinal Products (CHMP). Guideline on the Investigation of Drug Interactions. June 21 2012.

Fahmi OA, Shebley M, Palamanda J, Sinz MW, Ramsden D, Einolf HJ, et al. Evaluation of CYP2B6 Induction and Prediction of Clinical Drug-Drug Interactions: Considerations from the IQ Consortium Induction Working Group-An Industry Perspective. Drug Metab Dispos. 2016;44(10):1720-30.

Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation Research (CDER). Guidance for Industry: In Vitro Drug Interaction Studies - Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions. January 2020.

Kaplan FS, Pignolo RJ, Al Mukaddam M, Shore EM. Genetic Disorders of Heterotopic Ossification: Fibrodysplasia Ossificans Progressiva and Progressive Osseous Heteroplasia. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 9th edition.2018.865-70.

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA). Guideline on Drug Interaction for Drug Development and Appropriate Provision of Information. February, 2019.

目次

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 2
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 7
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 22
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 30
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 58
2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合 68
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 70
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 71
2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 72
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 76
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 83
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 84
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 85
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 91
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 92
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 99

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

Test Article: Palovarotene

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	Location in CTD
Absorption after a single dose					
Single-dose bioavailability and dose proportionality	Mouse	IV, oral gavage	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1008704	Module 4.2.2.2.1
Single- dose bioavailability and dose proportionality	Rat	IV, oral gavage	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1008700	Module 4.2.2.2.2
Single- dose bioavailability and dose proportionality	Dog	IV, oral gavage (capsule)	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1008701	Module 4.2.2.2.3
Single-dose bioavailability and dose proportionality	Monkey	IV, oral gavage	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1009007	Module 4.2.2.2.4
Absorption after repeated dose					
5-day repeated-dose	Rat	Oral gavage	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1008700	Module 4.2.2.2.2
4-week oral toxicity study	Rat	Oral gavage	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1007062[1]	Module 4.2.3.2.2
26-week oral toxicity study	Rat	Oral gavage	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1009627[1]	Module 4.2.3.2.3
26-week oral toxicity study	Rat	Oral gavage	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1013603[1]	Module 4.2.3.2.4
4-week oral toxicity study	Rabbit	Oral gavage	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1020320[1]	Module 4.2.3.2.6

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Palovarotene, [^{14}C]-Palovarotene

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	Location in CTD
Absorption after a repeated dose					
5-day repeated-dose	Dog	Oral gavage (capsule)	[redacted], USA	1008701	Module 4.2.2.2.3
4-week oral toxicity study	Dog	Oral gavage (capsule)	[redacted], USA	1009512[1]	Module 4.2.3.2.9
39-week oral toxicity study	Dog	Oral gavage (capsule)	[redacted], USA	1009654[1]	Module 4.2.3.2.10
39-week oral toxicity study	Dog	Oral gavage	[redacted], USA	1013980[1]	Module 4.2.3.2.11
In vivo micronucleus	Mouse	Oral gavage	[redacted], Switzerland	1002682[1]	Module 4.2.3.3.2.1
6-week oral toxicity study	Juvenile Rat	Oral gavage	[redacted], Canada	6700132[1]	Module 4.2.3.5.4.2
Embryofetal development study	Rat	Oral gavage	[redacted], Switzerland	1003177[1]	Module 4.2.3.5.2.3
Distribution					
Five-day multiple-dose tissue distribution	Rat	Oral gavage	[redacted], UK	1007312[1] CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270	Module 4.2.2.3.1 Module 4.2.2.3.2
Plasma protein binding	Mouse, rat, dog, monkey, human plasma	*In vitro*	[redacted], USA	1008422	Module 4.2.2.3.3
Blood-to-plasma distribution	Mouse, rat, dog, monkey, human blood and plasma	*In vitro*	[redacted], USA	1008425	Module 4.2.2.3.4

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Palovarotene, [^{14}C]-Palovarotene

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	Location in CTD
Metabolism					
In vivo metabolic profile	Intact male rat Bile-duct-cannulated male rat	Oral gavage	[redacted], USA	1008705	Module 4.2.2.5.1
In vivo metabolic profile	Intact female dog Bile-duct-cannulated female dog	Oral gavage (capsule)	[redacted], USA	1008692	Module 4.2.2.5.2
In vitro metabolic profile	Hepatic microsomal proteins (mouse, rat, dog, monkey, human) and cryopreserved hepatocytes (rat, dog, monkey, human)	*In vitro*	[redacted], USA	1008691	Module 4.2.2.4.1
CYP substrate	Human liver microsome, Human recombinant CYP1A2, 3A4, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6	*In vitro*	[redacted], USA	1008690	Module 4.2.2.4.2
CYP2B6 substrate	Human recombinant CYP2B6	*In vitro*	[redacted], USA	CYP1933_04	Module 4.2.2.4.3
UGT substrate	Human recombinant UGT1A1, 1A3, 1A4, 1A6, 1A9, 2B7, 2B15	*In vitro*	[redacted], USA	CYP1558 R2A	Module 4.2.2.4.4
Excretion					
Urinary and biliary/fecal	Intact male rat Bile-duct-cannulated male rat	Oral gavage	[redacted], USA	1008705	Module 4.2.2.5.1
Urinary and biliary/fecal	Intact female dog Bile-duct-cannulated female dog	Oral gavage (capsule)	[redacted], USA	1008692	Module 4.2.2.5.2

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: Palovarotene

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	Location in CTD
Pharmacokinetic drug interactions					
Enzyme inhibition	Human recombinant CYP1A2, 3A4, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6	*In vitro*	[redacted], USA	1008423	Module 4.2.2.6.1
Enzyme inhibition	Human liver microsome	*In vitro*	[redacted], USA	CYP1933_05	Module 4.2.2.6.2
Enzyme inhibition	Recombinant UGT1A1, 1A3, 1A4, 1A6, 1A9, 2B7	*In vitro*	[redacted], USA	CYP1558 R2B	Module 4.2.2.6.3
Enzyme induction	Cryopreserved human hepatocytes	*In vitro*	[redacted], USA	CYP1933_03	Module 4.2.2.6.4
Transporter substrate	MDCK-MDR1 cells (P-gp), Caco-2 cells (BCRP), Transporter expressing HEK293 cells (OATP1B1, OATP1B3, OCT1)	*In vitro*	[redacted], UK	CYP1933_01	Module 4.2.2.6.5
Transporter inhibition	MDCK-MDR1 cells (P-gp), Caco-2 cells (BCRP), Transporter expressing HEK293 cells (OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, OCT1, MATE1, MATE2-K) Human membrane vesicles (BSEP)	*In vitro*	[redacted], UK	CYP1933_02	Module 4.2.2.6.6
Drug interaction assessment	NA	NA	IPSEN INNOVATION S.A.S, Les Ulis, France	CLM001-PK-001 and Amendment 1	Module 4.2.2.6.7

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表（続き）

Test Article: M2, M3

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number	Location in CTD
Other Pharmacokinetic studies					
13-week metabolite oral toxicity study	Rat	Oral gavage	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1013099[1]	Module 4.2.3.7.5.2
13-week metabolite oral toxicity study	Dog	Oral gavage (capsule)	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1011046[1]	Module 4.2.3.7.5.4

[1] Report contains a GLP Compliance Statement.

^{14}C=carbon-14; BCRP=breast cancer resistance protein; BSEP=bile salt export pump; CTD=common technical document; CYP=cytochrome P450; GLP=Good Laboratory Practice; HEK293=human embryonic kidney 293; IV=intravenous; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; MATE=multidrug and toxin extrusion; MDCK=Madin-Darby canine kidney cell; MDR1=multidrug resistance protein 1; NA=not applicable; OAT=organic anion transporter; OATP=organic anion transporting polypeptide; OCT=organic cation transporter; P-gp=P-glycoprotein; UGT=uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2A マウス血漿中濃度

Study Title: An LC/MS/MS Method for the Determination of Ro330-0074/000 in Mouse Lithium Heparin Plasma Samples

Test Article: Palovarotene **Report No. 1007334** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.1**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (% Nominal)
Mouse	Plasma (lithium heparin)	Palovarotene (^{13}C, d_4-Palovarotene)	LC-MS/MS Weight: 1/X	Protein precipitation	Calibration range	0.500 - 250	≥ 0.9998	NA	97.8 to 102
					Intra-day	0.500	NA	10.3	NR
						1.00, 25.0, 200	NA	1.65 to 7.45	NR
					Inter-day	0.500	NA	NS	95.6
						1.00, 25.0, 200	NA	0.777 to 4.93	88.5 to 94.0
					Mean recovery (IS)	1.00, 25.0, 200	55.5% (62.7%)		
					Bench top stability	1.00, 200	At least 4 hrs at RT and approximately 4°C		
					Processed sample stability	1.00, 200	At least 17 days at RT		
					Long-term stability	1.00, 200	At least 51 days at approximately −20°C		
					Freeze-Thaw stability	1.00, 200	3 cycles		

CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IS=internal standard; NA=not applicable; No.=number; NS=not significant; NR=not reported; R^2=coefficient of determination; Ro330-0074/000=palovarotene; RT=room temperature.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2B ラット血漿中濃度

Study Title: Validation of a Method for the Determination of Palovarotene in Rat Plasma (Lithium Heparin) by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

Test Article: Palovarotene **Report No. 1000462** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.2**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (%Bias)
Rat	Plasma (lithium heparin)	Palovarotene ($^{13}C_6$-Palovarotene)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Protein precipitation	Calibration range	0.100 - 100	≥ 0.9958	NA	NA
					Intra-day	0.100	NA	2.7 to 6.7	−12.1 to −1.5
						0.300, 20.0, 85.0	NA	1.0 to 4.6	−1.5 to 2.6
					Inter-day	0.100	NA	6.5	−7.5
						0.300, 20.0, 85.0	NA	2.8 to 3.5	−0.5 to 1.4
					Bench top stability	0.300, 85.0	At least 27 hrs at RT		
					Processed sample stability	0.300, 20.0, 85.0	At least 7 days at 4°C		
					Freeze-Thaw stability	0.300, 85.0	3 cycles		
					Long-term stability	0.300, 85.0	At least 80 days at −80°C		
					Dilution integrity	2000	100-folds		
					2% Haemolyzed QC	0.300, 85.0	NA	4.0 to 5.1	−4.0

CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IS=internal standard; NA=not applicable; No.=number; QC=quality control; R^2=coefficient of determination; RT=room temperature.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2C ラット血漿中濃度

Study Title: An LC/MS/MS Method for the Determination of Ro330-0074/000 in Rat Lithium Heparin Plasma Samples

Test Article: Palovarotene **Report No. 1007335** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.3**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (% Nominal)
Rat	Plasma (lithium heparin)	Palovarotene (^{13}C, d_4-Palovarotene)	LC-MS/MS Weight: 1/X	Protein precipitation	Calibration range	0.500 - 250	≥ 0.9998	NA	99.2 to 103
					Intra-day	0.500	NA	4.29	NR
						1.00, 25.0, 200	NA	1.34 to 3.38	NR
					Inter-day	0.500	NA	2.63	102
						1.00, 25.0, 200	NA	≤ 1.18	96.8 to 101
					Mean recovery (IS)	1.00, 25.0, 200	78.7% (82.8%)		
					Bench top stability	1.00, 200	At least 4 hrs at RT and 4°C		
					Long-term stability	1.00, 200	At least 56 days at −20°C		
					Processed sample stability	1.00, 200	At least 12 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	1.00, 200	3 cycles		

CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IS=internal standard; NA=not applicable; No.=number; NR=not reported; R^2=coefficient of determination; Ro330-0074/000=palovarotene; RT=room temperature.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2D ラット血漿中濃度

Study Title: An LC/MS/MS Method for the Determination of Ro330-0074/000 in Hanover Wistar Rat Lithium Heparin Plasma Samples

Test Article: Palovarotene **Report No. 1007336** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.4**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (% Nominal)
Rat	Plasma (lithium heparin)	Palovarotene ($^{13}C_4$-Palovarotene)	LC-MS/MS Weight: 1/X	Solid phase extraction	Calibration range	0.0200 - 5.00	≥ 0.9994	NA	87.0 to 110
					Intra-day	0.0200	NA	11.7	NR
						0.0500, 0.500, 4.00	NA	2.11 to 3.90	NR
					Inter-day	0.0200	NA	6.00	95.0
						0.0500, 0.500, 4.00	NA	3.22 to 4.00	98.4 to 104
					Mean recovery (IS)	0.0500, 0.500, 4.00	72.4% (70.3%)		
					Bench top stability	0.0500, 4.00	At least 4 hrs at RT and 4°C		
					Long-term stability	0.0500, 4.00	At least 6 months at −20°C		
					Processed sample stability	0.0500, 4.00	At least 7 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.0500, 4.00	3 cycles		

CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IS=internal standard; NA=not applicable; No.=number; NR=not reported; R^2=coefficient of determination; Ro330-0074/000=palovarotene; RT=room temperature.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2E ラット血漿中濃度

Study Title: Partial Validation Report for Analysis of RO3300074-000 and Metabolites in Rat Plasma ([redacted])

Test Article: Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b **Report No. 1013104** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.5**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (%Nominal)
Rat	Plasma (lithium heparin)	Palovarotene (^{13}C, $^{2}H_4$-Palovarotene)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.05 - 10.0	≥ 0.9960	NA	NA
					Intra-day	0.15, 5, 7.5	NA	0.4 to 3.1	97.4 to 108.7
					Inter-day	0.15, 5, 7.5	NA	3.0 to 4.5	99.2 to 105.9
					Recovery (IS)	0.03, 1.0, 1.5	21.9% - 22.8% (19.3% - 20.3%)		
					Bench top stability	0.15, 7.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.15, 5, 7.5	At least 5 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.15, 7.5	3 cycles		
					Dilution integrity	125	20-folds		
		M2 (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_5$-RO3304835)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.05 - 10.0	≥ 0.9978	NA	NA
					Intra-day	0.15, 5, 7.5	NA	0.7 to 1.5	101.1 to 108.1
					Inter-day	0.15, 5, 7.5	NA	1.2 to 3.0	101.9 to 107.2
					Recovery (IS)	0.03, 1.0, 1.5	36.9% - 38.9% (43.6% - 45.9%)		
					Bench top stability	0.15, 7.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.15, 5, 7.5	At least 5 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.15, 7.5	3 cycles		
					Dilution integrity	125	20-folds		

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2E ラット血漿中濃度（続き）

Study Title: Partial Validation Report for Analysis of RO3300074-000 and Metabolites in Rat Plasma ([redacted])

Test Article: Palovarotene **Report No. 1013104** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.5**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (% Nominal)
Rat	Plasma (lithium heparin)	M3 (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_5$-RO3305210)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.05 - 10.0	≥ 0.9975	NA	NA
					Intra-day	0.15, 5, 7.5	NA	0.6 to 1.6	97.5 to 108.7
					Inter-day	0.15, 5, 7.5	NA	1.7 to 2.2	98.6 to 107.0
					Recovery (IS)	0.03, 1.0, 1.5	34.9% - 37.3% (41.9% - 43.8%)		
					Bench top stability	0.15, 7.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.15, 5, 7.5	At least 5 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.15, 7.5	3 cycles		
					Dilution integrity	125	20-folds		
		M4a (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_5$-RO3304974)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.05 - 10.0	≥ 0.9975	NA	NA
					Intra-day	0.15, 5, 7.5	NA	0.4 to 3.4	97.5 to 111.8
					Inter-day	0.15, 5, 7.5	NA	2.4 to 4.1	99.0 to 109.0
					Recovery (IS)	0.03, 1.0, 1.5	17.7% - 19.6% (19.5% - 20.9%)		
					Bench top stability	0.15, 7.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.15, 5, 7.5	At least 5 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.15, 7.5	3 cycles		
					Dilution integrity	125	20-folds		

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2E ラット血漿中濃度（続き）

Study Title: Partial Validation Report for Analysis of RO3300074-000 and Metabolites in Rat Plasma ([redacted])

Test Article: Palovarotene			**Report No. 1013104**			**Location in CTD: Module 4.2.2.1.5**			
Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (% Nominal)
Rat	Plasma (lithium heparin)	M4b (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_4$-RO3305659)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.05 - 10.0	≥ 0.9971	NA	NA
					Intra-day	0.15, 5, 7.5	NA	0.6 to 5.9	99.8 to 110.2
					Inter-day	0.15, 5, 7.5	NA	3.0 to 4.9	101.7 to 107.4
					Recovery (IS)	0.03, 1.0, 1.5	56.5% - 61.3% (58.1% - 65.4%)		
					Bench top stability	0.15, 7.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.15, 5, 7.5	At least 5 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.15, 7.5	3 cycles		
					Dilution integrity	125	20-folds		

CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IS=internal standard; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3304835); M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3305210); M4a=6-oxo metabolite of palovarotene (RO3304974); M4b=7-oxo metabolite of palovarotene (RO3305659); NA=not applicable; No.=number; R^2=coefficient of determination; RO3300074-000=palovarotene; RT=room temperature.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2F ウサギ血漿中濃度

Study Title: Partial Validation Report for Analysis of RO3300074 and Metabolites in Rabbit Plasma (Study 09137)

Test Article: Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b **Report No. 1019321** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.6**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (%Nominal)
Rabbit	Plasma (lithium heparin)	Palovarotene (^{13}C, $^{2}H_4$-Palovarotene)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.05 - 10	≥ 0.9914	NA	NA
					Intra-day	0.05	0.05	3.6	96.7
						0.15, 5, 7.5	NA	1.7 to 13.0	98.7 to 111.1
					Inter-day	0.15, 5, 7.5	NA	4.3 to 10.7	100.4 to 107.6
					Bench top stability	0.15, 5, 7.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.15, 5, 7.5	At least 132 hrs at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.15, 5, 7.5	4 cycles		
					Long-term stability	0.15, 5, 7.5	At least 30 days at -70°C		
					Dilution integrity	125	20-folds		
		M2 (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_5$-RO3304835)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.05 - 10	≥ 0.9949	NA	NA
					Intra-day	0.05	NA	3.3	100.4
						0.15, 5, 7.5	NA	0.6 to 6.3	96.9 to 105.4
					Inter-day	0.15, 5, 7.5	NA	3.2 to 4.9	98.4 to 102.9
					Bench top stability	0.15, 5, 7.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.15, 5, 7.5	At least 132 hrs at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.15, 5, 7.5	3 cycles		
					Long-term stability	0.15, 5, 7.5	At least 30 days at −70°C		
					Dilution integrity	125	20-folds		

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2F ウサギ血漿中濃度（続き）

Study Title: Partial Validation Report for Analysis of RO3300074 and Metabolites in Rabbit Plasma (Study 09137)

Test Article: Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b **Report No. 1019321** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.6**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (% Nominal)
Rabbit	Plasma (lithium heparin)	M3 (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_5$-RO3305210)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.05 - 10	≥ 0.9930	NA	NA
					Intra-day	0.05	NA	2.6	109.1
						0.15, 5, 7.5	NA	1.1 to 6.3	95.5 to 108.2
					Inter-day	0.15, 5, 7.5	NA	4.2 to 6.8	98.8 to 102.4
					Bench top stability	0.15, 5, 7.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.15, 5, 7.5	At least 132 hrs at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.15, 5, 7.5	3 cycles		
					Long-term stability	0.15, 5, 7.5	At least 30 days at −70°C		
					Dilution integrity	125	20-folds		
		M4a (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_5$-RO3304974)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.05 - 10	≥ 0.9922	NA	NA
					Intra-day	0.05	NA	5.8	115.5
						0.15, 5, 7.5	NA	1.4 to 8.3	93.2 to 111.4
					Inter-day	0.15, 5, 7.5	NA	5.9 to 8.2	100.2 to 105.1
					Bench top stability	0.15, 5, 7.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.15, 5, 7.5	At least 132 hrs at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.15, 5, 7.5	4 cycles		
					Long-term stability	0.15, 5, 7.5	At least 30 days at −70°C		
					Dilution integrity	125	20-folds		

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2F ウサギ血漿中濃度（続き）

Study Title: Partial Validation Report for Analysis of RO3300074 and Metabolites in Rabbit Plasma (Study 09137)

Test Article: Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b **Report No. 1019321** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.6**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (% Nominal)
Rabbit	Plasma (lithium heparin)	M4b (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_4$-RO3305659)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.05 - 10	≥ 0.9934	NA	NA
					Intra-day	0.05	NA	4.3	110.4
						0.15, 5, 7.5	NA	1.8 to 9.2	96.0 to 110.8
					Inter-day	0.15, 5, 7.5	NA	5.8 to 7.6	101.0 to 102.8
					Bench top stability	0.15, 5, 7.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.15, 5, 7.5	At least 132 hrs at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.15, 5, 7.5	4 cycles		
					Long-term stability	0.15, 5, 7.5	At least 30 days at −70°C		
					Dilution integrity	125	20-folds		

CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IS=internal standard; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3304835); M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3305210); M4a=6-oxo metabolite of palovarotene (RO3304974); M4b=7-oxo metabolite of palovarotene (RO3305659); NA=not applicable; No.=number; R^2=coefficient of determination; RO3300074=palovarotene; RT=room temperature.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2G イヌ血漿中濃度

Study Title: An LC/MS/MS Method for the Determination of Ro330-0074/000 in Dog Lithium Heparin Plasma Samples

Test Article: Palovarotene **Report No. 1007340** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.7**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (%Nominal)
Dog	Plasma (lithium heparin)	Palovarotene (^{13}C, d_4-Palovarotene)	LC-MS/MS Weight: 1/X	Protein precipitation	Calibration range	0.500 - 250	≥ 0.9998	NA	NA
					Intra-day	0.500	NA	4.74	NR
						1.00, 25.0, 200	NA	1.22 to 3.91	NR
					Inter-day	0.500	NA	8.70	103
						1.00, 25.0, 200	NA	≤ 2.27	97.2 to 98.5
					Recovery (IS)	1.00, 25.0, 200	68.0% (68.8%)		
					Bench top stability	1.00, 200	At least 4 hrs at RT and 4°C		
					Long-term stability	1.00, 200	At least 122 days at −20°C		
					Processed sample stability	1.00, 200	At least 6 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	1.00, 200	3 cycles		

CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IS=internal standard; NA=not applicable; No.=number; NR=not reported; R^2=coefficient of determination; Ro330-0074/000=palovarotene; RT=room temperature.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2H イヌ血漿中濃度

Study Title: An LC/MS/MS Method for the Determination of Ro330-0074/000 in Beagle Dog Lithium Heparin Plasma Samples

Test Article: Palovarotene **Report No. 1007339** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.8**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (%Nominal)
Dog	Plasma (lithium heparin)	Palovarotene (^{13}C, d_4-Palovarotene)	LC-MS/MS Weight: 1/X	Solid phase extraction	Calibration range	0.0200 - 5.00	≥ 0.9992	NA	NA
					Intra-day	0.0200	NA	8.43	NR
						0.0500, 0.500, 4.00	NA	1.40 to 3.26	NR
					Inter-day	0.0200	NA	NS	89.0
						0.0500, 0.500, 4.00	NA	0.901 to 10.7	97.4 to 103
					Recovery (IS)	0.0500, 0.500, 4.00	67.0% (63.7%)		
					Bench top stability	0.0500, 4.00	At least 4 hrs at RT and 4°C		
					Long-term stability	0.0500, 4.00	At least 6 months at −20°C		
					Processed sample stability	0.0500, 4.00	At least 7 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.0500, 4.00	3 cycles		

CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IS=internal standard; NA=not applicable; No.=number; NS=not significant; NR=not reported; R^2=coefficient of determination; Ro330-0074/000=palovarotene; RT=room temperature.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2l イヌ血漿中濃度

Study Title: Partial Validation Report for Analysis of RO3300074-000 and Metabolites in Dog Plasma ([redacted])

Test Article: Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b **Report No. 1013105** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.9**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (% Nominal)
Dog	Plasma (lithium heparin)	Palovarotene (^{13}C, $^{2}H_4$-Palovarotene)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.01 - 2.0	≥ 0.9890	NA	NA
					Intra-day	0.03, 1.0, 1.5	NA	1.9 to 9.9	90.4 to 101.0
					Inter-day	0.03, 1.0, 1.5	NA	2.5 to 5.6	95.2 to 100.7
					Recovery (IS)	0.03, 1.0, 1.5	9.1% - 10.8% (7.8% - 9.2%)		
					Bench top stability	0.03, 1.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.03, 1.0, 1.5	At least 7 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.03, 1.5	3 cycles		
					Dilution integrity	25.0	20-folds		
		M2 (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_5$-RO3304835)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.01 - 2.0	≥ 0.9904	NA	NA
					Intra-day	0.03, 1.0, 1.5	NA	0.6 to 7.5	95.2 to 110.2
					Inter-day	0.03, 1.0, 1.5	NA	3.5 to 6.1	97.4 to 109.5
					Recovery (IS)	0.03, 1.0, 1.5	35.7% - 42.1% (43.4% - 48.9%)		
					Bench top stability	0.03, 1.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.03, 1.0, 1.5	At least 7 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.03, 1.5	3 cycles		
					Dilution integrity	25.0	20-folds		

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2l イヌ血漿中濃度（続き）

Study Title: Partial Validation Report for Analysis of RO3300074-000 and Metabolites in Dog Plasma ([redacted])

Test Article: Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b **Report No. 1013105** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.9**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (% Nominal)
Dog	Plasma (lithium heparin)	M3 (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_5$-RO3305210)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.01 - 2.0	≥ 0.9903	NA	NA
					Intra-day	0.03, 1.0, 1.5	NA	0.0 to 3.5	92.9 to 105.3
					Inter-day	0.03, 1.0, 1.5	NA	3.3 to 5.5	95.1 to 99.6
					Recovery (IS)	0.03, 1.0, 1.5	40.3% - 47.7% (49.4 % - 55.1%)		
					Bench top stability	0.03, 1.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.03, 1.0, 1.5	At least 7 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.03, 1.5	3 cycles		
					Dilution integrity	25.0	20-folds		
		M4a (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_4$-RO3304974)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.01 - 2.0	≥ 0.9918	NA	NA
					Intra-day	0.03, 1.0, 1.5	NA	1.4 to 5.2	94.1 to 108.9
					Inter-day	0.03, 1.0, 1.5	NA	1.8 to 5.2	95.3 to 106.6
					Recovery (IS)	0.03, 1.0, 1.5	17.8% - 22.4% (18.8% - 23.4%)		
					Bench top stability	0.03, 1.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.03, 1.0, 1.5	At least 7 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.03, 1.5	3 cycles		
					Dilution integrity	25.0	20-folds		

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験（続き）

2.6.5.2l イヌ血漿中濃度（続き）

Study Title: Partial Validation Report for Analysis of RO3300074-000 and Metabolites in Dog Plasma ([redacted])

Test Article: Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b **Report No. 1013105** **Location in CTD: Module 4.2.2.1.9**

Sample		Analytes (IS)	Analytical Method	Sample Preparation	Validation Items	Concentrations (ng/mL)	Results		
Species	Matrix						R^2	Precision (%CV)	Accuracy (% Nominal)
Dog	Plasma (lithium heparin)	M4b (^{13}C,$^{15}N_2$, $^{2}H_4$-RO3305659)	LC-MS/MS Weight: $1/X^2$	Solid phase extraction	Calibration range	0.01 - 2.0	≥ 0.9891	NA	NA
					Intra-day	0.03, 1.0, 1.5	NA	0.0 to 4.2	98.0 to 107.3
					Inter-day	0.03, 1.0, 1.5	NA	1.1 to 3.5	98.8 to 106.3
					Recovery (IS)	0.03, 1.0, 1.5	43.3% - 54.1% (47.1% - 56.0%)		
					Bench top stability	0.03, 1.5	At least 24 hrs at RT		
					Reinjection reproducibility	0.03, 1.0, 1.5	At least 7 days at RT		
					Freeze-Thaw stability	0.03, 1.5	3 cycles		
					Dilution integrity	25.0	20-folds		

CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; IS=internal standard; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3304835); M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3305210); M4a=6-oxo metabolite of palovarotene (RO3304974); M4b=7-oxo metabolite of palovarotene (RO3305659); NA=Not applicable; No.=number; R^2=coefficient of determination; RO3300074-000=palovarotene; RT=room temperature.

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3A 薬物動態試験：吸収：単回投与：マウス

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Male Mice Following Single Doses of RO3300074-000 (AT 7766)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1008704**		**Location in CTD: Module 4.2.2.2.1**	
Species	CD-1 Mouse			
Sample	Plasma			
Analyte	Palovarotene			
Assay	LC-MS/MS			
Sex (M/F)/Number of animals	39M/0F	36M/0F	36M/0F	36M/0F
Feeding condition	Fed	Fed	Fed	Fasted
Vehicle/Formulation	DMSO		Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT	
Method of Administration	IV	Oral gavage	Oral gavage	Oral gavage
Dose (mg/kg)	1	1	4	1
PK parameters:				
T_{max} (h)	0.0833	0.25	0.25	0.5
C_{max} (ng/mL)	1030	37.1	227	64.2
$T_{1/2}$ (h)	NC	2.86	3.15	NC
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	559	292	1010	406
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng•h/mL)	502	222	1010	281
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng•h/mL)	NC	263	1020	NC
MRT (h)	1.28	4.50	5.24	4.52
CL (L/h/kg)	1.99	N/A	N/A	N/A
CL/F (L/h/kg)	N/A	3.80	3.92	3.56
Vd_{ss} (L/kg)	2.54	N/A	N/A	N/A
%F (%)[1]	N/A	44.2	50.3	56.0

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

2.6.5.3A 薬物動態試験：吸収：単回投与：マウス（続き）

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Male Mice Following Single Doses of RO3300074-000 (AT 7766)

Test Article: Palovarotene **Report No. 1008704** **Location in CTD: Module 4.2.2.2.1**

Additional Information:

Blood samples were collected from 3 animals/group per time point at time 0 (pre-dosing) and 0.0833 (IV only), 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 24, 30, and 48 hours after dosing for determination of plasma palovarotene concentrations. PK parameters were calculated from mean concentrations at each time point.

1 Bioavailability was calculated from $AUC_{0\text{-}last}$ values.

%F=percent bioavailability; AUC=area under the concentration versus time curve; $AUC_{0\text{-}24}$=AUC from time 0 to 24 hours post-dose; $AUC_{0\text{-}inf}$=AUC from time zero to infinity; $AUC_{0\text{-}last}$=AUC from time zero to the last concentration above the limit of quantification; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CL/F=apparent systemic clearance; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; DMSO=dimethyl sulfoxide; F=female; IV=intravenous; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; MRT=mean residence time; N/A=not applicable; NC=not calculated; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074-000=palovarotene; $T_{1/2}$=terminal elimination half-life; T_{max}=time of maximum plasma concentration; Vd_{ss}=volume of distribution at steady state.

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

2.6.5.3B 薬物動態試験：吸収：単回投与：ラット

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Rats Following Administration of Single and Multiple Doses of RO3300074-000 (AT 7763)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1008700**		**Location in CTD: Module 4.2.2.2.2**	
Species	Wistar Rat			
Sample	Plasma			
Analyte	Palovarotene			
Assay	LC-MS/MS			
Sex (M/F)/Number of animals	39M/0F	36M/0F	36M/0F	36M/0F
Feeding condition	Fed	Fed	Fed	Fasted
Vehicle/Formulation	DMSO		Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT	
Method of Administration	IV	Oral gavage	Oral gavage	Oral gavage
Dose (mg/kg)	1	1	5	1
PK parameters:				
T_{max} (h)	0.0833	0.25	3	2
C_{max} (ng/mL)	1190	65.2	310	90.4
$T_{1/2}$ (h)	NC	NC	3.65	NC
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1040	286	1450	421
AUC_{0-last} (ng•h/mL)	1120	308	1450	362
AUC_{0-inf} (ng•h/mL)	NC	NC	1460	NC
MRT_{0-last} (h)	4.66	6.26	4.03	2.81
CL (L/h/kg)	0.893	N/A	N/A	N/A
CL/F (L/h/kg)	N/A	3.25	3.42	2.76
Vd_{ss} (L/kg)	4.16	N/A	N/A	N/A
%F (%)[1]	N/A	27.5	25.9	32.4

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

2.6.5.3B 薬物動態試験：吸収：単回投与：ラット（続き）

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Rats Following Administration of Single and Multiple Doses of RO3300074-000 (AT 7763)

Test Article: Palovarotene **Report No. 1008700** **Location in CTD: Module 4.2.2.2.2**

Additional Information: Blood samples were collected from 3 animals/group per time point at time 0 (pre-dosing) and 0.0833 (IV only), 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 24, 30, and 48 hours after dosing for determination of plasma palovarotene. PK parameters were calculated from mean concentrations at each time point.

1 Bioavailability was calculated from $AUC_{0\text{-}last}$ values.

%F=percent bioavailability; AUC=area under the concentration versus time curve; $AUC_{0\text{-}24}$=AUC from time 0 to 24 hours post-dose; $AUC_{0\text{-}inf}$=AUC from time zero to infinity; $AUC_{0\text{-}last}$=AUC from time zero to the last concentration above the limit of quantification; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CL=systemic clearance; CL/F=apparent systemic clearance; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; DMSO=dimethyl sulfoxide; F=female; IV=intravenous; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; $MRT_{0\text{-}last}$=mean residence time; N/A=not applicable; NC=not calculated; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074-000=palovarotene; $T_{1/2}$=terminal elimination half-life; T_{max}=time of maximum plasma concentration; Vd_{ss}=volume of distribution at steady state.

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

2.6.5.3C 薬物動態試験：吸収：単回投与：イヌ

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Dogs Following Administration of Single and Multiple Doses of RO3300074-000 (AT 7764)					
Test Article: Palovarotene	**Report No. 1008701**			**Location in CTD: Module 4.2.2.2.3**	
Species	Beagle Dog				
Sample	Plasma				
Analyte	Palovarotene				
Assay	LC-MS/MS				
Sex (M/F)/Number of animals	0M/3F	0M/3F	0M/3F	0M/4F	4M/0F
Feeding condition	Fed	Fed	Fed	Fasted	Fed
Vehicle/Formulation	DMSO		Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT		
Method of Administration	IV	Oral gavage (capsule)	Oral gavage (capsule)	Oral gavage (capsule)	Oral gavage (capsule)
Dose (mg/kg)	1	0.2	1	1	0.2
PK parameters (Mean ± Standard deviation):					
T_{max} (h)	0.0833 ± 0.00	2.33 ± 0.577	3.00 ± 2.00	2.25 ± 1.00	5.50 ± 2.20
C_{max} (ng/mL)	5150 ± 982	285 ± 115	990 ± 499	1030 ± 538	157 ± 21.0
$T_{1/2}$ (h)	3.88 ± 0.27[1]	4.66 ± 1.28[2]	4.44[2, 3]	4.35 ± 1.21[5]	NC
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	15300 ± 3540	2360 ± 920	9520 ± 3050	9130 ± 4740	1940 ± 161
AUC_{0-48} (ng•h/mL)	15400 ± 3590	2470 ± 1030	10400 ± 2260	9540 ± 4830	2040 ± 196
AUC_{0-last} (ng•h/mL)	15400 ± 3540	2450 ± 1040	10400 ± 2200	9530 ± 3960	2010 ± 180
AUC_{0-inf} (ng•h/mL)	15400 ± 3540	2470 ± 1040	11000[3]	9540 ± 4840	NC
MRT_{0-last} (h)	3.93 ± 0.0724	7.08 ± 1.35	9.82 ± 5.28	7.48 ± 2.76	8.47 ± 0.886
CL (L/h/kg)	0.0671 ± 0.0145	N/A	N/A	N/A	N/A
CL/F (L/h/kg)	N/A	0.0910 ± 0.0364	0.0946[3]	0.118 ± 0.050	0.100 ± 0.010
V_{β} (L/kg)	0.379 ± 0.105	N/A	N/A	N/A	N/A

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

2.6.5.3C 薬物動態試験：吸収：単回投与：イヌ（続き）

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Dogs Following Administration of Single and Multiple Doses of RO3300074-000 (AT 7764)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1008701**			**Location in CTD: Module 4.2.2.2.3**	
Sex (M/F)/Number of animals	0M/3F	0M/3F	0M/3F	0M/4F	4M/0F
Method of Administration	IV	Oral gavage (capsule)	Oral gavage (capsule)	Oral gavage (capsule)	Oral gavage (capsule)
Dose (mg/kg)	1	0.2	1	1	0.2
Vd_{ss} (L/kg)	0.263 ± 0.0548	N/A	N/A	N/A	N/A
%F (%)[4]	N/A	77.7 ± 14.7	70.3 ± 22.2	62.9 ± 31.4	NC

Additional Information: Blood samples were collected from each animal at time 0 (pre-dosing) and 0.0833 (IV only), 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 24, 30, and 48 hours after dosing for determination of plasma palovarotene.

1 Half-life was calculated from 10 to 30 hours for each dog.
2 Half-life was calculated from 10 to 30 hours for dogs A and B, and from 24 to 48 hours for dog C.
3 n=2.
4 Bioavailability was calculated from $AUC_{0\text{-}inf}$ values.
5 Half-life was calculated from 10 to 30 hours for dog A and from 24 to 48 hours for dog B, C and D.

%F=percent bioavailability; AUC=area under the concentration versus time curve; $AUC_{0\text{-}24}$=AUC from time 0 to 24 hours post-dose; $AUC_{0\text{-}48}$=AUC from time 0 to 48 hours post-dose; $AUC_{0\text{-}inf}$=AUC from time zero to infinity; $AUC_{0\text{-}last}$=AUC from time zero to the last concentration above the limit of quantification; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CL=systemic clearance; CL/F=apparent systemic clearance; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; DMSO=dimethyl sulfoxide; F=female; IV=intravenous; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; $MRT_{0\text{-}last}$=mean residence time; N/A=not applicable; NC=not calculated; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074-000=palovarotene; $T_{1/2}$=terminal elimination half-life; T_{max}=time of maximum plasma concentration; V_β=volume of distribution during the terminal elimination phase; Vd_{ss}=volume of distribution at steady state.

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

2.6.5.3D 薬物動態試験：吸収：単回投与：サル

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Male Monkeys Following Administration of Single Doses of RO3300074-000. Bioavailability and Dose Proportionality (AT 7780)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1009007**		**Location in CTD: Module 4.2.2.2.4**	
Species	Cynomolgus Monkey			
Sample	Plasma			
Analyte	Palovarotene			
Assay	LC-MS/MS			
Method of Administration	IV	Oral gavage	Oral gavage	Oral gavage
Vehicle/Formulation	DMSO		Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT	
Dose (mg/kg)	1	1	5	1
Sex (M/F)/Number of animals	3M/0F	3M/0F	3M/0F	3M/0F
Feeding condition	Fed	Fed	Fed	Fasted
PK parameters (Mean ± Standard deviation):				
T_{max} (h)	0.0833 ± 0.00	12.7 ± 15.0	5.67 ± 1.15	5.00 ± 0.00
C_{max} (ng/mL)	2020 ± 437	21.6 ± 17.2	41.6 ± 24.9	16.5 ± 4.76
$T_{1/2}$ (h)	7.49 ± 2.90[1]	NC	NC	4.43 ± 0.693[2]
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1530 ± 232	141 ± 80.1	329 ± 131	138 ± 8.00
AUC_{0-48} (ng•h/mL)	1550 ± 242	200 ± 64.4	416 ± 147	140 ± 7.98
AUC_{0-last} (ng•h/mL)	1550 ± 242	200 ± 64.6	416 ± 147	138 ± 8.00
AUC_{0-inf} (ng•h/mL)	1560 ± 240	NC	NC	142 ± 8.17
MRT (h)	2.31 ± 1.62	16.7 ± 7.02	14.2 ± 4.26	7.44 ± 0.755
CL (L/h/kg)	0.651 ± 0.109	N/A	N/A	N/A
CL/F (L/h/kg)	N/A	5.30 ± 1.45	13.2 ± 5.15	7.04 ± 0.411
V_{β} (L/kg)	7.34 ± 4.14	N/A	N/A	N/A
Vd_{ss} (L/kg)	1.46 ± 0.934	N/A	N/A	N/A

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与（続き）

2.6.5.3D 薬物動態試験：吸収：単回投与：サル（続き）

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Male Monkeys Following Administration of Single Doses of RO3300074-000. Bioavailability and Dose Proportionality (AT 7780)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1009007**		**Location in CTD: Module 4.2.2.2.4**	
Method of Administration	IV	Oral gavage	Oral gavage	Oral gavage
Dose (mg/kg)	1	1	5	1
Sex (M/F)/Number of animals	3M/0F	3M/0F	3M/0F	3M/0F
%F (%)[3]	N/A	13.0 ± 3.82	5.10 ± 1.90	8.43 ± 0.0424
PK Parameter	Metabolite-to-Parent Ratio Based on C_{max} and AUC_{0-48} (Dose: 5 mg/kg)[4]			
	M1	M2	M3	M4
C_{max}	0	0.120	0.122	0.126
AUC_{0-48}	0	0.122	0.183	0.201

Additional Information: Blood samples were collected from each animal at time 0 (pre-dosing) and 0.0833 (IV only), 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 24, 30, and 48 hours after dosing for determination of plasma palovarotene.

1 Half-life was calculated from 7 to 24 hours for monkeys A and C and from 10 to 30 hours for monkey B.
2 Half-life was calculated from 7 to 24 hours.
3 Bioavailability was calculated from AUC_{0-last} values.
4 Metabolite plasma concentrations were determined by LC/UV method.

%F=percent bioavailability; AUC=area under the concentration versus time curve; AUC_{0-24}=AUC from time 0 to 24 hours post-dose; AUC_{0-48}=AUC from time 0 to 48 hours post-dose; AUC_{0-inf}=AUC from time zero to infinity; AUC_{0-last}=AUC from time zero to the last concentration above the limit of quantification; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CL=systemic clearance; CL/F=apparent systemic clearance; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; DMSO=dimethyl sulfoxide; F=female; IV=intravenous; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LC/UV=liquid chromatography with ultraviolet detection; M=male; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4=6-oxo and/or 7-oxo metabolite of palovarotenes; MRT=mean residence time; N/A=not applicable; NC=not calculated; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074-000=palovarotene; $T_{1/2}$=terminal elimination half-life; T_{max}=time of maximum plasma concentration; V_β=volume of distribution during the terminal elimination phase; Vd_{ss}=volume of distribution at steady state.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.5.4A 薬物動態試験：吸収：反復投与：ラット

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Rats Following Administration of Single and Multiple Doses of RO3300074-000 (AT 7763)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1008700**		**Location in CTD: Module 4.2.2.2.2**	
Species	Wistar Rat			
Feeding condition	Fed			
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT			
Method of Administration	Oral gavage			
Dose (mg/kg/day)	1			
Sample	Plasma			
Analyte	Palovarotene			
Assay	LC-MS/MS			
Sex (M/F)/Number of animals	30M/0F	36M/0F	0M/30F	0M/36F
PK parameters:	Day 1	Day 5	Day 1	Day 5
T_{max} (h)	1	2	1	2
C_{max} (ng/mL)	56.5	63.0	126	110
$T_{1/2}$ (h)	2.46	NC	NC	NC
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	233	305	493	591
AUC_{0-last} (ng•h/mL)	209	235	493	591
AUC_{0-inf} (ng•h/mL)	221	NC	NC	NC
MRT_{0-last} (h)	2.88	3.51	4.68	6.63
CL/F (L/h/kg)	4.52	4.25	2.03	1.69

Additional Information: Blood samples were collected from 3 animals/group per time point at time 0 (pre-dosing) and 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 24, 30 (day 5 only), and 48 (day 5 only) hours after dosing for determination of plasma palovarotene. PK parameters were calculated from mean plasma concentrations at each time point.

AUC=area under the concentration versus time curve; AUC_{0-24}=AUC from time 0 to 24 hours post-dose; AUC_{0-inf}=AUC from time zero to infinity; AUC_{0-last}=AUC from time zero to the last concentration above the limit of quantification; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CL/F=apparent systemic clearance; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; MRT_{0-last}=mean residence time from time zero to the last concentration above the limit of quantification; NC=not calculated; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074-000=palovarotene; $T_{1/2}$=terminal elimination half-life; T_{max}=time of maximum plasma concentration.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4B 薬物動態試験：吸収：反復投与：ラット

Study Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of Ro330-0074/000 in Rats with a 29-Day Recovery Period								
Test Article: Palovarotene	**Report No. 1007062**				**Location in CTD: Module 4.2.3.2.2**			
Species	Wistar Rat							
Feeding condition	Fed							
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT							
Method of Administration	Oral gavage							
Sample	Plasma							
Analyte	Palovarotene, M1, M2, M3, M4							
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1007335) and LC/UV							
Dose (mg/kg/day)	0.04		0.2		1.0		5.0	
Sex (M/F)/Number of animals	15M/15F		15M/15F		15M/15F		15M/15F	
PK parameters:								
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	4.64	4.26	15.2	17.6	93.4	123	420	644
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	20.9	25.4	78.2	136	400	637	2400	2410
Day 26								
C_{max} (ng/mL)	2.35	3.77	19.0	18.5	47.6	95.6	223	353
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	11.0	25.7	77.9	112	306	446	1030	1680

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4B 薬物動態試験：吸収：反復投与：ラット（続き）

Study Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of Ro330-0074/000 in Rats with a 29-Day Recovery Period

Test Article: Palovarotene **Report No. 1007062** **Location in CTD: Module 4.2.3.2.2**

	Metabolite-to-Parent Ratio (%) Based on C_{max} and AUC_{0-24} (Dose: 5 mg/kg/day)[2]							
PK parameters:	M1		M2		M3		M4	
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F	M	F
% of C_{max} of palovarotene	0.00	0.00	0.834	2.15	3.06	2.31	12.4	4.55
% of AUC_{0-24} of palovarotene	0.00	0.00	0.217	1.13	3.33	1.32	17.1	7.19
Day 26								
% of C_{max} of palovarotene	0.00	0.00	0.00	1.91	2.21	3.90	12.8	21.0
% of AUC_{0-24} of palovarotene	0.00	0.00	0.00	0.632	0.711	1.48	14.2	13.6

Additional Information: Blood samples were collected from 3 animals/sex/group per time point at approximately 1, 2, 4, 7, and 24 hours after dosing on study days 0 and 26 for determination of palovarotene concentrations. PK parameters were calculated from mean plasma concentrations at each time point.

1 Day 0 was the first day of dosing.
2 Palovarotene and metabolite plasma concentrations were determined by LC/UV method.

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LC/UV=liquid chromatography with ultra violet detection; M=male; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4=6-oxo or 7-oxo metabolite of palovarotene; No.=number; PK=pharmacokinetics; Ro330-0074/000=palovarotene.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4C 薬物動態試験：吸収：反復投与：ラット

Study Title: A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of RO3300074-000 in Rats with a 2-Month Recovery Period (AT 7793)-Supersedes AT 7755								
Test Article: Palovarotene	**Report No. 1009627**				**Location in CTD: Module 4.2.3.2.3**			
Species	Wistar Rat							
Feeding condition	Fed							
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT							
Method of Administration	Oral gavage							
Sample	Plasma							
Analyte	Palovarotene							
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1007336)							
Sex (M/F)/Number of animals	30M/30F		30M/30F		30M/30F		30M/30F	
Dose (mg/kg/day)	0.005		0.015		0.050		0.150	
PK parameters:								
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	0.432	0.476	1.13	1.47	3.20	5.77	13.1	12.2
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	2.50	3.21	6.45	9.89	24.1	35.2	73.6	108
Day 27								
C_{max} (ng/mL)	0.430	0.486	1.10	1.31	4.77	5.32	9.95	19.7
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	3.02	3.65	7.17	10.6	26.7	33.9	79.5	114
Day 84								
C_{max} (ng/mL)	0.317	0.436	1.31	1.35	3.53	4.66	10.8	13.7
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	2.17	2.72	6.90	9.57	24.5	38.1	90.2	133
Day 175								
C_{max} (ng/mL)	0.284	0.485	1.13	1.63	2.87	5.15	9.23	14.4
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	2.00	3.20	6.38	9.21	24.0	35.1	60.2	122

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4C 薬物動態試験：吸収：反復投与：ラット（続き）

Study Title: A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of RO3300074-000 in Rats with a 2-Month Recovery Period (AT 7793)-Supersedes AT 7755		
Test Article: Palovarotene	**Report No. 1009627**	**Location in CTD: Module 4.2.3.2.3**
Additional Information: On Days 0, 27, 84, and 175, blood samples were collected from 6 animals/sex/group per time point at approximately 1, 2, 4, 7, and 24 hours after dosing for determination of plasma palovarotene concentrations. PK parameters were calculated from mean plasma concentrations at each time point.		

1 Day 0 was the first day of dosing.

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074-000=palovarotene.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4D 薬物動態試験：吸収：反復投与：ラット

Study Title: RO3300074-003 (RARγ agonist): A 26-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetics Study with RO3300074-003 in Rats with a 13-Week Interim Sacrifice and an 8-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 6131-420, [redacted] Study No. 08076)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1013603**				**Location in CTD: Module 4.2.3.2.4**	
Species	Wistar Rat					
Feeding condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT					
Method of Administration	Oral gavage					
Sample	Plasma					
Analytes	Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b					
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1013104)					
Dose (mg/kg/day)	0.3		0.6		1.0	
Sex (M/F)/Number of animals	12M/12F		12M/12F		12M/12F	
PK parameters:						
Palovarotene						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	22.7	33.8	47.2	48.7	64.0	79.5
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	85.9	133	191	292	301	501
Day 86						
C_{max} (ng/mL)	20.7	35.7	31.4	57.6	51.4	107
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	133	211	282	351	366	673
Day 177						
C_{max} (ng/mL)	16.5	29.7	33.1	60.7	82.6	96.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	129	207	242	445	421	716

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4D 薬物動態試験：吸収：反復投与：ラット（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RARγ agonist): A 26-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetics Study with RO3300074-003 in Rats with a 13-Week Interim Sacrifice and an 8-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 6131-420, [redacted] Study No. 08076)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1013603**		**Location in CTD: Module 4.2.3.2.4**			
Dose (mg/kg/day)	0.3		0.6		1.0	
M2						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	1.16	0.759	1.97	1.15	2.37	1.93
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	4.61	3.26	9.29	9.19	11.5	13.2
Day 86						
C_{max} (ng/mL)	0.864	1.22	1.09	2.12	1.46	4.81
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	6.02	8.71	11.3	16.1	12.6	33.4
Day 177						
C_{max} (ng/mL)	0.662	1.12	1.61	2.30	2.26	2.59
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	6.84	11.3	10.8	18.7	15.6	30.2
M3						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	1.39	1.16	2.06	1.40	2.52	3.19
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	5.17	6.87	9.33	14.7	11.1	20.4
Day 86						
C_{max} (ng/mL)	0.902	1.62	1.06	2.66	1.36	7.07
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	7.04	12.4	10.1	25.6	11.4	56.7
Day 177						
C_{max} (ng/mL)	0.526	1.56	1.73	3.00	2.69	3.53
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	5.25	19.9	10.3	29.8	14.3	51.1

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4D 薬物動態試験：吸収：反復投与：ラット（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RARγ agonist): A 26-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetics Study with RO3300074-003 in Rats with a 13-Week Interim Sacrifice and an 8-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 6131-420, [redacted] Study No. 08076)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1013603**		**Location in CTD: Module 4.2.3.2.4**			
Dose (mg/kg/day)	0.3		0.6		1.0	
M4a						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	0.821	0.470	1.82	0.672	2.95	0.957
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	11.3	5.03	23.7	9.89	31.8	13.6
Day 86						
C_{max} (ng/mL)	1.12	0.910	2.38	1.86	3.51	4.64
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	19.1	12.8	34.7	30.4	46.8	57.9
Day 177						
C_{max} (ng/mL)	1.03	1.02	2.79	1.73	4.97	3.26
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	13.8	17.1	33.2	31.1	49.0	54.3
M4b						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	0.322	0.504	0.528	0.597	0.810	0.700
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	4.36	3.92	6.19	7.37	7.61	8.87
Day 86						
C_{max} (ng/mL)	0.553	0.837	0.715	1.85	1.07	4.30
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	7.38	8.99	8.81	27.2	12.5	53.5
Day 177						
C_{max} (ng/mL)	0.303	1.04	0.963	2.54	1.15	2.54
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	4.59	15.3	9.70	32.4	11.0	42.6

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4D 薬物動態試験：吸収：単回投与：ラット（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RARγ agonist): A 26-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetics Study with RO3300074-003 in Rats with a 13-Week Interim Sacrifice and an 8-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 6131-420, [redacted] Study No. 08076)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1013603**	**Location in CTD: Module 4.2.3.2.4**

Additional Information: On Days 1, 86, and 177, blood samples were collected from 3 animals/sex/group per time point at 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, and 24 hours after dosing for determination of plasma palovarotene and metabolites, M2, M3, M4a, and M4b concentrations. PK parameters were calculated from mean plasma concentrations at each time point.

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; No.=number; PK=pharmacokinetics; RARγ=retinoic acid receptor gamma; RO3300074-003=palovarotene.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4E 薬物動態試験：吸収：反復投与：ウサギ

Study Title: RO3300074-003 (RAR Gamma): A Four-Week Oral (Intubation) Toxicity and Toxicokinetic Study in Rabbits Followed by a Four-Week Recovery Period (Study 09246)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1020320**		**Location in CTD: Module 4.2.3.2.6**			
Species	New Zealand White Rabbit					
Feeding condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA					
Method of Administration	Oral gavage					
Sample	Plasma					
Analytes	Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b					
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1019321)					
Dose (mg/kg/day)	0.5		1.0		2.5[1]	
Sex (M/F)/Number of animals	7M/7F		7M/7F		7M/7F	
PK parameters (Mean ± Standard deviation):						
Palovarotene						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	24.5 ± 12.1	21.1 ± 18.7	41.4 ± 17.4	38.7 ± 10.7	142 ± 103	123 ± 43.1
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	223 ± 91.7	208 ± 123	518 ± 170	392 ± 94.4	1190 ± 484	911 ± 272
Day 29						
C_{max} (ng/mL)	28.7 ± 17.2[2]	26.5 ± 9.87[2]	44.2 ± 15.6	43.1 ± 15.3	209 ± 79.3[2]	113 ± 48.7[2]
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	353 ± 193[2]	277 ± 80.7[2]	582 ± 172	454 ± 151	399 ± 208[2]	1080 ± 335[2]

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4E 薬物動態試験：吸収：反復投与：ウサギ（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RAR Gamma): A Four-Week Oral (Intubation) Toxicity and Toxicokinetic Study in Rabbits Followed by a Four-Week Recovery Period (Study 09246)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1020320**			**Location in CTD: Module 4.2.3.2.6**		
Dose (mg/kg/day)	0.5		1.0		2.5[1]	
M2						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	4.39 ± 2.72	4.33 ± 3.49	6.34 ± 2.97	8.24 ± 3.91	17.0 ± 8.23	38.5 ± 18.7
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	30.4 ± 15.1	37.6 ± 16.5	65.2 ± 22.4	95.1 ± 47.5	127 ± 49.0	262 ± 76.3
Day 29						
C_{max} (ng/mL)	7.43 ± 4.56[2]	6.06 ± 1.28[2]	8.72 ± 3.19	12.4 ± 6.11	25.2 ± 9.94[2]	27.3 ± 9.39[2]
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	54.9 ± 28.7[2]	78.6 ± 22.7[2]	94.8 ± 31.8	148 ± 71.8	44.9 ± 15.9[2]	305 ± 69.9[2]
M3						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	29.8 ± 22.3	26.1 ± 19.3	45.5 ± 20.5	47.9 ± 18.1	115 ± 46.9	212 ± 119
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	236 ± 112	255 ± 119	521 ± 141	580 ± 176	1070 ± 382	1700 ± 615
Day 29						
C_{max} (ng/mL)	49.3 ± 20.9[2]	46.9 ± 6.75[2]	67.5 ± 17.8	77.2 ± 32.2	228 ± 89.4[2]	163 ± 61.5[2]
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	475 ± 282[2]	545 ± 153[2]	712 ± 226	827 ± 337	430 ± 161[2]	1860 ± 697[2]
M4a						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	0.741 ± 0.272	0.772 ± 0.330	1.19 ± 0.207	1.69 ± 0.370	2.35 ± 0.858	7.68 ± 4.30
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	11.7 ± 5.23	12.3 ± 5.81	20.2 ± 4.12	28.7 ± 5.47	39.8 ± 14.7	110 ± 49.6
Day 29						
C_{max} (ng/mL)	3.70 ± 4.02[2]	2.94 ± 0.794[2]	2.97 ± 0.532	6.39 ± 2.40	10.9 ± 5.29[2]	15.1 ± 6.69[2]
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	31.7 ± 10.8[2]	46.0 ± 19.0[2]	51.4 ± 13.8	96.8 ± 43.8	22.9 ± 8.69[2]	238 ± 125[2]

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4E 薬物動態試験：吸収：反復投与：ウサギ（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RAR Gamma): A Four-Week Oral (Intubation) Toxicity and Toxicokinetic Study in Rabbits Followed by a Four-Week Recovery Period (Study 09246)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1020320**		**Location in CTD: Module 4.2.3.2.6**			
Dose (mg/kg/day)	0.5		1.0		2.5[1]	
M4b						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	18.3 ± 9.00	30.6 ± 12.3	38.1 ± 11.7	62.0 ± 20.7	70.2 ± 22.8	201 ± 119
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	298 ± 168	433 ± 236	629 ± 216	905 ± 340	1160 ± 474	2800 ± 1490
Day 29						
C_{max} (ng/mL)	67.8 ± 19.1[2]	113 ± 31.9[2]	96.1 ± 21.4	202 ± 95.5	240 ± 110[2]	462 ± 168[2]
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1050 ± 465[2]	1640 ± 542[2]	1620 ± 564	2860 ± 1480	531 ± 110[2]	7010 ± 3590[2]

Additional Information: On Days 1 and 29, blood samples were collected from 7 animals/sex/group per time point at time 0, 0.5, 1, 3, 10, and 24 hours after dosing for determination of plasma palovarotene and metabolites, M2, M3, M4a, and M4b concentrations. Due to the poor health condition of the 2.5 mg/kg/day males, the decision was made to humanely terminate early on study Day 12.

1 Days 1 and 12 for males due to early termination of this group.
2 n=6

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; No.=number; PK=pharmacokinetics; RAR Gamma =retinoic acid receptor gamma; RO3300074-003=palovarotene.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4F 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Dogs Following Administration of Single and Multiple Doses of RO3300074-000 (AT 7764)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1008701**	**Location in CTD: Module 4.2.2.2.3**
Species	Beagle Dog	
Sex (M/F)/Number of animals	0M/5F	
Feeding condition	Fed	
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT	
Method of Administration	Oral gavage (capsule)	
Dose (mg/kg/day)	0.1	
Sample	Plasma	
Analyte	Palovarotene	
Assay	LC-MS/MS	
PK parameters (Mean ± Standard deviation):	Day 1	Day 5
T_{max} (h)	1.70 ± 0.97	2.10 ± 2.82
C_{max} (ng/mL)	148 ± 30.0	130 ± 15.2
$T_{1/2}$ (h)	5.70 ± 1.57	5.08 ± 2.20
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1190 ± 674	1060 ± 657
AUC_{0-48} (ng•h/mL)	NC	1140 ± 786
AUC_{0-last} (ng•h/mL)	NC	1100 ± 729
AUC_{0-inf} (ng•h/mL)	NC	1150 ± 804
MRT (h)	NC	6.76 ± 3.07
CL/F (L/h/kg)	0.100 ± 0.0465	0.123 ± 0.0751

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4F 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ

Study Title: Pharmacokinetics of RO3300074-000 in Dogs Following Administration of Single and Multiple Doses of RO3300074-000 (AT 7764)

Test Article: Palovarotene **Report No. 1008701** **Location in CTD: Module 4.2.2.2.3**

Additional Information: Blood samples were collected from each animal at time 0 (pre-dosing) and 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 24, 30 (day 5 only), and 48 (day 5 only) hours after dosing for determination of plasma palovarotene. Day 1: half-life was calculated from 7 to 24 hours for all dogs (N=5). Day 5: half-life was calculated from 5 to 10 hours (N=1), 7 to 24 hours (N=1) or 10 to 30 hours (N=3).

AUC=area under the concentration versus time curve; AUC_{0-24}=AUC from time 0 to 24 hours post-dose; AUC_{0-48}=AUC from time 0 to 48 hours post-dose; AUC_{0-inf}=AUC from time zero to infinity; AUC_{0-last}=AUC from time zero to the last concentration above the limit of quantification; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CL/F=apparent systemic clearance; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; MRT=mean residence time; NC=not calculated; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074-000=palovarotene; $T_{1/2}$=terminal elimination half-life; T_{max}=time of maximum plasma concentration.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4G 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ

Study Title: One-Month Oral Toxicity Study of Ro330-0074/000 in Beagle Dogs (AT 7790) - Supersedes AT 7747

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1009512**				**Location in CTD: Module 4.2.3.2.9**	
Species	Beagle Dog					
Feeding condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT					
Method of Administration	Oral gavage (capsule)					
Sample	Plasma					
Analytes	Palovarotene, M1, M2, M3, M4					
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1007340) and LC/UV					
Dose (mg/kg/day)	0.008		0.04		0.2	
Sex (M/F)/Number of animals	5M/5F		5M/5F		5M/5F[1]	
PK parameters (Mean ± Standard deviation):						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	6.43 ± 1.58	7.40 ± 1.74	39.2 ± 10.2	28.9 ± 8.51	209 ± 51.3	209 ± 119
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	80.1 ± 32.9	74.3 ± 39.0	493 ± 172	313 ± 96.0	2520 ± 1080	2530 ± 1180
Day 28						
C_{max} (ng/mL)	4.95 ± 1.43	6.93 ± 2.54	24.6 ± 3.22	44.5 ± 18.1	129 ± 32.1	207 ± 78.9
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	55.2 ± 14.1	67.5 ± 21.2	332 ± 58.1	430 ± 183	1720 ± 138	2750 ± 1090

	Metabolite-to-Parent Ratio (%) Based on C_{max} and AUC_{0-24} (Dose: 0.2 mg/kg/day)[2]							
PK parameters:	M1		M2		M3		M4	
Day 1	M	F	M	F	M	F	M	F
% of C_{max} of palovarotene	1.25	1.04	1.96	2.90	0.00	0.733	4.74	11.1
% of AUC_{0-24} of palovarotene	0.164	0.128	1.88	3.71	0.00	0.709	6.34	14.9

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4G 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ（続き）

Study Title: One-Month Oral Toxicity Study of Ro330-0074/000 in Beagle Dogs (AT 7790) - Supersedes AT 7747

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1009512**					**Location in CTD: Module 4.2.3.2.9**		
Day 28								
% of C_{max} of palovarotene	0.00	1.10	2.20	1.27	1.06	0.530	13.9	12.3
% of AUC_{0-24} of palovarotene	0.00	0.125	2.61	1.50	0.820	0.523	19.3	17.8

Additional Information: On Days 1 and 28, blood from each dog was collected approximately 1, 3, 7, and 24 hours after dosing for determination of plasma palovarotene concentrations.

1 3M/3F on Day 28.
2 Palovarotene and metabolite plasma concentrations were determined by LC/UV method.

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; LC/UV=liquid chromatography with ultraviolet detection; M=male; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4=6-oxo and 7-oxo metabolite of palovarotene; No.=number; PK=pharmacokinetics; Ro330-0074/000=palovarotene.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4H 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ

Study Title: A 6/9-Month Oral (Capsule) Toxicity Study of RO3300074-000 with a 3-Month Recovery Period in Dogs (AT 7794) - supersedes AT 7756

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1009654**				**Location in CTD: Module 4.2.3.2.10**			
Species	Beagle Dog							
Feeding condition	Fed							
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT							
Method of Administration	Oral gavage (capsule)							
Sample	Plasma							
Analyte	Palovarotene							
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1007339)							
Dose (µg/kg/day)	0.2		0.6		2		6	
Sex (M/F)/Number of animals	6M/6F		6M/6F		6M/6F		6M/6F	
PK parameters (Mean ± Standard deviation):								
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	0.302 ± 0.0898	0.330 ± 0.0811	0.924 ± 0.186	0.606 ± 0.325	2.91 ± 0.469	2.74 ± 0.836	9.65 ± 1.55	8.22 ± 1.82
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1.83 ± 0.370	2.01 ± 0.483	6.55 ± 2.40	3.90 ± 2.55	21.4 ± 4.90	20.7 ± 7.35	66.6 ± 13.9	64.6 ± 13.2
Day 28/27[2]								
C_{max} (ng/mL)	0.207 ± 0.0543	0.266 ± 0.0276	0.733 ± 0.124	0.707 ± 0.161	2.24 ± 0.614	2.07 ± 0.452	7.39 ± 1.90	8.31 ± 1.70
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1.60 ± 0.484	1.96 ± 0.550	4.99 ± 0.959	4.87 ± 1.20	16.4 ± 3.71	17.4 ± 2.96	65.9 ± 16.8	64.1 ± 19.8
Day 84/83								
C_{max} (ng/mL)	0.229 ± 0.0652	0.286 ± 0.0715	0.926 ± 0.138	0.972 ± 0.297	2.41 ± 0.563	2.49 ± 0.337	8.50 ± 2.43	6.72 ± 3.66
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1.62 ± 0.488	1.98 ± 0.493	7.19 ± 2.02	6.38 ± 1.99	17.9 ± 5.69	20.7 ± 5.42	71.5 ± 19.6	68.0 ± 43.8

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4H 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ（続き）

Study Title: A 6/9-Month Oral (Capsule) Toxicity Study of RO3300074-000 with a 3-Month Recovery Period in Dogs (AT 7794) - supersedes AT 7756

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1009654**				**Location in CTD: Module 4.2.3.2.10**			
Dose (µg/kg/day)	0.2		0.6		2		6	
Day 175/174								
C_{max} (ng/mL)	0.164 ± 0.0752	0.288 ± 0.0455	0.732 ± 0.124	0.598 ± 0.0765	2.42 ± 0.411	2.51 ± 0.532	8.26 ± 1.42	8.89 ± 1.38
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	1.38 ± 0.679	1.96 ± 0.702	5.86 ± 1.91	4.78 ± 0.487	22.7 ± 5.17	22.6 ± 6.03	71.1 ± 3.42	73.8 ± 18.9
Day 272/271								
C_{max} (ng/mL)	0.225 ± 0.0554	0.314 ± 0.0792	0.625 ± 0.295	0.713 ± 0.153	2.43 ± 0.731	2.97 ± 0.657	8.13 ± 2.30	8.82 ± 1.92
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	2.03 ± 0.743	2.73 ± 0.946	4.62 ± 2.05	5.82 ± 1.85	17.6 ± 2.57	24.8 ± 7.03	68.1 ± 11.2	76.0 ± 30.0

Additional Information: On Days 0, 28 (M), 27 (F), 84 (M), 83 (F), 175 (M), 174 (F), 272 (M), and 271 (F), blood from each dog was collected at time 0 (Day 0 only) and approximately 1, 3, 7, and 24 hours after dosing for determination of plasma palovarotene concentrations.

1 Day 0 was the first day of dosing.
2 5M/6F on Day 28/27.

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074-000=palovarotene.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4l 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ

Study Title: RO3300074-003 (RARγ Agonist): A 39-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs with a 13-Week Interim Sacrifice and a 13-Week Recovery Period ([redacted]Study No. 07995, [redacted] Study No. 6131-408)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1013980**		**Location in CTD: Module 4.2.3.2.11**
Species	Beagle Dog		
Feeding condition	Fed		
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT		
Method of Administration	Oral gavage		
Sample	Plasma		
Analytes	Palovarotene, M2, M3, M4a, M4b		
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1013105)		
Dose (mg/kg/day)	0.012	0.025/0.120	0.04
Sex (M/F)/Number of animals – Days 1, 89	10M/10F	10M/10F	10M/10F
Sex (M/F)/Number of animals – Days 99, 127, 268, 365[1]	7M/7F	7M/7F	7M/7F

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4l 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RARγ Agonist): A 39-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs with a 13-Week Interim Sacrifice and a 13-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 07995, [redacted] Study No. 6131-408)

Test Article: Palovarotene		**Report No. 1013980**		**Location in CTD: Module 4.2.3.2.11**		
PK parameters (Mean ± Standard deviation):						
Dose (mg/kg/day)	0.012	0.025/0.120		0.04		
Palovarotene						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	9.68 ± 3.34	9.87 ± 2.23	15.3 ± 3.86	16.2 ± 7.21	38.4 ± 11.4	31.2 ± 6.17
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	102 ± 47.7	103 ± 33.9	137 ± 38.3	188 ± 97.6	443 ± 203	335 ± 184
Day 89						
C_{max} (ng/mL)	10.6 ± 1.86	9.83 ± 1.96	18.0 ± 4.18	21.7 ± 7.21	40.7 ± 17.9	37.1 ± 16.7
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	126 ± 51.1	109 ± 29.5	189 ± 56.1	237 ± 87.9	466 ± 289	343 ± 171
Day 99 [1]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	96.5 ± 28.0	121 ± 36.7	N/A	N/A
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	1020 ± 294	1450 ± 485	N/A	N/A
Day 127 [29]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	95.3 ± 28.4	172 ± 80.9	N/A	N/A
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	951 ± 384	1630 ± 853	N/A	N/A
Day 268 [170]						
C_{max} (ng/mL)	10.3 ± 3.31	8.07 ± 1.87	52.8 ± 31.3	95.3 ± 25.7	35.1 ± 13.6	40.3 ± 15.1
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	117 ± 70.9	88.2 ± 26.6	412 ± 250	948 ± 481	384 ± 206	401 ± 226
Day 365 [267]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	86.9 ± 15.1	56.7	N/A	N/A
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	752 ± 193	718	N/A	N/A

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4l 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RARγ Agonist): A 39-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs with a 13-Week Interim Sacrifice and a 13-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 07995, [redacted] Study No. 6131-408)

Test Article: Palovarotene		**Report No. 1013980**		**Location in CTD: Module 4.2.3.2.11**	
Dose (mg/kg/day)	0.012	0.025/0.120		0.04	
M2					
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	0.302 ± 0.149	0.519 ± 0.187	0.842 ± 0.372	0.808 ± 0.745	1.18 ± 0.696	1.78 ± 1.39
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	4.88 ± 2.41	7.57 ± 1.92	11.6 ± 3.82	11.4 ± 7.46	19.3 ± 11.5	26.7 ± 17.5
Day 89						
C_{max} (ng/mL)	1.04 ± 0.270	1.03 ± 0.447	2.15 ± 0.693	2.39 ± 1.54	2.31 ± 0.744	4.53 ± 2.70
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	11.6 ± 1.90	11.7 ± 3.79	24.6 ± 7.30	22.6 ± 9.27	34.8 ± 12.8	45.9 ± 18.6
Day 99 [1]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	5.47 ± 0.991	6.26 ± 5.23	N/A	N/A
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	91.2 ± 16.5	87.7 ± 62.8	N/A	N/A
Day 127 [29]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	8.23 ± 5.18	16.3 ± 24.3	N/A	N/A
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	139 ± 109	151 ± 162	N/A	N/A
Day 268 [170]						
C_{max} (ng/mL)	0.906 ± 0.351	1.03 ± 0.428	4.12 ± 2.26	9.74 ± 3.95	2.84 ± 0.903	5.05 ± 3.32
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	11.3 ± 5.34	14.4 ± 8.07	53.6 ± 26.7	128 ± 59.4	31.4 ± 11.1	63.9 ± 40.0
Day 365 [267]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	8.64 ± 2.21	12.3	N/A	N/A
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	108 ± 14.6	164	N/A	N/A

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4l 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RARγ Agonist): A 39-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs with a 13-Week Interim Sacrifice and a 13-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 07995, [redacted] Study No. 6131-408)

Test Article: Palovarotene		**Report No. 1013980**		**Location in CTD: Module 4.2.3.2.11**	
Dose (mg/kg/day)	0.012	0.025/0.120		0.04	
M3					
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	0.208 ± 0.0842	0.278 ± 0.0883	0.402 ± 0.120	0.546 ± 0.321	0.818 ± 0.279	0.902 ± 0.371
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	3.17 ± 1.23	3.95 ± 1.12	5.94 ± 1.69	7.67 ± 3.85	12.5 ± 3.97	13.8 ± 6.21
Day 89						
C_{max} (ng/mL)	0.567 ± 0.237	0.535 ± 0.228	0.956 ± 0.312	1.21 ± 0.435	2.08 ± 0.951	2.38 ± 1.58
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	6.25 ± 1.65	5.58 ± 2.29	11.2 ± 2.87	14.1 ± 4.19	25.0 ± 6.84	23.8 ± 10.5
Day 99 [1]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	4.36 ± 0.756	5.74 ± 2.69	N/A	N/A
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	64.4 ± 9.89	84.2 ± 36.4	N/A	N/A
Day 127 [29]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	5.03 ± 2.33	8.13 ± 5.52	N/A	N/A
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	72.0 ± 39.9	98.6 ± 56.9	N/A	N/A
Day 268 [170]						
C_{max} (ng/mL)	0.544 ± 0.298	0.445 ± 0.117	2.50 ± 1.52	5.31 ± 0.534	1.72 ± 0.914	1.98 ± 1.07
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	6.50 ± 3.29	5.99 ± 1.90	28.4 ± 15.7	71.8 ± 17.9	20.8 ± 12.5	27.0 ± 16.7
Day 365 [267]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	4.56 ± 1.05	6.58	N/A	N/A
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	55.8 ± 10.8	88.2	N/A	N/A

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4l 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RARγ Agonist): A 39-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs with a 13-Week Interim Sacrifice and a 13-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 07995, [redacted] Study No. 6131-408)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1013980**				**Location in CTD: Module 4.2.3.2.11**	
Dose (mg/kg/day)	0.012		0.025/0.120		0.04	
M4a						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	0.482 ± 0.233	0.765 ± 0.255	1.00 ± 0.332	1.14 ± 0.828	1.87 ± 1.28	3.19 ± 2.61
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	7.87 ± 3.84	11.8 ± 3.34	17.5 ± 6.34	17.2 ± 11.3	28.6 ± 18.6	50.2 ± 36.2
Day 89						
C_{max} (ng/mL)	1.41 ± 0.481	1.58 ± 0.610	3.20 ± 1.27	3.28 ± 1.99	3.27 ± 1.10	7.53 ± 4.72
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	18.5 ± 4.95	20.3 ± 7.66	39.9 ± 9.45	37.5 ± 19.0	52.0 ± 20.5	83.6 ± 38.7
Day 99 [1]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	9.35 ± 1.90	9.17 ± 8.10	N/A	N/A
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	N/A	N/A	154 ± 20.8	141 ± 113	N/A	N/A
Day 127 [29]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	12.0 ± 5.55	17.5 ± 19.7	N/A	N/A
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	N/A	N/A	223 ± 127	219 ± 218	N/A	N/A
Day 268 [170]						
C_{max} (ng/mL)	1.33 ± 0.666	1.59 ± 0.643	6.94 ± 4.29	12.1 ± 5.82	4.40 ± 0.953	7.60 ± 3.52
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	16.8 ± 4.83	22.2 ± 9.55	94.3 ± 49.3	188 ± 94.5	51.4 ± 17.6	107 ± 52.7
Day 365 [267]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	11.8 ± 1.79	19.6	N/A	N/A
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	N/A	N/A	197 ± 28.1	285	N/A	N/A

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4l 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RARγ Agonist): A 39-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs with a 13-Week Interim Sacrifice and a 13-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 07995, [redacted] Study No. 6131-408)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1013980**				**Location in CTD: Module 4.2.3.2.11**	
Dose (mg/kg/day)	0.012		0.025/0.120		0.04	
M4b						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	0.0644 ± 0.0260	0.0898 ± 0.0252	0.129 ± 0.0503	0.168 ± 0.0721	0.272 ± 0.0784	0.314 ± 0.197
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	1.03 ± 0.402	1.39 ± 0.308	2.10 ± 0.795	2.53 ± 1.03	4.13 ± 1.09	4.84 ± 2.58
Day 89						
C_{max} (ng/mL)	0.159 ± 0.0392	0.160 ± 0.0481	0.327 ± 0.146	0.392 ± 0.123	0.613 ± 0.260	0.786 ± 0.507
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	1.77 ± 0.640	1.85 ± 1.10	4.27 ± 1.27	5.44 ± 1.37	9.41 ± 2.84	9.48 ± 5.23
Day 99 [1]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	1.44 ± 0.146	1.67 ± 0.860	N/A	N/A
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	N/A	N/A	23.4 ± 2.27	27.3 ± 11.7	N/A	N/A
Day 127 [29]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	1.55 ± 0.606	2.77 ± 1.92	N/A	N/A
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	N/A	N/A	27.7 ± 14.0	40.4 ± 21.8	N/A	N/A
Day 268 [170]						
C_{max} (ng/mL)	0.184 ± 0.0644	0.164 ± 0.0375	0.758 ± 0.435	1.94 ± 0.757	0.676 ± 0.291	0.792 ± 0.326
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	2.67 ± 0.788	2.60 ± 0.474	11.6 ± 6.79	29.8 ± 11.4	9.01 ± 4.87	11.5 ± 4.79
Day 365 [267]						
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	1.58 ± 0.167	3.01	N/A	N/A
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	N/A	N/A	26.1 ± 3.01	46.3	N/A	N/A

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4l 薬物動態試験：吸収：反復投与：イヌ（続き）

Study Title: RO3300074-003 (RARγ Agonist): A 39-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs with a 13-Week Interim Sacrifice and a 13-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 07995, [redacted] Study No. 6131-408)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1013980**	**Location in CTD: Module 4.2.3.2.11**

Additional Information: Initially 10 dogs/sex/group received 0.012, 0.025, or 0.040 mg/kg/day for 39 weeks. On Day 99 (13 weeks), the dose of the mid group was increased from 0.025 to 0.120 mg/kg/day and the remaining 7 dogs/sex/group were treated for at least 39 weeks at 0.120 mg/kg/day. The number of days on 0.120 mg/kg/day are indicated in square brackets. Blood samples were collected from each animal at time 0 (pre-dosing) and 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, and 24 hours after dosing for determination of plasma palovarotene, M2, M3, M4a, and M4b concentrations.

1 Blood samples were collected from 2 to 7 animals/sex/group on days 99 (7M/7F), 127 (7M/7F), 268 (7M/4F) and 365 (5M/2F) for the 0.120 mg/kg/day group.
[ ]: Days for 0.120 mg/kg/day
AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; N/A=not applicable; No.=number; PK=pharmacokinetics; RARγ=retinoic acid receptor gamma; RO3300074-003=palovarotene.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4J 薬物動態試験：吸収：反復投与：マウス

Study Title: Ro 330-0074/000: Micronucleus test in mouse bone marrow and toxicokinetics monitoring – Oral administration (gavage) – Study No 454M00 (Roche Bioscience Study identification No. 925-M-00-330-0074/000-MU-MN). Amended report of the version with print date [redacted], 20[redacted].

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1002682**				**Location in CTD: Module 4.2.3.3.2.1**	
Species	Moro Albino Mouse					
Feeding conditions	Fed					
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT					
Method of Administration	Oral gavage					
Sample	Plasma					
Analyte	Palovarotene					
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1007334)					
Dose (mg/kg/day)	5.00		12.5		25.0	
Sex (M/F)/Number of animals	2M/2F		2M/2F		2M/2F	
PK parameters	M	F	M	F	M	F
T_{max} (h)	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250
C_{max} (ng/mL)	156	206	583	237	315	509
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	716	1150	1020	1670	3290	5800

Additional Information: Blood samples were collected from each animal at approximately 0.25, 1, 7 and 24 hours after the second administration for determination of plasma palovarotene. PK parameters were calculated from mean concentrations at each time point.

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; No.=number; PK=pharmacokinetics; Ro 330-0074/000=palovarotene; T_{max}=time of maximum plasma concentration.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4K 薬物動態試験：吸収：反復投与：幼若ラット

Study Title: A 6-Week Oral Gavage Toxicity Study of Palovarotene in 3- to 9-Week-Old Rats, Followed by a 6-Week Recovery Period

Test Article: Palovarotene	**Report No. 6700132**				**Location in CTD: Module 4.2.3.5.4.2**	
Species	Wistar Rat					
Feeding condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT					
Method of Administration	Oral gavage					
Sample	Plasma					
Analyte	Palovarotene					
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1000462)					
Dose (mg/kg/day)	0.1		0.5		1.2	
Sex (M/F)/Number of animals – Day 1	18M/18F		18M/18F		18M/18F	
Sex (M/F)/Number of animals – Day 42	6M/6F		6M/6F		6M/6F	
PK parameters (Mean ± Standard error):						
Day 1	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	20.6 ± 1.43	22.3 ± 5.15	98.5 ± 17.4	113 ± 15.2	316 ± 91.1	295 ± 64.6
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng•h/mL)[1]	120 ± 13.9	129 ± 13.9	912 ± 330	800 ± 95.8	1490 ± 212	1810 ± 211
Day 42						
C_{max} (ng/mL)	10.8 ± 0.968	14.0 ± 3.58	47.8 ± 4.06	99.1 ± 15.4	92.0 ± 7.35	138 ± 9.65
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng•h/mL)[1]	57.9 ± 10.4	87.0 ± 14.6	300 ± 62.7	430 ± 47.6	575 ± 39.7	787 ± 79.3

Additional Information: The first set of animals (n=18/sex/dose) was used for terminal blood sampling on Day 21 postpartum (Day 1 of dosing) and the second set of animals (n=6/sex/dose) was used for serial blood sampling on Day 62 postpartum (Day 42 of dosing). Blood samples were collected from 3 animals/sex/group per time point on Day 21 postpartum (Day 1 of dosing) and Day 62 postpartum (Day 42 of dosing) at time 0 (pre-dosing) and 1, 2, 4, 7, and 24 hours after dosing for determination of plasma palovarotene concentrations.

1 Last measurable concentration observed was 24 hours for all animals.

$AUC_{0\text{-}last}$=area under the concentration versus time curve from time zero to the time of the last measurable concentration; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; No.=number; PK=pharmacokinetics.

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与（続き）

2.6.5.4L 薬物動態試験：吸収：反復投与：妊娠ラット

Study Title: RO3300074-000: Segment II: Oral Study for Effects on Embryo-Fetal Development in the Rat (Study No. 005R01, Sponsor's Reference No. 02-R-01-3300074-000-PO-TT)

Test Article: Palovarotene	**Report No. 1003177**		**Location in CTD: Module 4.2.3.5.2.3**
Species	Wistar Rat		
Administration	Day 6 through to Day 17 of gestation		
Feeding condition	Fed		
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT		
Method of Administration	Oral gavage		
Sample	Plasma		
Analyte	Palovarotene		
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1007335)		
Time (h)	2 and 24		
Dose (mg/kg/day)	0.01	0.25	1.25
Number of animals	3F	3F	3F
PK parameters (dams) on Day 17 (Mean ± Standard deviation):			
C_{max} (ng/mL)[1]	0.721 ± 0.635	22.3 ± 8.85	80.1 ± 18.3
AUC_{0-24} (ng•h/mL)[2]	8.65 ± 7.62	268 ± 106	1000 ± 239

Additional Information: Mated female rats were treated once daily by oral gavage from gestation day 6 through 17.

1 Mean plasma concentration at 2 hours post-dose.
2 AUC_{0-24} was calculated by the linear trapezoid method, the concentration of palovarotene was taken as zero at 0 minutes. Measurable concentrations of palovarotene above the limit of quantification (0.5 ng/mL) at 24 hours after dosing were achieved only at 1.25 mg/kg/day.

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074-000=palovarotene.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

Study Title: Whole Body Phosphor Imaging in Male Albino and Pigmented Rat Following Multiple Oral Administration of [^{14}C]Ro330-0074/000

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene	**Report No. 1007312** **Report No. CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270**	**Location in CTD: Module 4.2.2.3.1** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.2**
Species	Wistar Rat (albino)	Lister Hooded Rat (pigmented)
Gender (M/F)/Number of animals	18M/0F	6M/0F
Feeding condition	Fed	Fed
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT
Method of Administration	Oral gavage	Oral gavage
Dose (mg/kg/day)	2	2
Radionuclide	Carbon-14	Carbon-14
Specific Activity	110.3 mCi/mmol	110.3 mCi/mmol
Sampling time	1, 2, 4, 8, 24, and 48 hours	4, 8, 24, 48, 72 and 96 hours

Albino rats	Tissue concentrations (ng equiv./g, Mean ± Standard deviation, n=3/time point)					
	1 hr	2 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr
LOQ	7.97	2.52	4.75	5.01	7.5	3.72
Adrenal cortex	1578 ± 489	1909 ± 621	2420 ± 1204	2367 ± 1168	1586 ± 456	1587 ± 451
Adrenal medulla	947 ± 433	960 ± 603	1342 ± 501	886 ± 468	722 ± 111	368 ± 256
Bone	10.9 ± 9.82	18.8 ± 13.0	23.3 ± 5.32	BLQ	BLQ	BLQ
Bone marrow	55.7 ± 15.8	87.8 ± 37.1	115 ± 23.1	57.4*	105#	32.4*
Brain	46.1 ± 17.9	55.7 ± 64.9	146 ± 45.1	44.8 ± 29.9	BLQ	BLQ
Brown fat	112 ± 45.9	128 ± 113	232 ± 114	131 ± 85.0	27.8 ± 9.86	12.3 ± 2.57
Caecum contents	3022 ± 1483	5245 ± 2091	33559 ± 8473	29184 ± 8482	6128 ± 2544	779 ± 79.6
Caecum wall	392 ± 157	408 ± 252	836 ± 266	1071*	242*	50.6#
Cardiac blood	59.0 ± 23.2	98.9 ± 81.9	100 ± 24.2	36.8 ± 20.7	BLQ	BLQ
Cardiac muscle	170 ± 85.4	173 ± 174	214 ± 77.7	95.1 ± 56.8	BLQ	BLQ

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Whole Body Phosphor Imaging in Male Albino and Pigmented Rat Following Multiple Oral Administration of [^{14}C]Ro330-0074/000

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1007312** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.1**
Report No. CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 **Location in CTD: Module 4.2.2.3.2**

Albino Rats	Tissue concentrations (ng equiv./g, Mean ± Standard deviation, n=3/time point)					
	1 hr	2 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr
Epididymis	47.7 ± 5.71	63.6 ± 52.0	168 ± 35.7	85.1 ± 41.3	16.7 ± 16.02	7.46 ± 7.75
Fur/skin	13.7 ± 3.67	34.2 ± 24.2	38.5 ± 11.1	35.1 ± 17.0	32.8 ± 10.4	7.47 ± 2.17
Harderian gland	84.9 ± 40.1	108 ± 105	287 ± 37.5	110 ± 57.7	14.5*	BLQ
Kidney cortex	237 ± 123	249 ± 175	368 ± 158	239 ± 71.0	58.2 ± 42.1	13.3 ± 7.41
Kidney medulla	177 ± 94.7	162 ± 137	212 ± 65.6	99.2 ± 43.0	10.8 ± 13.1	5.72 ± 7.06
Large intestine contents	4535 ± 3115	7766 ± 3448	25571 ± 9365	44012 ± 23825	14338 ± 5056	1415 ± 845
Large intestine wall	304*	208 ± 176	588 ± 358	1277#	BLQ	BLQ
Liver	1744 ± 831	2838 ± 2621	3259 ± 422	1032 ± 133	368 ± 174	59.3 ± 15.9
Lung	162 ± 117	76.1 ± 77.9	163 ± 40.5	62.5 ± 19.3	BLQ	BLQ
Nasal mucosa	40.1 ± 12.8	38.1 ± 39.2	119 ± 67.6	48.3 ± 14.4	13.0 ± 2.53	12.0 ± 6.49
Pancreas	195 ± 29.4	267 ± 350	464 ± 188	327 ± 148	38.6 ± 11.3	6.88 ± 6.04
Pineal body	77.7 ± 40.4	86.7 ± 94.2	180 ± 75.2	58.4#	BLQ	BLQ
Pituitary gland	63.7 ± 35.2	75.8 ± 78.6	172 ± 58.5	92.5*	BLQ	BLQ
Preputial gland	185 ± 35.8	297 ± 157	391 ± 138	258 ± 132	153 ± 38.7	122 ± 9.61
Seminal vesicles	61.8*	98.9 ± 122	88.2 ± 9.00	60.9 ± 33.2	25.0#	BLQ
Skeletal muscle	31.6 ± 13.8	41.3 ± 33.8	62.3 ± 23.9	21.7 ± 12.9	BLQ	BLQ
Small intestine contents	19452 ± 27152	30235 ± 23635	34506 ± 30517	13092 ± 3924	4369 ± 1268	442 ± 152
Small intestine wall	537 ± 49.2	91.6 ± 51.6	2182#	959 ± 428	645#	BLQ
Spinal cord	49.8 ± 17.4	BLQ	153 ± 43.8	59.9 ± 32.9	BLQ	BLQ
Spleen	159 ± 70.9	114 ± 94.4	277 ± 87.0	84.4 ± 44.8	16.1 ± 5.36	6.98 ± 1.43

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Whole Body Phosphor Imaging in Male Albino and Pigmented Rat Following Multiple Oral Administration of [^{14}C]Ro330-0074/000

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1007312** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.1**
Report No. CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 **Location in CTD: Module 4.2.2.3.2**

Albino Rats	Tissue concentrations (ng equiv./g, Mean ± Standard deviation, n=3/time point)					
	1 hr	2 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr
Stomach contents	19565 ± 9514	30037 ± 36856	9349 ± 5054	7948 ± 9797	876 ± 1049	169 ± 116
Stomach wall	601 ± 350	547 ± 530	469 ± 13.5	313 ± 131	51.7 ± 34.3	10.9 ± 5.72
Submaxillary salivary gland	119 ± 48.7	129 ± 126	263 ± 126	105 ± 63.3	19.5 ± 7.14	9.54 ± 2.37
Testes	51.7 ± 9.36	101 ± 71.8	280 ± 68.6	181 ± 84.1	66.7 ± 30.16	13.9 ± 1.50
Thymus	64.9 ± 14.9	76.6 ± 36.6	151 ± 25.3	96.9 ± 46.4	41.8 ± 7.47	33.8 ± 3.13
Thyroid gland	98.1 ± 51.2	98.5 ± 105	162 ± 74.6	72.1 ± 43.2	BLQ	BLQ
Urine	NS	79.7 ± 118	7.49#	40.5#	9.93#	BLQ
White fat	42.6 ± 22.2	48.3 ± 26.4	101 ± 13.0	61.3 ± 19.1	39.9 ± 17.5	20.5 ± 1.07
Whole blood	64.6 ± 15.7	84.9 ± 62.7	95.8 ± 28.5	46.8 ± 22.7	8.89 ± 2.87	4.11 ± 0.76
Whole eye	BLQ	6.03 ± 6.63	10.7 ± 3.70	12.3 ± 6.32	BLQ	BLQ

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Whole Body Phosphor Imaging in Male Albino and Pigmented Rat Following Multiple Oral Administration of [^{14}C]Ro330-0074/000

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1007312** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.1**
Report No. CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 **Location in CTD: Module 4.2.2.3.2**

Pigmented rats	Tissue concentrations (ng equiv./g, n=1/ time point)					
	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
LOQ	8.35	7.52	9.45	4.07	3.75	17.69
Adrenal cortex	1441	1365	3529	1903	1748	1179
Adrenal medulla	932	544	1638	921	1258	533
Bone	10.3	BLQ	16.6	BLQ	BLQ	BLQ
Bone marrow	83.0	75.6	69.2	56.1	BLQ	BLQ
Brain	50.6	BLQ	BLQ	10.4	BLQ	BLQ
Brown fat	51.5	16.7	16.4	14.6	BLQ	BLQ
Caecum contents	38305	34636	1762	2005	9.31	25.2
Caecum wall	229	1278	191	116	BLQ	BLQ
Cardiac blood	44.8	12.0	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Cardiac muscle	89.7	15.9	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Epididymis	77.5	35.5	8.78	28.4	BLQ	BLQ
Fur/skin	27.1	87.6	27.7	25.4	4.46	BLQ
Harderian gland	146	18.0	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Kidney cortex	179	126	59.8	57.1	15.9	BLQ
Kidney medulla	83.6	66.9	10.1	11.9	10.8	BLQ
Large intestine contents	9126	23667	1874	3810	BLQ	BLQ
Large intestine wall	55.7	91.2	ND	ND	BLQ	BLQ
Liver	2343	1044	157	218	16.0	22.5

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Whole Body Phosphor Imaging in Male Albino and Pigmented Rat Following Multiple Oral Administration of [^{14}C]Ro330-0074/000

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1007312** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.1**
Report No. CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 **Location in CTD: Module 4.2.2.3.2**

Pigmented rats	Tissue concentrations (ng equiv./g, n=1/time point)					
	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
Lung	88.5	22.7	BLQ	10.7	BLQ	BLQ
Nasal mucosa	48.9	9.92	8.11	BLQ	BLQ	BLQ
Pancreas	526	104	BLQ	20.6	BLQ	BLQ
Pineal body	40.9	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Pituitary gland	52.7	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Preputial gland	158	101	90.1	67.4	44.6	BLQ
Seminal vesicles	74.7	8.82	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Skeletal muscle	17.5	9.34	BLQ	6.84	5.96	BLQ
Small intestine contents	21353	11253	1158	1311	BLQ	BLQ
Small intestine wall	266	ND	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Spinal cord	49.4	11.7	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Spleen	142	36.5	15.3	18.0	BLQ	BLQ
Stomach contents	4365	7169	6.49	1773	6.56	BLQ
Stomach wall	192	318	ND	115	BLQ	BLQ
Submaxillary salivary gland	86.1	16.4	12.8	21.0	BLQ	BLQ
Testes	142	95.1	42.6	35.2	19.3	31.0
Thymus	68.3	18.5	15.4	22.3	24.9	22.0
Thyroid gland	42.5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Urine	28.5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
White fat	24.3	12.0	10.5	21.2	9.78	18.9
Whole blood	49.4	18.0	3.96	8.01	1.41	0.99
Whole eye	15.4	BLQ	10.4	5.20	11.3	BLQ

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Whole Body Phosphor Imaging in Male Albino and Pigmented Rat Following Multiple Oral Administration of [^{14}C]Ro330-0074/000

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1007312** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.1**
Report No. CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 **Location in CTD: Module 4.2.2.3.2**

Albino Rats	PK Parameters							
	$AUC_{0\text{-last}}$ (ng equiv.•h/g)	C_{max} (ng equiv.•h/g)	T_{max} (h)	Tissue to Whole Blood Ratio				
				$AUC_{0\text{-last}}$	$AUC_{0\text{-24}}$	$AUC_{0\text{-48}}$	$AUC_{0\text{-96}}$	C_{max}
Adrenal cortex	86900	2400	4.00	73.6	47.7	73.6	N/A	25.3
Adrenal medulla	34500	1300	4.00	29.2	20.9	29.2	N/A	14.0
Bone	62.4	23.0	4.00	0.0528	0.106	0.0923	N/A	0.244
Bone marrow	3490	120	4.00	2.96	1.93	2.96	N/A	1.21
Brain	1050	150	4.00	0.891	1.00	0.891	N/A	1.52
Brown fat	3030	230	4.00	2.57	2.49	2.57	N/A	2.43
Caecum contents	537000	34000	4.00	455	443	455	N/A	351
Caecum wall	19800	1100	8.00	16.8	15.9	16.8	N/A	11.2
Cardiac blood	533	100	4.00	0.451	0.808	0.701	N/A	1.05
Cardiac muscle	1260	210	4.00	1.07	1.97	1.71	N/A	2.24
Epididymis	1930	170	4.00	1.64	1.60	1.64	N/A	1.76
Fur/skin	1290	39.0	4.00	1.09	0.782	1.09	N/A	0.403
Harderian gland	2340	290	4.00	1.98	2.28	2.13	N/A	3.01
Kidney cortex	5460	370	4.00	4.63	4.49	4.63	N/A	3.84
Kidney medulla	2340	210	4.00	1.98	2.09	1.98	N/A	2.22
Large intestine contents	837000	44000	8.00	709	632	709	N/A	460
Large intestine wall	5040	1300	8.00	4.27	NC	NC	N/A	13.4
Liver	34300	3300	4.00	29.1	28.5	29.1	N/A	34.1
Lung	1550	160	4.00	1.32	1.41	1.32	N/A	1.70
Nasal mucosa	1350	120	4.00	1.14	1.02	1.14	N/A	1.25
Pancreas	6140	460	4.00	5.20	5.46	5.20	N/A	4.86

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Whole Body Phosphor Imaging in Male Albino and Pigmented Rat Following Multiple Oral Administration of [^{14}C]Ro330-0074/000

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1007312** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.1**
Report No. CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 **Location in CTD: Module 4.2.2.3.2**

Albino Rats	PK Parameters							
	$AUC_{0\text{-last}}$ (ng equiv.•h/g)	C_{max} (ng equiv.•h/g)	T_{max} (h)	Tissue to Whole Blood Ratio				
				$AUC_{0\text{-last}}$	$AUC_{0\text{-24}}$	$AUC_{0\text{-48}}$	$AUC_{0\text{-96}}$	C_{max}
Pineal body	789	180	4.00	0.668	0.922	0.80	N/A	1.89
Pituitary gland	816	170	4.00	0.691	1.28	1.11	N/A	1.80
Preputial gland	8970	390	4.00	7.60	5.55	7.60	N/A	4.09
Seminal vesicles	1150	99.0	2.00	0.978	1.13	1.06	N/A	1.03
Skeletal muscle	538	62.0	4.00	0.455	0.497	0.455	N/A	0.651
Small intestine contents	394000	35000	4.00	334	328	334	N/A	361
Small intestine wall	23700	2200	4.00	20.1	23.2	NC	N/A	22.8
Spinal cord	720	150	4.00	0.61	1.17	1.02	N/A	1.60
Spleen	2420	280	4.00	2.05	2.09	2.05	N/A	2.89
Stomach contents	192000	30000	2.00	163	175	163	N/A	314
Stomach wall	7150	600	1.00	6.05	6.24	6.05	N/A	6.28
Submaxillary salivary gland	2670	260	4.00	2.26	2.26	2.26	N/A	2.75
Testes	4380	280	4.00	3.71	3.33	3.71	N/A	2.92
Thymus	2860	150	4.00	2.42	1.91	2.42	N/A	1.58
Thyroid gland	876	160	4.00	0.742	1.42	1.23	N/A	1.69
Urine	674	80.0	2.00	0.571	0.657	0.671	N/A	0.832
White fat	2090	100	4.00	1.77	1.34	1.77	N/A	1.06
Whole blood	1180	96.0	4.00	1.00	1.00	1.00	N/A	1.00
Whole eye	213	12.0	8.00	0.181	0.208	0.239	N/A	0.129

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Whole Body Phosphor Imaging in Male Albino and Pigmented Rat Following Multiple Oral Administration of [^{14}C]Ro330-0074/000

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1007312** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.1**
Report No. CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 **Location in CTD: Module 4.2.2.3.2**

Pigmented Rats	PK Parameters							
	$AUC_{0\text{-last}}$ (ng equiv.•h/g)	C_{max} (ng equiv.•h/g)	T_{max} (h)	Tissue to Whole Blood Ratio				
				$AUC_{0\text{-last}}$	$AUC_{0\text{-24}}$	$AUC_{0\text{-48}}$	$AUC_{0\text{-96}}$	C_{max}
Adrenal cortex	194000	3530	24.0	280	123	209	280	71.4
Adrenal medulla	102000	1640	24.0	146	57.1	97.8	146	33.2
Bone	174	16.6	24.0	0.250	0.425	0.675	0.537	0.336
Bone marrow	3280	83.0	4.00	4.73	4.35	5.94	5.70	1.68
Brain	327	50.6	4.00	0.471	0.495	0.592	0.651	1.02
Brown fat	909	51.5	4.00	1.31	1.31	1.64	1.56	1.04
Caecum contents	587000	38300	4.00	845	1260	1020	845	775
Caecum wall	19300	1280	8.00	27.8	38.1	34.9	29.8	25.9
Cardiac blood	203	44.8	4.00	0.292	0.731	0.541	0.431	0.907
Cardiac muscle	391	89.7	4.00	0.562	1.27	0.936	0.745	1.82
Epididymis	1200	77.5	4.00	1.73	1.84	2.17	2.22	1.57
Fur/skin	2260	87.6	8.00	3.25	3.08	3.43	3.32	1.77
Harderian gland	620	146	4.00	0.892	1.87	1.38	1.10	2.96
Kidney cortex	4850	179	4.00	6.98	6.29	7.19	7.26	3.62
Kidney medulla	1640	83.6	4.00	2.36	2.70	2.47	2.55	1.69
Large intestine contents	356000	23700	8.00	513	704	645	579	479
Large intestine wall	517	91.2	8.00	0.744	4.36	5.14	4.94	1.85
Liver	29200	2340	4.00	42.00	52.2	46.8	42.0	47.4
Lung	709	88.5	4.00	1.02	1.42	1.28	1.21	1.79
Nasal mucosa	376	48.9	4.00	0.541	0.918	0.856	0.681	0.99
Pancreas	3390	526	4.00	4.88	7.68	6.13	5.24	10.6

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Whole Body Phosphor Imaging in Male Albino and Pigmented Rat Following Multiple Oral Administration of [^{14}C]Ro330-0074/000

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1007312** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.1**
Report No. CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 **Location in CTD: Module 4.2.2.3.2**

Pigmented Rats	PK Parameters							
	$AUC_{0\text{-last}}$ (ng equiv.•h/g)	C_{max} (ng equiv.•h/g)	T_{max} (h)	Tissue to Whole Blood Ratio				
				$AUC_{0\text{-last}}$	$AUC_{0\text{-24}}$	$AUC_{0\text{-48}}$	$AUC_{0\text{-96}}$	C_{max}
Pineal body	81.8	40.9	4.00	0.118	0.40	0.296	0.235	0.828
Pituitary gland	105	52.7	4.00	0.152	0.515	0.381	0.303	1.07
Preputial gland	5780	158	4.00	8.32	6.21	8.02	9.09	3.20
Seminal vesicles	316	74.7	4.00	0.455	0.946	0.70	0.557	1.51
Skeletal muscle	399	17.5	4.00	0.574	0.399	0.444	0.677	0.354
Small intestine contents	239000	21400	4.00	344	512	433	367	432
Small intestine wall	532	266	4.00	0.766	7.80	5.77	4.59	5.38
Spinal cord	221	49.4	4.00	0.318	0.769	0.569	0.453	1.00
Spleen	1490	142	4.00	2.14	2.65	2.69	2.45	2.87
Stomach contents	132000	7170	8.00	190	218	200	190	145
Stomach wall	10400	318	8.00	15.0	14.7	18.9	17.0	6.44
Submaxillary salivary gland	1040	86.1	4.00	1.50	1.55	1.88	1.86	1.74
Testes	4140	142	4.00	5.95	4.75	5.21	5.95	2.87
Thymus	2190	68.3	4.00	3.16	1.50	1.93	3.16	1.38
Thyroid gland	85.0	42.5	4.00	0.122	0.415	0.307	0.245	0.86
Urine	57.0	28.5	4.00	0.082	0.279	0.206	0.164	0.577
White fat	1420	24.3	4.00	2.04	0.787	1.27	2.04	0.492

2.6.5.5 薬物動態試験：分布（続き）

Study Title: Whole Body Phosphor Imaging in Male Albino and Pigmented Rat Following Multiple Oral Administration of [^{14}C]Ro330-0074/000

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1007312** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.1**
Report No. CLEM-NCA-PALOVAROTENE-1270 **Location in CTD: Module 4.2.2.3.2**

Pigmented Rats	PK Parameters							
	$AUC_{0\text{-last}}$ (ng equiv.•h/g)	**C_{max} (ng equiv.•h/g)**	**T_{max} (h)**	**Tissue to Whole Blood Ratio**				
				$AUC_{0\text{-last}}$	**$AUC_{0\text{-24}}$**	**$AUC_{0\text{-48}}$**	**$AUC_{0\text{-96}}$**	**C_{max}**
Whole blood	695	49.4	4.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Whole eye	530	15.4	4.00	0.763	0.354	0.600	0.958	0.312

#=value obtained from 1 sample, *=obtained from 2 samples
^{14}C=carbon-14; AUC=area under the concentration versus time curve; $AUC_{0\text{-24}}$=AUC from time 0 to 24 hours post-dose; $AUC_{0\text{-48}}$=AUC from time 0 to 48 hours post-dose; $AUC_{0\text{-96}}$=AUC from time 0 to 96 hours post-dose; $AUC_{0\text{-last}}$=AUC from time zero to the last concentration above the limit of quantification; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT= butylated hydroxytoluene; BLQ=below limit of quantification; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; equiv=equivalent; F=female; LOQ=limit of quantification; M=male; N/A=not applicable; No.=number; NS=no sample was on the tissue section; Ro330-0074/000=palovarotene; T_{max}=time of maximum plasma concentration.

2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合

Study Title: In Vitro Plasma Protein Binding of [^{14}C]-RO3300074-000 in Human, Dog, Monkey, Rat, and Mouse (CL 7277)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1008422** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.3**

Study system: Unlabeled palovarotene and [^{14}C]-palovarotene was added to each plasma to obtain the specified concentration (6-1000 ng/mL). Then, these sample were incubated at 37°C for 0.5 hour. After the incubation, sample were transferred to charcoal-containing test tubes and incubated at 4°C. Consistently decant the supernatant from the tubes into vials, then measured radioactivity by liquid scintillation counter.

Species	Concentration tested (ng/mL)	% Bound
Mouse (n=4)	6	96.7
	40	98.3
	200	98.5
	1000	—
Rat (n=4)	6	97.8
	40	99.8
	200	98.5
	1000	96.3
Dog (n=4)	6	96.9
	40	96.8
	200	98.3
	1000	98.2
Monkey (n=4)	6	100
	40	99.7
	200	97.1
	1000	—

2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合（続き）

Study Title: In Vitro Plasma Protein Binding of [^{14}C]-RO3300074-000 in Human, Dog, Monkey, Rat, and Mouse (CL 7277)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene	**Report No. 1008422**	**Location in CTD: Module 4.2.2.3.3**
Species	**Concentration tested (ng/mL)**	**% Bound**
Human (n=4)	6	97.9
	40	99.3
	200	99.4
	1000	99.6

Additional Information: n=2 for 1000 ng/mL concentration.

—=not reported; ^{14}C=carbon-14; CTD=common technical document; No.=number; RO3300074-000=palovarotene.

2.6.5.7　　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当する試験はない。

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8A 血球移行性

Study Title: In Vitro Determination of Blood-to-Plasma Concentration Ratios in Human, Dog, Monkey, Rat and Mouse (CL 7278)

Test Article: Palovarotene, [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1008425** **Location in CTD: Module 4.2.2.3.4**

Test system: Palovarotene or [^{14}C]-palovarotene was added to each blood to obtain the specified concentration (100 and 1000 ng/mL, n=2). These sample were incubated for 30 minutes at 37°C. After the centrifugation to separate blood and plasma, the concentration in blood and plasma was measured.

	Mean Blood-to-Plasma Ratio[1]		
Species	**Male**	**Female**	**Mean**
Mouse	0.46	0.57	0.52
Rat[2]	0.69[2]	0.56	0.63
Dog	0.59	0.53	0.56
Monkey	0.54	0.49	0.52
Human	0.62	0.61	0.62

1 Mean blood to plasma ratio at 100 and 1000 ng/mL palovarotene.
2 Male rats only. Determined with [^{14}C]-palovarotene with liquid scintillation counting for quantification for rat plasma. All other determinations were obtained by the use of non-radiolabeled palovarotene with mass spectrometry quantification.
^{14}C=carbon-14; CTD=common technical document; No.=number.

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

2.6.5.9A *In Vivo* 代謝：ラット

Study Title: Metabolic Disposition of [^{14}C]-RO3300074-000 after Administration of Single Oral Doses to Intact or Bile Duct-Cannulated Male Rats (AT 7767)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene	**Report No. 1008705**	**Location in CTD: Module 4.2.2.5.1**
Species	Wistar rat (Bile-duct cannulated, Intact)	
Feeding condition	Fed	
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT	
Method of Administration	Oral gavage	
Dose (mg/kg)	2	
Radionuclide	Carbon-14	
Specific Activity	110.3 mCi/mmol	
Sample	Plasma, bile	
Sampling point	Plasma: 0.5, 1, 3, 5, 7 hrs Bile: 0-1, 1-2, 2-4, 4-8, 8-24, 24-48 hrs	
Assay	Liquid chromatography and quantified by a continuous-flow radiometric detector	
Gender (M/F) / Number of animals	5M/0F	5M/0F

	Structural Assignment	**Rat, Intact**	**Rat, Bile Duct-Cannulated**
		% Plasma AUC_{0-7}	**Biliary Recovery % Dose[1] 0-48 h**
Total Radioactivity	Equivalents of [^{14}C]-Palovarotene	100	57.0
Metabolite 6R	G and T of Metabolites 2/3	0.0686	11.5
Metabolite 5	G of Parent	8.12	7.51
Metabolite 8	Unknown	—	5.52
Metabolite 11	Unknown	1.12	3.56
Metabolite 4	6-/7-oxo-Parent	5.62	3.48
Metabolite 9	G of Metabolite 2	—	3.22
Metabolite 7R	T of Metabolites 2 and 3	—	2.25
Metabolite 10	Unknown	1.15	1.89

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

2.6.5.9A *In Vivo* 代謝：ラット

Study Title: Metabolic Disposition of [^{14}C]-RO3300074-000 after Administration of Single Oral Doses to Intact or Bile Duct-Cannulated Male Rats (AT 7767)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene		**Report No. 1008705**	**Location in CTD: Module 4.2.2.5.1**
	Structural Assignment	**Rat, Intact**	**Rat, Bile Duct-Cannulated**
		% Plasma AUC_{0-7}	**Biliary Recovery % Dose[1] 0-48 h**
Metabolite 3	7-hydroxy-Parent	—	0.928
Palovarotene	Parent	66.1	0.803
Metabolite 7a	Unknown	—	0.498
Metabolite 2	6-hydroxy-Parent	—[2]	0.307
Metabolite 15	T of Parent	—	0.297
Metabolite 2 and 3[2]	6-/7-hydroxy-Parent	7.56	—
All other metabolites	Non discrete, low level peaks	5.15	15.3 (27% of total)
Total conjugates		8.19	24.8 (43.5% of total)

Additional Information: Metabolites are presented in rank order based on the mean amount recovered in bile.

[1] Administered dose.
[2] Evidence for two fused chromatographic peaks.

—=not present; ^{14}C=carbon-14; AUC_{0-7}=area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 7 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CTD=common technical document; F=female; G=β-glucuronide conjugate; M=male; No.=number; RO3300074-000=palovarotene; R=metabolite found only in rat; T=taurine conjugate.

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*（続き）

2.6.5.9B *In Vivo* 代謝：イヌ

Study Title: Metabolic Disposition of [^{14}C]-RO3300074-000 after Administration of Single Oral Doses to Intact or Bile Duct-Cannulated Female Beagle Dogs (AT 7771)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene	**Report No. 1008692**	**Location in CTD: Module 4.2.2.5.2**
Species	Beagle dogs (Bile duct-cannulated, Intact)	
Feeding condition	Fed	
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT	
Method of Administration	Oral gavage (capsule)	
Dose (mg/kg)	0.2	
Radionuclide	Carbon-14	
Specific Activity	110.3 mCi/mmol	
Sample	Plasma, bile	
Sampling point	Plasma: 0.25, 0.5, 1, 3, 5, 7, 10, 24, 30 hrs Bile: 0-4, 4-8, 8-24, 24-48, 48-72 hrs	
Assay	Liquid chromatography and quantified by a continuous-flow radiometric detector	
Gender (M/F) / Number of animals	0M/4F	0M/3F

	Structural Assignment	**Dog, Intact**	**Dog, Bile Duct-Cannulated**	
		% Plasma AUC_{0-30}	**% Plasma AUC_{0-30}**	**Biliary Recovery % Dose[1] 0-72 h**
Total Radioactivity	Equivalents of [^{14}C]-Palovarotene	100	100	46.2
Metabolite 11[2]	Unknown	—	—	10.6
Metabolite 13[2]	G of Metabolite 17	—	—	4.49
Metabolite 9	G of Metabolite 2	—	—	4.93
Metabolite 12[2]	G of unknown	—	—	3.46
Metabolite 8[2]	Unknown	—	—	2.99
Metabolite 16[2]	Unknown	—	—	2.97
Metabolite 15	T of Parent	1.13	0.0693	2.88

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*（続き）

2.6.5.9B *In Vivo* 代謝：イヌ（続き）

Study Title: Metabolic Disposition of [^{14}C]-RO3300074-000 after Administration of Single Oral Doses to Intact or Bile Duct-Cannulated Female Beagle Dogs (AT 7771)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1008692** **Location in CTD: Module 4.2.2.5.2**

	Structural Assignment	**Dog, Intact**	**Dog, Bile Duct-Cannulated**	
		% Plasma AUC_{0-30}	**% Plasma AUC_{0-30}**	**Biliary Recovery % Dose[1] 0-72 h**
Metabolite 10[2]	Unknown	—	—	2.17
Metabolite 6D[2]	Bis G of Metabolite	0.337	0.0757	2.15
Metabolite 5	G of Parent	—	—	2.01
Metabolite 14	Unknown	—	—	1.26
Palovarotene	Parent	88.6	85.4	1.22
Metabolite 4	6- and 7-oxo-Parent	8.74	7.51	1.22
Metabolite 7D	G of unknown	—	—	1.13
Metabolite 2	6-hydroxy-Parent	0.395	1.67	0.436
Metabolite 3	7-hydroxy-Parent	0.0760	0.932	0.343
Metabolite 17	Hydroxy-Parent	—	—	—
All Other Metabolites	Non-discrete, low level peaks	0.412	0.978	1.95 (4.22% of total)
Conjugates		1.47	0.145	21.0 (45.5% of total)

Additional Information: Metabolites are presented in rank order based on the mean amount recovered in bile.

[1] Administered dose.
[2] Evidence for two fused chromatographic peaks.

—=not present; ^{14}C=carbon-14; AUC_{0-30}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 30 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CTD=common technical document; D=metabolite found only in dog; F=female; G=β-glucuronide conjugate; M=male; No.=number; RO3300074-000=palovarotene; T=taurine conjugate.

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

2.6.5.10A *In Vitro* 代謝

Study Title: In Vitro Metabolism of RO3300074-000 with Rat, Mouse, Dog, Monkey, and Human Hepatic Microsomal Protein, and with Rat, Dog, Monkey, and Human Cryopreserved Hepatocytes (CL 7280)

Test Article: Palovarotene **Report No. 1008691** **Location in CTD: Module 4.2.2.4.1**

Concentration: 20 µmol/L

Method: Incubation with hepatic microsomal proteins (2 mg/mL) and NADPH

Time	Species	% Transformation (Parent Equivalent)					
		Palovarotene	M1	M2	M3	M4	% Recovery[1]
60 minutes	Mouse (BALB/c)	68.5	3.01	22.0	15.9	25.3	97.7
	Mouse (CD-1)	25.3	1.03	4.18	4.06	1.09	85.1
	Rat (Wistar)	40.6	—	16.6	9.08	4.13	89.2
	Dog (Beagle)	25.5	—	24.9	2.64	2.08	104
	Monkey (Cynomolgus)	50.4	—	21.7	10.2	9.42	90.9
	Human	89.1	2.53	16.1	8.11	38.2	75.8

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*（続き）

2.6.5.10A *In Vitro* 代謝（続き）

Study Title: In Vitro Metabolism of RO3300074-000 with Rat, Mouse, Dog, Monkey, and Human Hepatic Microsomal Protein, and with Rat, Dog, Monkey, and Human Cryopreserved Hepatocytes (CL 7280)

Test Article: Palovarotene **Report No. 1008691** **Location in CTD: Module 4.2.2.4.1**

Concentration: 20 µmol/L

Method: Incubation with cryopreserved hepatocytes[2]

Time	Species	% Transformation (Parent Equivalent)						
		Palovarotene	M1	M2	M3	M4	M5	% Recovery[1]
6 hours	Rat (Sprague-Dawley)	12.8	0.217	3.47	3.14	0.769	0.271	95.1
	Dog (Beagle)	22.7	0.941	12.9	3.45	2.15	1.08	97.8
	Monkey (Cynomolgus)[3]	60.3	1.03	14.4	23.7	6.63	0.119	90.8
	Human[4]	43.4 (4.40)	0.729 (0.456)	14.1 (5.32)	12.8 (4.12)	11.7 (5.39)	0.568 (0.285)	96.4 (14.5)

1 % Recovery = (100 - % transformation of parent) + sum of metabolites (M1-M4 for microsome, M1-M5 + unknown metabolite for hepatocytes).
2 Same metabolites as detected in microsomes, plus a β-glucuronide of parent drug (M5). The relative rates of β-glucuronide formation over a 5-hour period incubation of palovarotene (20 µmol/L) and UDPGA in liver microsomes from Hanover-Wister rat, CD-1 mouse, Balb/C mouse, human, cynomolgus monkey and beagle dog were 82.4%, 60.7%, 47.5%, 30.1%, 15.9% and 11.4%, respectively.
3 Unknown metabolite in monkey accounting for 5.25% transformation.
4 N=3, mean (standard deviation).
—=not present; CTD=common technical document; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4=6-oxo and 7-oxo metabolite of palovarotene; M5=carboxyl β-glucuronide of palovarotene; NADPH=nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form; No.=number; RO3300074-000=palovarotene; UDPGA=uridine 5'-diphospho-glucuronic acid.

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*（続き）

2.6.5.10B CYP 分子種同定

Study Title: In Vitro Biotransformation of RO3300074-000 in Humans: Identification of Isoforms of Cytochrome P-450 Responsible for Metabolism and Inhibition Kinetics of Ketoconazole, Midazolam, and Erythromycin in Human Hepatic Microsomes (CL 7279)

Test Article: Palovarotene **Report No. 1008690** **Location in CTD: Module 4.2.2.4.2**

Concentration: 20 µmol/L

Study system: Incubation with recombinant human CYP isoforms (1A2, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4; 2 mg/mL) and NADPH

Analyte: Palovarotene

CYP isoform:	**3A4**				**2C8**				**2C19**			
Time (min)	10	20	30	60	10	20	30	60	10	20	30	60
Concentration (µmol/L)	7.83	2.84	1.40	0.381	20.0	21.8	20.6	19.2	20.0	19.5	19.0	17.2
Transformation (%)	61.0	85.8	93.0	98.1	0	-9.00	-3.00	4.00	0	2.50	5.00	14.0

Additional Information: No biotransformation was observed when palovarotene was incubated with isoforms 1A2, 2C9, and 2D6.

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*（続き）

2.6.5.10B CYP 分子種同定（続き）

Study Title: In Vitro Biotransformation of RO3300074-000 in Humans: Identification of Isoforms of Cytochrome P-450 Responsible for Metabolism and Inhibition Kinetics of Ketoconazole, Midazolam, and Erythromycin in Human Hepatic Microsomes (CL 7279)

Test Article: Palovarotene **Report No. 1008690** **Location in CTD: Module 4.2.2.4.2**

Concentration: 20 µmol/L

Method: Incubation with recombinant human CYP3A4 (2 mg/mL) and NADPH

		Incubation Time (min)				
Analyte		**0**	**10**	**20**	**30**	**60**
Palovarotene	Concentration (µmol/L)	20.0	10.0	4.50	2.40	0.500
	Transformation (%)	0.00	50.1	77.6	87.9	97.6
M1	Concentration (µmol/L)	0.020	0.160	0.480	0.600	0.960
	Transformation (%)	0.100	0.810	2.42	3.00	4.81
Combined M2 and M3	Concentration (µmol/L)	0.270	9.36	9.52	9.65	6.04
	Transformation (%)	1.33	46.8	47.6	48.2	30.2
Combined M4a and M4b	Concentration (µmol/L)	0.0300	3.02	5.91	8.71	12.9
	Transformation (%)	0.200	15.1	29.5	43.5	64.6

Additional Information: % Parent remaining=2.40, % total metabolite=99.6%

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*（続き）

2.6.5.10B CYP 分子種同定（続き）

Study Title: In Vitro Biotransformation of RO3300074-000 in Humans: Identification of Isoforms of Cytochrome P-450 Responsible for Metabolism and Inhibition Kinetics of Ketoconazole, Midazolam, and Erythromycin in Human Hepatic Microsomes (CL 7279)

Test Article: Palovarotene **Report No. 1008690** **Location in CTD: Module 4.2.2.4.2**

Method: Before the inhibition study, K_m and V_{max} of palovarotene for CYP3A4 were calculated with human liver microsomes (2 mg/mL). K_m and V_{max} were determined 59 µmol/L and 1.97 nmol/min/mg, respectively. Then, the inhibition study was performed. Human liver microsomes (2 mg/mL) were incubated with palovarotene, CYP3A4 inhibitors and NADPH. In the inhibition study, concentration of palovarotene ranged from 2 to 50 µmol/L for ketoconazole, 1 to 50 µmol/L for midazolam and erythromycin. The concentration on inhibitors were 0.1 to 0.6 µmol/L for ketoconazole, 5 to 50 µmol/L for midazolam, and 5 to 75 µmol/L for erythromycin.

	Average K_i (µmol/L) (Standard deviation)
Ketoconazole	0.184 (0.0483)
Midazolam	37.5 (5.92)
Erythromycin	64.6 (5.99)

CTD=common technical document; CYP=cytochrome P450; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; K_i=inhibition constant; K_m=Michaelis constant; NADPH=nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form; No.=number; RO3300074-000=palovarotene; V_{max}=maximum initial velocity in the absence of inhibitor.

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*（続き）

2.6.5.10C CYP 分子種同定

Study Title: Study to Investigate the *in vitro* Metabolic Stability of CLM-001 in a Cytochrome P450 Reaction Phenotyping Assay					
Test Article: Palovarotene	**Report No. CYP1933_04**			**Location in CTD: Module 4.2.2.4.3**	
Concentration: 20 µmol/L					
Study system: Incubation with recombinant human CYP2B6 bactosomes (25 pmol/L) and NADPH					
Analyte: Palovarotene					
CYP isoform:			**2B6 (n=3, Mean)**		
Time (min)	0	10	20	40	60
Parent Remaining (%)	100	96.0	107	121	124

CLM-001=palovarotene; CTD=common technical document; CYP=cytochrome P450; NADPH=nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form; No.=number.

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*（続き）

2.6.5.10D UGT 分子種同定

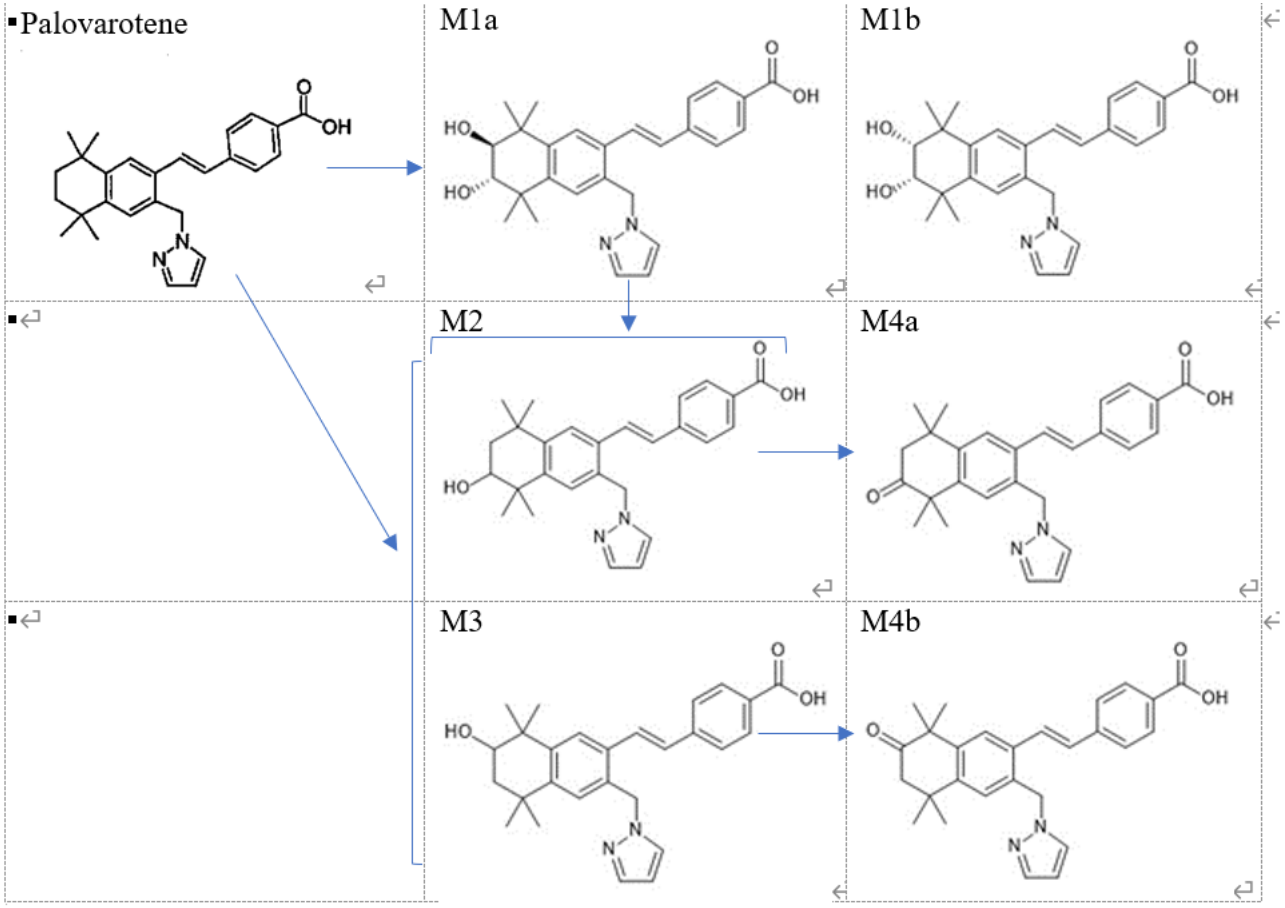
Study Title: UGT Reaction Phenotyping of IPN60120										
Test Article: Palovarotene			**Report No. CYP1558 R2A**					**Location in CTD: Module 4.2.2.4.4**		
Concentration: 20 µmol/L										
Study system: Incubation with cDNA expressed human UGT enzyme preparations, alamethicin and UDPGA										
Analyte: Palovarotene										
UGT isoform:			**UGT1A1**					**UGT1A3**		
Time (min)	0	10	20	40	60	0	10	20	40	60
Parent Remaining (%)	100	93.7	81.9	96.8	85.4	100	95.8	94.9	98.5	88.9
UGT isoform:			**UGT1A4**					**UGT1A6**		
Time (min)	0	10	20	40	60	0	10	20	40	60
Parent Remaining (%)	100	93.4	91.0	99.9	73.7	100	102	85.9	86.1	75.6
UGT isoform:			**UGT1A9**					**UGT2B7**		
Time (min)	0	10	20	40	60	0	10	20	40	60
Parent Remaining (%)	100	101	93.9	100	91.9	100	93.8	91.4	87.9	82.8
UGT isoform:			**UGT2B15**							
Time (min)	0	10	20	40	60					
Parent Remaining (%)	100	96.9	92.8	92.2	87.9					

cDNA=complimentary deoxyribonucleic acid; CTD=common technical document; IPN60120=palovarotene; No.=number; UDPGA=uridine 5'-diphospho-glucuronic acid; UGT=uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.
n=3, mean

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

Report No. 1008691, 1008692, 1008705

The metabolic profile is qualitatively but not quantitatively similar across all species. Palovarotene is metabolized to the oxidative metabolites M1a and M1b (6,7-hydroxy, mixture of diastereomers), M2 (6-hydroxy) and M3 (7-hydroxy) which are then further metabolized to M4a (6-oxo) and M4b (7-oxo). Parent and metabolites are further metabolized into glucuronide conjugates.



2.6.5.12　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.15 項に記載した。

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13A 排泄：ラット

Study Title: Metabolic Disposition of [^{14}C]-RO3300074-000 after Administration of Single Oral Doses to Intact or Bile Duct-Cannulated Male Rats (AT 7767)		
Test Article: [^{14}C]-Palovarotene	**Report No. 1008705**	**Location in CTD: Module 4.2.2.5.1**
Species	Wistar rat (Intact, BD-C)	
Gender (M/F)/Number of animals	5M/0F	
Feeding condition	Fed	
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT	
Method of Administration	Oral gavage	
Dose (mg/kg)	2	
Radionuclide	Carbon-14	
Specific Activity	110.3 mCi/mmol	
Sample	Plasma, bile, urine, feces, cage wash, carcass	
Sampling point	Blood (Intact): Pre, 0.5, 1, 3, 5, 7, 24, 30, 48, 72, 96, 120, 144, 168 hrs Blood and carcass (BD-C): 48 hrs Urine (Intact): Pre, 0-4, 4-8, 8-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hrs Urine (BD-C): Pre, 0-4, 4-8, 8-24, 24-48 hrs Feces (Intact): Pre, 0-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hrs Feces (BD-C): Pre, 0-24, 24-48 hrs Bile (BD-C): Pre, 0-1, 1-2, 2-4, 4-8, 8-24, 24-48 hrs Cage wash (Intact): Pre, 0-4, 4-8, 8-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hrs Cage wash (BD-C): Pre, 0-4, 4-8, 8-24, 24-48 hrs	
Assay	Liquid scintillation counting	

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄（続き）

2.6.5.13A 排泄：ラット（続き）

Study Title: Metabolic Disposition of [^{14}C]-RO3300074-000 after Administration of Single Oral Doses to Intact or Bile Duct-Cannulated Male Rats (AT 7767)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1008705** **Location in CTD: Module 4.2.2.5.1**

Time (hrs)	Rat (Intact) (% of administered dose)			
	Urine	Feces	Cage wash	Total
0-4	0.0248 ± 0.0192	81.2 ± 33.2[1]		
4-8	0.0598 ± 0.0568	NS		
8-24	0.0524 ± 0.0246	NS		
24-48	0.0327 ± 0.0243	12.6 ± 17.5		
48-72	0.0217 ± 0.0227	6.91 ± 15.0		
72-96	0.0138 ± 0.0158	0.425 ± 0.841		
96-120	0.0116 ± 0.0162	0.111 ± 0.142		
120-144	0.00998 ± 0.0154	0.0377 ± 0.0149		
144-168	0.00738 ± 0.0112	0.0771 ± 0.0500		
0-168	0.234 ± 0.112	101 ± 3.70	0.148 ± 0.0833	102 ± 3.65

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄（続き）

2.6.5.13A 排泄：ラット（続き）

Study Title: Metabolic Disposition of [^{14}C]-RO3300074-000 after Administration of Single Oral Doses to Intact or Bile Duct-Cannulated Male Rats (AT 7767)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene **Report No. 1008705** **Location in CTD: Module 4.2.2.5.1**

Time (hrs)	Rat (BD-C) (% of administered dose)					
	Urine	Feces	Bile	Cage wash	Carcass	Total
0-1	0.0576 ± 0.0316[2]	14.1 ± 8.62[1]	0.0644 ± 0.0778			
1-2	NS	NS	1.02 ± 1.13			
2-4	NS	NS	4.90 ± 3.77			
4-8	0.370 ± 0.603	NS	18.4 ± 10.9			
8-24	0.127 ± 0.0663	NS	25.7 ± 7.03			
24-48	0.182 ± 0.295	12.0 ± 1.92	8.62 ± 10.5			
0-48	0.736 ± 0.915	26.1 ± 8.39	57.0 ± 4.26	0.169 ± 0.189	10.4 ± 11.0	94.4 ± 6.83

1 0-24 hrs
2 0-4 hrs
^{14}C=carbon-14; BD-C=bile duct cannulated; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CTD=common technical document; F=female; M=male; No.=number; NS=No sample; RO3300074-000=palovarotene.

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄（続き）

2.6.5.13B 排泄：イヌ

Study Title: Metabolic Disposition of [^{14}C]-RO3300074-000 after Administration of Single Oral Doses to Intact or Bile Duct-Cannulated Female Beagle Dogs (AT 7771)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene	**Report No. 1008692**	**Location in CTD: Module 4.2.2.5.2**
Species	Beagle dog (Intact, BD-C)	
Gender (M/F) / Number of animals	0M/4F (Intact), 0M/3F (BD-C)	
Feeding condition	Fed	
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT	
Method of Administration	Oral gavage (capsule)	
Dose (mg/kg)	0.2	
Radionuclide	Carbon-14	
Specific Activity	110.3 mCi/mmol	
Sample	Plasma, bile, urine, feces, cage wash	
Sampling point	Blood: Pre, 0.25, 0.5, l, 3, 5, 7, 10, 24, 30, 48, 72, 96, 120, 144, 168 hrs Urine: Pre, 0-4, 4-8, 8-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hrs Feces: Pre, 0-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hrs Bile (BD-C only): Pre, 0-4, 4-8, 8-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hrs Cage wash: Pre, 0-4, 4-8, 8-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 hrs	
Assay	Liquid scintillation counting	

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄（続き）

2.6.5.13B 排泄：イヌ（続き）

Study Title: Metabolic Disposition of [^{14}C]-RO3300074-000 after Administration of Single Oral Doses to Intact or Bile Duct-Cannulated Female Beagle Dogs (AT 7771)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene	**Report No. 1008692**		**Location in CTD: Module 4.2.2.5.2**	
Time (hrs)	Dog (Intact) (% of administered dose)			
	Urine	Feces	Cage wash	Total
0-4	0.00825 ± 0.0102	70.4 ± 23.2[1]		
4-8	0.0806 ± 0.0584	NS		
8-24	0.227 ± 0.0947	NS		
24-48	0.117 ± 0.0567	16.5 ± 21.8		
48-72	0.0682 ± 0.0129	11.2 ± 2.53	NS	NS
72-96	0.0274 ± 0.0113	1.79 ± 1.29		
96-120	0.0134 ± 0.0045	0.430 ± 0.169		
120-144	0.0081 ± 0.00682	0.182 ± 0.0633		
144-168	0.00423 ± 0.00488	0.0798 ± 0.0356		
0-168	0.554 ± 0.109	101 ± 3.87	0.255 ± 0.0907	102 ± 3.81

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄（続き）

2.6.5.13B 排泄：イヌ（続き）

Study Title: Metabolic Disposition of [^{14}C]-RO3300074-000 after Administration of Single Oral Doses to Intact or Bile Duct-Cannulated Female Beagle Dogs (AT 7771)

Test Article: [^{14}C]-Palovarotene	**Report No. 1008692**		**Location in CTD: Module 4.2.2.5.2**		
Time (hrs)	Dog (BD-C) (% of administered dose)				
	Urine	Feces	Bile	Cage wash	Total
0-4	BLQ	5.03 ± 4.78[1]	0.855 ± 0.754		
4-8	0.0448 ± 0.0346	NS	3.95 ± 2.63		
8-24	0.0782 ± 0.0506	NS	17.3 ± 3.2		
24-48	1.17 ± 0.929	29.3 ± 15.0	18.3 ± 5.78		
48-72	0.587 ± 0.793	4.47 ± 2.02	5.43 ± 5.23	NS	NS
72-96	0.238 ± 0.382	7.52 ± 11.4	1.31 ± 1.18		
96-120	0.251 ± 0.414	0.152 ± 0.127	0.412 ± 0.534		
120-144	0.00451 ± 0.000191	0.126 ± 0.184	0.170 ± 0.111		
144-168	BLQ	0.056 ± 0.0787	0.0684 ± 0.0301		
0-168	2.34 ± 2.42	46.7 ± 6.59	47.8 ± 9.17	0.285 ± 0.374	97.1 ± 0.778

1 0-24 hrs

^{14}C=carbon-14; BD-C=bile duct cannulated; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; BLQ=below limit of quantification; CTD=common technical document; F=female; M=male; No.=number; NS=no sample; RO3300074-000=palovarotene.

2.6.5.14　　薬物動態試験：排泄：胆汁中

2.6.5.13 項に記載した。

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15A CYP 阻害

Study Title: In Vitro Inhibition of the Major Human Hepatic Cytochrome P-450s by RO3300074-000 and its Metabolites (CL 7275)

Study to Investigate the Potential of the Test Article CLM-001 to Inhibit CYP2B6 in a Direct Inhibition Assay

Test Article: Palovarotene **Report No. 1008423, CYP1933_05** **Location in CTD: Module 4.2.2.6.1, Module 4.2.2.6.2**

Method: Each recombinant CYP isoform was incubated with probe substrates, palovarotene and NADPH (generating system) for specified time at 37°C. Except for CYP2B6, the concentration of palovarotene in incubation mixture ranged from 0.0046 to 10 µmol/L. After the initial assay, CYP1A2, 2D6, 2C8 and 3A4 were tested again at palovarotene concentrations ranged from 1 to 100 µmol/L. For CYP2B6, incubation with human liver microsomes and CYP2B6-specific probe substrate. The concentration of palovarotene in incubation mixture ranged from 0.1 to 100 µmol/L.

	IC_{50} (µmol/L)						
CYP Isoform	**1A2**	**2C8**	**2C9**	**2C19**	**2D6**	**3A4**	**2B6**
Palovarotene	>100	4.7	8.1	7.9	>100	>100	55.9

Positive controls: CYP1A2=furafylline; CYP2B6=ticlopidine; CYP2C8=quercetin; CYP2C9=sulfaphenazole; CYP2C19=tranylcypromine; CYP2D6=quinidine; CYP3A4=ketoconazole.
Probe substrates: CYP1A2 and CYP2C19=3-cyano-7-ethoxycoumarin; CYP2B6=bupropion; CYP2C9=7-methoxy-4-trifluoromethylcoumarin; CYP2C8=dibenzylfluorescein; CYP2D6=(3-[2-(N,N-diethyl-N-methylarnmonium)ethyl]-7-methoxy-4-methyl-coumarin; CYP3A4=7-Benzyloxy-4-(trifluoromethyl)-coumarin.
CLM-001=palovarotene; CTD=common technical document; CYP=cytochrome P450; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; NADPH=nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form; No.=number; RO3300074-000=palovarotene.

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

2.6.5.15B UGT 阻害

Study Title: Inhibition of UGT Enzymes by IPN60120

Test Article: Palovarotene **Report No. CYP1558 R2B** **Location in CTD: Module 4.2.2.6.3**

Method: Each cDNA expressed human UGT enzyme preparations was incubated with alamethicin, UDPGA and UGT isoform-specific probe substrate for specified time at 37°C. The concentration of palovarotene in incubation mixture ranged from 0.05 to 50 µmol/L. All compounds were incubated in triplicate.

	IC_{50} (µmol/L)					
UGT Isoform	**UGT1A1**	**UGT1A3**	**UGT1A4**	**UGT1A6**	**UGT1A9**	**UGT2B7**
Palovarotene	3.90	21.3	1.98	21.8	4.76	20.1

Positive controls: UGT1A1=atanazavir; UGT1A3=quinidine; UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B7=diclofenac.
Probe substrates: UGT1A1=estradiol; UGT1A3=sulindac sulfone; UGT1A4=trifluoperazine; UGT1A6=naphthol; UGT1A9=propofol; UGT2B7=naloxone.
cDNA=complimentary deoxyribonucleic acid; CTD=common technical document; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; IPN60120=palovarotene; No.=number; UDPGA= uridine 5'-diphospho-glucuronic acid; UGT=uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase.

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

2.6.5.15C CYP 誘導

Study Title: Study to Investigate the Cytochrome P450 Induction Potential of Compound CLM-001

Test Article: Palovarotene **Report No. CYP1933_03** **Location in CTD: Module 4.2.2.6.4**

Method: Cryopreserved human hepatocytes from three separate human donors were seeded onto a 96-well collagen coated plate and cultured for 28 hours before addition of the test item at final concentrations of 1.0, 0.32, 0.1, 0.03, 0.01 and 0.003 µmol/L. Hepatocytes were exposed to the test item and controls added fresh daily for 72 hours before being washed with fresh medium and lysed, followed by extraction of total RNA. After reverse transcription, quantitative PCR analysis was performed on cDNA using TaqMan® gene expression assays for the target genes CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4, CYP2C8, CYP2C9, and CYP2C19 with the endogenous control (PPIA). Relative fold mRNA expression levels of the target genes were then determined.

CYP Isoform	Donor	Mean fold mRNA induction[1]											
		Positive control Omeprazole (µmol/L)						Palovarotene (µmol/L)					
		0.5	**2**	**5**	**20**	**50**	**100**	**0.003**	**0.01**	**0.03**	**0.10**	**0.32**	**1.0**
1A2	**1**	0.9678	1.315*	1.602*	5.117*	18.48*	37.21*	0.8459	0.8748	0.8933	0.9179	0.8479	0.6935*
	2	0.9538	0.962	1.278*	8.845*	13.3*	22.2*	0.7556	0.7198	0.7426	0.7819	0.8198	0.6482*
	3	1.186	1.575*	2.01*	4.856*	16.03*	5.56*	1.21	1.357*	1.267	1.537*	1.306	1.082
		Positive control Phenobarbital (µmol/L)						Palovarotene (µmol/L)					
		5	**20**	**50**	**200**	**500**	**1000**	**0.003**	**0.01**	**0.03**	**0.10**	**0.32**	**1.0**
2B6	**1**	1.087	1.425*	1.889*	6.055*	14.54*	17.04*	1.018	1.165	1.342	2.002*	2.385*	3.205*
	2	0.8834	1.039	1.029	4.286*	9.339*	11.63*	0.7993	0.7618	0.8311	0.9388	1.271	1.296
	3	0.9616	1.074	1.36*	3.013*	5.326*	3.932*	1.267*	1.332*	1.52*	1.77*	1.908*	1.846*
		Positive control Rifampicin (µmol/L)						Palovarotene (µmol/L)					
		0.1	**0.25**	**1**	**2.5**	**10**	**25**	**0.003**	**0.01**	**0.03**	**0.10**	**0.32**	**1.0**
3A4	**1**	3.034*	5.609*	24.66*	96.84*	328.1*	375.1*	1.495*	1.462*	2.172*	2.506*	4.239*	7.956*
	2	2.067*	4.826*	30.86*	124.3*	434.3*	276*	0.7202	0.7478	1.047	1.47	3.788*	4.493*
	3	1.843*	3.281*	10.27*	16.54*	25.98*	18.22*	1.354	1.849*	2.505*	3.387*	4.976*	6.805*

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

2.6.5.15C CYP 誘導（続き）

Study Title: Study to Investigate the Cytochrome P450 Induction Potential of Compound CLM-001

Test Article: Palovarotene **Report No. CYP1933_03** **Location in CTD: Module 4.2.2.6.4**

		Positive control Phenobarbital (µmol/L)						Palovarotene (µmol/L)					
		5	**20**	**50**	**200**	**500**	**1000**	**0.003**	**0.01**	**0.03**	**0.10**	**0.32**	**1.0**
2C8	**1**	0.8556	1.128	1.095	2.072*	3.278*	3.045*	1.041	1.133	1.119	1.246	1.093	1.433*
	2	0.803	0.7954	0.6973	1.698*	2.505*	2.68*	1.148	1.068	1.027	1.082	1.471	1.463
	3	0.9093	0.9608	1.159	1.767*	2.141*	1.545*	0.9348	1.001	1.005	0.9487	0.8961	0.6982*
		Positive control Phenobarbital (µmol/L)						**Palovarotene (µmol/L)**					
		5	**20**	**50**	**200**	**500**	**1000**	**0.003**	**0.01**	**0.03**	**0.10**	**0.32**	**1.0**
2C9	**1**	1.062	1.109	1.226*	1.628*	2.143*	2.125*	1.012	0.9223	0.9649	0.8913	0.911	0.9799
	2	0.9065	0.9448	0.9463	1.201*	1.644*	1.769*	1.095	1.073	1.154	1.045	0.9815	1.095
	3	0.88	0.9165	0.9652	1.24*	1.677*	1.644*	0.8654*	0.848*	0.9143	0.8441*	0.8461*	0.7008*
		Positive control Phenobarbital (µmol/L)						**Palovarotene (µmol/L)**					
		5	**20**	**50**	**200**	**500**	**1000**	**0.003**	**0.01**	**0.03**	**0.10**	**0.32**	**1.0**
2C19	**1**	0.9587	0.9356	0.8885	0.8764	0.9112	0.9364	0.9488	0.9004	0.813	0.8129	0.8106	0.8949
	2	0.9166	0.9716	1.136	0.9922	1.067	1.216*	1.056	1.066	1.098	1.093	1.06*	1.139*
	3	0.927	0.9345	0.8974	0.945	0.9949	1.066	0.9292	0.9145	1.014	1.006	0.9959	0.9687

1 Fold induction was calculated using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method.
* Statistically significant ($P<0.05$) compared to negative controls. One-way ANOVA with two-tailed Dunnett's post-test.
cDNA=complementary deoxyribonucleic acid; CLM-001=palovarotene; CTD=common technical document; CYP=cytochrome P450; mRNA=messenger ribonucleic acid; No.=number; PCR=polymerase chain reaction; RNA=ribonucleic acid.

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

2.6.5.15D トランスポーター基質

Study Title: Study to Investigate Whether Compound CLM-001 is a Substrate of the Human Transporters P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3 and OCT1 in Various In Vitro Cell Test Systems

Test Article: Palovarotene **Report No. CYP1933_01** **Location in CTD: Module 4.2.2.6.5**

Method: Bidirectional apparent permeability across polarized cell monolayers. Permeability was assessed in both the apical to basolateral (A-B) and basolateral to apical (B-A) directions. Donor solutions in transport buffer contained the test compound (1, 10, 50 and 100 µmol/L and 1 and 10 µmol/L in the presence of reference inhibitor cyclosporin A, 10 µmol/L). Incubations were carried out in an atmosphere of 5 % CO_2 with a relative humidity of 95 % at 37°C for 90 min. All incubations were conducted in triplicate wells per assay condition.

Study system	MDCK-MDR1 cells		Caco-2 cells	
Transporter	P-gp		BCRP	
Efflux Ratio	Without Inhibitor	With Inhibitor	Without Inhibitor	With Inhibitor
Concentration (µmol/L)				
1	1.1	1.4	1.9	1.9
10	1.9	3.5	1.4	0.9
50	3.5	ND	1.1	ND
100	2.3	ND	0.7	ND

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

2.6.5.15D　トランスポーター基質（続き）

Study Title: Study to Investigate Whether Compound CLM-001 is a Substrate of the Human Transporters P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3 and OCT1 in Various In Vitro Cell Test Systems

Test Article: Palovarotene **Report No. CYP1933_01** **Location in CTD: Module 4.2.2.6.5**

Method: Uptake into a single solute carrier transporter-expressing HEK293 cells. Incubations containing test compound (1, 10, 50 and 100 µmol/L and 1 and 10 µmol/L in the presence of reference inhibitor) were performed in uptake buffer with transporter transfected cells and control (empty vector) cells for 2 and 20 min at 37°C. All assay conditions were tested in triplicate wells.

Study system	HEK293 cells expressing a single solute carrier transporter					
Transporter	OATP1B1		OATP1B3		OCT1	
Uptake Ratio[1]	Without Inhibitor	With Inhibitor	Without Inhibitor	With Inhibitor	Without Inhibitor	With Inhibitor
Concentration (µmol/L)						
1	0.8/0.8	0.8/0.4	1.1/1.1	1.5/1.4	1.6/0.9	1.1/1.2
10	0.9/0.9	1.1/0.8	1.7/1.4	1.7/1.2	1.1/1.1	1.0/1.1
50	1.0/0.4	ND	1.5/1.6	ND	0.9/1.3	ND
100	1.2/0.6	ND	1.4/1.4	ND	1.1/1.0	ND

Inhibitors: P-gp=10 µmol/L cyclosporin A, BCRP=10 µmol/L fumitremorgin C, OATP1B1=100 µmol/L Rifamycin SV, OATP1B3=100 µmol/L Rifampicin, OCT1=100 µmol/L Verapamil
1 Uptake ratio from 2 and 20 (2/20) min incubation time.
BCRP=breast cancer resistance protein; CLM-001=palovarotene; CTD=common technical document; HEK293=human embryonic kidney 293; MDCK=Madin-Darby canine kidney cell; MDR1=multidrug resistance protein 1; ND=not determined; No.=number; OATP=organic anion transporting polypeptide; OCT=organic cation transporter; P-gp=P-glycoprotein.

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用（続き）

2.6.5.15E トランスポーター阻害

Study Title: Study to Investigate Whether Compound CLM-001 is an Inhibitor of the Human Transporters P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, OCT1, MATE1, MATE2-K and BSEP in Various In Vitro Test Systems

Test Article: Palovarotene **Report No. CYP1933_02** **Location in CTD: Module 4.2.2.6.6**

Method: For P-gp and BCRP, cells were pre-incubated with transport buffer containing palovarotene (0.1-100 µmol/L) or positive control inhibitor in both apical and basolateral compartments for 30 min at 37°C. Inhibition was assessed in the basolateral to apical (B-A) direction. After the pre-incubation, transport buffer was removed, then donor solutions were added to the basolateral compartment. Incubations were carried out at 37°C for 90 min. For SLC transporters, the appropriate solutions were added to the wells after the pre-incubation for 15 min. Incubations containing probe substrate and palovarotene (0.01-3 µmol/L) or positive control inhibitor were performed with transporter transfected and control cells for specified time at 37°C. The BSEP inhibition assay was carried out using a rapid filtration system. A reaction mixture containing vesicles and probe substrate was pre-incubated at 37ºC for 5 min with vehicle, palovarotene (0.3-100 µmol/L) or positive control inhibitor. The uptake of probe substrate was initiated by the addition of ATP or AMP, followed by incubation at 37ºC for 30 min. All incubations were conducted in triplicate wells per assay condition.

Cell test system	Transporter	Substrate	IC_{50} (µmol/L)
MDCK-MDR1	P-gp	5 µmol/L [^{3}H]-digoxin	No inhibition
Caco-2	BCRP	1 µmol/L [^{3}H]-estrone 3-sulfate	9.69
HEK293-OATP1B1	OATP1B1	0.02 µmol/L [^{3}H]-Estradiol 17β-D-glucuronide	1.83
HEK293-OATP1B3	OATP1B3	0.02 µmol/L [^{3}H]-Estradiol 17β-D-glucuronide	> 3 (41.4% inhibition at 3 µmol/L)
HEK293-OAT1	OAT1	20 µmol/L [^{3}H]-*p*-Aminohippuric acid	No inhibition
HEK293-OAT3	OAT3	14.5 µmol/L [^{3}H]-Estrone 3-sulfate	No inhibition
HEK293-OCT2	OCT2	100 µmol/L [^{14}C]-Metformin	No inhibition
HEK293-OCT1	OCT1	20 µmol/L [^{14}C]-Tetraethylammonium	> 3 (25.7% inhibition at 3 µmol/L)
HEK293-MATE1	MATE1	100 µmol/L [^{14}C]-Metformin	No inhibition
HEK293-MATE2-K	MATE2-K	20 µmol/L [^{14}C]-Tetraethylammonium	No inhibition
BSEP vesicles	BSEP	1 µmol/L [^{3}H]-taurocholic acid	14.7

^{14}C=carbon-14; ^{3}H=hydrogen-3; AMP= Adenosine monophosphate; ATP= Adenosine triphosphate; BCRP=breast cancer resistance protein; BSEP=bile salt export pump; CLM-001=palovarotene; CTD=common technical document; HEK293=human embryonic kidney 293; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; MATE=multidrug and toxin extrusion; MDCK=Madin-Darby canine kidney cell; MDR1=multidrug resistance protein 1; No.=number; OAT=organic anion transporter; OATP=organic anion transporting polypeptide; OCT=organic cation transporter; P-gp=P-glycoprotein; SLC=solute carrier.

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

2.6.5.16A その他：代謝物投与後の薬物動態：ラット

Study Title: RO3304835-002, RO3304974, RO3305210-002 and RO3305659 (Metabolites of RO3300074): A Thirteen-Week Oral (Intubation) Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats with a Four-Week Recovery Period. (Study 08077)						
Test Article: M2 and M3 (administered concomitantly as a mixture)	**Report No. 1013099**				**Location in CTD: Module 4.2.3.7.5.2**	
Species	Wistar Rat					
Feeding condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT					
Method of Administration	Oral gavage					
Sample	Plasma					
Analytes	M2, M3, M4a, M4b					
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1013104)					
Dose (mg/kg/day)	0.3		1.0		3.0	
Sex (M/F)/Number of animals	12M/12F		12M/12F		12M/12F	
PK parameters:						
M2						
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	10.1	10.6	13.9	32.8	48.0	73.9
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	43.3	59.7	157	191	349	556
Day 91						
C_{max} (ng/mL)	4.83	7.85	13.6	21.0	44.5	38.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	39.8	57.6	104	162	210	411

2.6.5.16　薬物動態試験：その他（続き）

2.6.5.16A　その他：代謝物投与後の薬物動態：ラット（続き）

Study Title: RO3304835-002, RO3304974, RO3305210-002 and RO3305659 (Metabolites of RO3300074): A Thirteen-Week Oral (Intubation) Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats with a Four-Week Recovery Period. (Study 08077)

Test Article: M2 and M3 (administered concomitantly as a mixture)	**Report No. 1013099**			**Location in CTD: Module 4.2.3.7.5.2**		
Dose (mg/kg/day)	0.3		1.0		3.0	
M3						
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	15.8	17.8	20.1	62.3	96.5	152
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	44.0	89.8	172	285	476	1040
Day 91						
C_{max} (ng/mL)	6.82	12.2	19.8	34.6	78.6	72.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	39.8	75.9	107	223	279	663
M4a						
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	4.03	2.47	12.1	8.96	27.5	21.8
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	38.0	42.0	156	139	441	389
Day 91						
C_{max} (ng/mL)	4.31	3.50	16.4	13.5	33.4	36.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	56.8	60.8	205	216	389	471

2.6.5.16　薬物動態試験：その他（続き）

2.6.5.16A　その他：代謝物投与後の薬物動態：ラット（続き）

Study Title: RO3304835-002, RO3304974, RO3305210-002 and RO3305659 (Metabolites of RO3300074): A Thirteen-Week Oral (Intubation) Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats with a Four-Week Recovery Period. (Study 08077)

Test Article: M2 and M3 (administered concomitantly as a mixture)	**Report No. 1013099**		**Location in CTD: Module 4.2.3.7.5.2**			
Dose (mg/kg/day)	0.3		1.0		3.0	
M4b						
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	7.82	8.89	16.9	31.6	48.6	61.3
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	34.5	102	136	262	533	878
Day 91						
C_{max} (ng/mL)	4.15	8.48	20.1	29.0	43.9	69.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	37.1	101	144	405	380	985

Additional Information: On Days 0 and 91, blood samples were collected from 3 animals/sex/group per time point at 0 (prior to dosing), 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, and 24 hours after dosing for determination of plasma metabolites, M2, M3, M4a, and M4b concentrations. PK parameters were calculated from mean concentrations at each time point.

1 Day 0 was the first day of dosing.

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074=palovarotene; RO3304835-002=M2; RO3304974=M4a; RO3305210-002=M3; RO3305659=M4b.

2.6.5.16 薬物動態試験：その他（続き）

2.6.5.16B その他：代謝物投与後の薬物動態：イヌ

Study Title: RO3304835-002, RO3304974, RO3305210-002, and RO3305659 (Metabolites of RO3300074-000): A Thirteen-Week Oral (Capsule) Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Followed by A Four-Week Recovery Period. (Study No. 08075). Amended Version of the Original Report Dated [redacted], 20[redacted].

Test Article: M2 and M3 (administered concomitantly as a mixture)	**Report No. 1011046**		**Location in CTD: Module 4.2.3.7.5.4**			
Species	Beagle Dog					
Feeding condition	Fed					
Vehicle/Formulation	Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT					
Method of Administration	Oral gavage (capsule)					
Sample	Plasma					
Analytes	M2, M3, M4a, M4b					
Assay	LC-MS/MS (Validation Report 1012575; assay also known as MS-93 described in 1012575)					
Dose (mg/kg/day)	0.05		0.15		0.5	
Sex (M/F)/Number of animals	6M/6F		6M/6F		6M/6F	
PK parameters (Mean ± Standard deviation):						
M2						
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	12.1 ± 7.07	12.4 ± 2.55	27.2 ± 8.78	36.1 ± 16.9	141 ± 50.8	128 ± 96.9
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	91.8 ± 28.8	84.0 ± 23.5	299 ± 58.7	318 ± 107	1330 ± 336	1110 ± 721
Day 28						
C_{max} (ng/mL)	12.8 ± 8.85	9.77 ± 5.65	35.4 ± 16.9	30.2 ± 12.1	67.6 ± 33.8	75.6 ± 35.7
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	127 ± 39.2	103 ± 68.2	355 ± 106	316 ± 134	1020 ± 484	754 ± 204
Day 91						
C_{max} (ng/mL)	12.1 ± 9.69	7.23 ± 4.96	43.1 ± 17.7	47.3 ± 21.6	115 ± 57.4	98.7 ± 76.9
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	88.5 ± 51.5	88.3 ± 51.9	520 ± 127	497 ± 249	1340 ± 824	961 ± 451

2.6.5.16　薬物動態試験：その他（続き）

2.6.5.16B　その他：代謝物投与後の薬物動態：イヌ（続き）

Study Title: RO3304835-002, RO3304974, RO3305210-002, and RO3305659 (Metabolites of RO3300074-000): A Thirteen-Week Oral (Capsule) Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Followed by A Four-Week Recovery Period. (Study No. 08075). Amended Version of the Original Report Dated [redacted], 20[redacted].

Test Article: M2 and M3 (administered concomitantly as a mixture)	**Report No. 1011046**		**Location in CTD: Module 4.2.3.7.5.4**			
Dose (mg/kg/day)	0.05		0.15		0.5	
M3						
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	21.3 ± 7.54	22.0 ± 6.35	63.9 ± 20.7	76.5 ± 24.4	255 ± 67.1	238 ± 94.5
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	146 ± 33.5	135 ± 36.9	494 ± 116	552 ± 138	2090 ± 376	1950 ± 840
Day 28						
C_{max} (ng/mL)	21.3 ± 9.51	17.1 ± 9.44	59.5 ± 29.6	59.4 ± 26.6	140 ± 76.3	152 ± 34.4
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	174 ± 45.6	146 ± 89.8	470 ± 153	467 ± 198	1510 ± 738	1320 ± 208
Day 91						
C_{max} (ng/mL)	15.7 ± 13.3	12.6 ± 10.5	71.4 ± 19.9	74.7 ± 31.9	193 ± 71.2	175 ± 116
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	101 ± 69.8	116 ± 87.1	690 ± 134	670 ± 311	1770 ± 704	1420 ± 548
M4a						
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	3.83 ± 0.768	5.00 ± 2.35	11.3 ± 1.02	12.6 ± 3.55	42.2 ± 9.96	61.2 ± 19.0
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	57.4 ± 10.9	63.3 ± 24.3	198 ± 35.9	197 ± 86.3	666 ± 192	683 ± 292
Day 28						
C_{max} (ng/mL)	6.13 ± 1.85	6.63 ± 3.73	19.3 ± 16.0	17.5 ± 7.48	40.2 ± 17.6	49.2 ± 13.7
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	98.8 ± 18.1	91.3 ± 48.5	275 ± 126	252 ± 111	768 ± 372	765 ± 217
Day 91						
C_{max} (ng/mL)	5.84 ± 2.79	5.47 ± 1.96	20.1 ± 6.58	28.9 ± 14.3	57.6 ± 33.5	80.9 ± 38.0
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng•h/mL)	72.5 ± 40.6	73.7 ± 25.3	381 ± 139	451 ± 274	1020 ± 667	1200 ± 484

2.6.5.16 薬物動態試験：その他（続き）

2.6.5.16B その他：代謝物投与後の薬物動態：イヌ（続き）

Study Title: RO3304835-002, RO3304974, RO3305210-002, and RO3305659 (Metabolites of RO3300074-000): A Thirteen-Week Oral (Capsule) Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Followed by A Four-Week Recovery Period. (Study No. 08075). Amended Version of the Original Report Dated [redacted], 20[redacted].

Test Article: M2 and M3 (administered concomitantly as a mixture)	**Report No. 1011046**		**Location in CTD: Module 4.2.3.7.5.4**			
Dose (mg/kg/day)	0.05		0.15		0.5	
M4b						
Day 0[1]	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	3.78 ± 0.558	4.65 ± 1.09	13.2 ± 1.55	17.3 ± 3.60	56.7 ± 13.2	76.8 ± 31.4
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	55.0 ± 11.0	56.8 ± 15.2	193 ± 24.7	200 ± 45.2	774 ± 267	800 ± 409
Day 28						
C_{max} (ng/mL)	4.84 ± 1.30	4.54 ± 1.85	19.1 ± 15.3	15.6 ± 6.63	41.0 ± 19.3	51.3 ± 15.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	70.3 ± 19.1	63.7 ± 27.9	216 ± 93.3	203 ± 90.1	705 ± 391	738 ± 245
Day 91						
C_{max} (ng/mL)	3.98 ± 2.50	4.19 ± 2.54	18.3 ± 5.36	21.0 ± 8.54	50.6 ± 16.4	60.5 ± 28.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	49.2 ± 33.2	56.6 ± 43.1	283 ± 80.2	312 ± 137	813 ± 395	901 ± 417

Additional Information: On Days 0, 28 and 91, blood samples were collected from 6 animals/sex/group per time point at 0 (prior to dosing), 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, and 24 hours after dosing for determination of plasma metabolites, M2, M3, M4a, and M4b concentrations.

1 Day 0 was the first day of dosing.

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; LC-MS/MS=liquid chromatography with tandem mass spectrometry; M=male; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; No.=number; PK=pharmacokinetics; RO3300074-000=palovarotene; RO3304835-002=M2; RO3304974=M4a; RO3305210-002=M3; RO3305659=M4b.